

大村湾におけるアマモ場の炭素貯留量の測定

橋本 京太郎

Estimation of Carbon Storage in *Zostera marina* bed in Omura Bay

Kyotaro HASHIMOTO

キーワード：大村湾、アマモ、炭素貯留、ブルーカーボン

Key words: Omura Bay, *Zostera marina*, Carbon storage, Blue carbon

はじめに

大気中の温室効果ガス濃度の上昇などによる気候変動への対策は、全世界の共通課題であり、本県においても第2次長崎県地球温暖化(気候変動)対策実行計画を策定し、様々な取り組みを推進中である¹⁾。気候変動対策の緩和策の中で、近年注目されているのが、海洋生態系によって貯留・隔離される炭素であるブルーカーボンである。ブルーカーボンは、吸収した二酸化炭素を長期間隔離貯留するという特性から、気候変動の緩和に重要な役割を果たすと考えられており、主要な吸収源として、海草、海藻、干潟、マングローブ林が挙げられている²⁾。

本県における主要なブルーカーボン生態系である藻場は、気候変動の緩和の他、海中のリンや窒素の吸収といった水質浄化機能を有すること³⁾、多くの海洋生物の餌料や産卵の場となること⁴⁾、稚子の生育の場となること⁴⁾などから、海洋生態系を支える重要な役割を担っていることが報告されている。

当センターでは、県下の藻場におけるブルーカーボンに関する調査を実施しており、藻場の観測や草体の炭素貯留量の調査を行っている。今回、2021年度に実施した大村湾内のアマモ (*Zostera marina*) 群落(アマモ場)における調査結果を報告する。

調査内容

調査対象としたアマモ場は、環境省自然環境局生物多様性センターが公開している調査結果⁵⁾を基に、大村湾内の5地点(図1)を選定し、藻場面積、繁茂量に関する調査を2021年5月から2022年4月まで毎月1回行った。藻場面積は、GPS端末(GARMIN社製 eTrex 30J)の面積計算機能を用いて、藻場外周を目視で確認しながら踏査、もしくは小型ボートで航行することにより求めた。草体採集は、坪刈りによ

って行い、持ち帰った草体は、繁茂状況の把握のため、栄養株、繁殖株(花穂もしくは種子をもった株)、地下茎ごとに分別したのちに湿重量や乾燥重量の測定を行った。また、国分らと同様の手法により、乾燥後の草体を粉砕し、海水と共に20°Cの暗条件下で容器に収容することで生分解試験を行い、100日後に残存した炭素量を測定することにより、各調査地点における炭素貯留量を求めた⁶⁾。



図1 調査地点

調査結果

大村湾内5地点におけるアマモ場の繁茂状況を図2に示す。調査対象としたアマモ場のうち、藻場面積の最大は、江上浦で3375 m²で、最小は琴海の約150 m²であった。藻場の繁茂状況を月ごとに比較すると、大村湾内のアマモ場は、4月から7月にかけて繁殖株がみられ、夏季(6月から9月)に草体重量が最大となり、冬季には重量が減少する傾向が見られた。それぞれの地点の草体湿重量の最大は、琴海

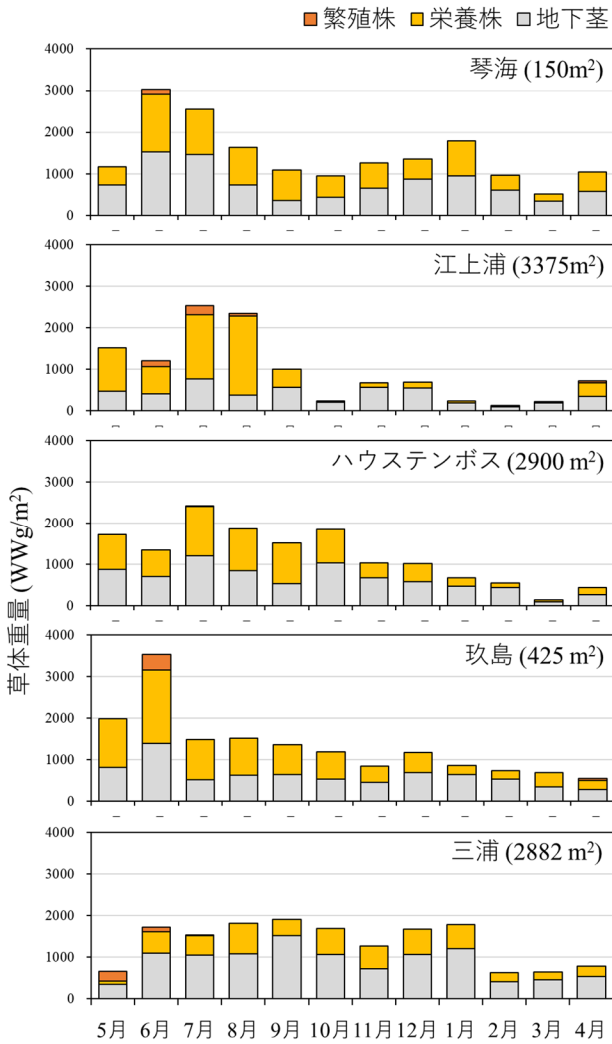


図2 アマモ繁茂状況の季節変化

で6月に3021 g/m²、江上浦で7月に 2540 g/m²、ハウステンボスで7月に2414 g/m²、玖島で6月に3532 g/m²、三浦で9月に1913 g/m²であった。また、冬季の繁茂状況を比較すると、琴海、玖島、三浦のように地上部を残した状態で繁茂する地点と江上浦やハウステンボスなどのように地上部が消失する地点があった。

大村湾内のアマモ場5地点による炭素貯留量の推定結果を図3に示す。大村湾内5地点における炭素貯留量は、ハウステンボスで最大13.8 t-CO₂/ha/年、三浦で最小8.9 t-CO₂/ha/年と推定され、5地点の平均は11.9 t-CO₂/ha/年であった。

まとめ

今回の調査では、藻場面積の算定にあたり、藻場の外周を目視確認しながら踏査、もしくは小型ボートで航行する方法を採用したため、濁度が高い海域では、目視で草体が確認できる水域のみを調査対

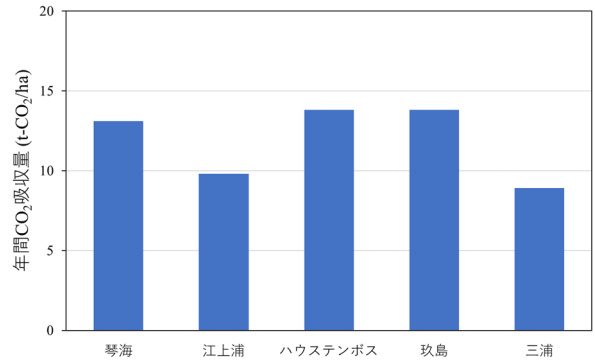


図3 炭素貯留量の推定結果

象とした。環境省自然環境局生物多様性センターによる藻場面積の調査結果⁵⁾では、江上浦の水域全体でアマモ場の面積は21 haと見積もられており、今回の調査地点として採用した最大の藻場面積0.34 haと比較して、大きな差があることから、藻場面積の算定には、魚群探知機やソナーを用いるなど、目視以外の調査方法⁶⁾も検討すべきと思われる。

今回の調査で調査対象種としたアマモについては、炭素貯留量の推定が全国の海域において行われている^{7, 8, 9)}。また、国内の藻場は、沿岸域の開発や磯焼けなどによって衰退が広く確認されており¹⁰⁾、藻場資源の回復のための造成活動が盛んに行われている。現在、ジャパンブルーエコノミー技術研究組合によって、Jブルークレジット制度の運営が開始されており、二酸化炭素の吸収源としてのブルーカーボン生態系のクレジット化、事業者へのクレジットの譲渡等の活動が行われている¹¹⁾。今後、当該制度等が広く普及することにより、カーボンニュートラルの達成に向けた、二酸化炭素の吸収源対策が推進されることが期待される。

参考文献

- 1) 長崎県: 第2次長崎県地球温暖化(気候変動)対策実行計画, 2021
- 2) Nellemann, C., et al.: Blue Carbon: The role of healthy oceans in binding carbon. A Rapid Response Assessment. United Nations Environment Programme, GRID-Arendal, 1-78 (2009)
- 3) 赤澤貴光, 他: 藻場による水環境の改善に関する研究, 長崎県衛生公害研究所報, 49, 80-83 (2004)

- 4) 水産庁:藻場の働きと現状,
https://www.jfa.maff.go.jp/j/kikaku/tamenteki/kaisetu/moba/moba_genjou/ (2023.6.1 閲覧)
- 5) 環境省自然環境局生物多様性センター:藻場分布図, 藻場調査(2018~2020),
<http://gis.biodic.go.jp/webgis/> (2023.6.1 閲覧)
- 6) ジャパンブルーエコノミー技術研究組合:Jブルークレジット認証申請の手引き-ブルーカーボンを活用した気候変動対策-Ver.2.3, 25-32 (2023)
- 7) 国分秀樹, 他:ブルーカーボン評価に向けた伊勢湾内干潟アマモ場における炭素貯留量の試算, *土木学会論文集 B2 (海岸工学)*, **73**, I_1261-I_1266 (2017)
- 8) 寺脇利信, 他:広島湾におけるアマモ草体中の炭素および窒素総量, *水産総合研究センター研究報告*, **4**, 25-32(2002)
- 9) 渡辺謙太, 他:海草藻場における炭素循環, *沿岸海洋研究*, **55**(2), 109-114 (2001)
- 10) 渡邊裕基:日本における藻場分布の変遷, *海洋生物環境研究所研究報告*, **27**, 59-63 (2022)
- 11) ジャパンブルーエコノミー技術研究組合:Jブルークレジット,
<https://www.blueeconomy.jp/credit/> (2023.6.1 閲覧)

植物プランクトン (藍藻類) 増殖抑制手法の検討 (屋外培養試験)

松尾 進, 豊村 誠¹, 粕谷 智之

1 長崎県 県民生活環境部資源循環推進課

Examination of Phytoplankton (Cyanobacteria) Growth Suppression Method (Outdoor Culture Test)

Susumu MATSUO, Makoto TOYOMURA¹, Tomoyuki KASUYA

1 Resource recycling promotion section, Prefectural living environment division, Nagasaki prefectural office

キーワード: *Microcystis*属、遮光、緑藻類、競合
Key words: *Microcystis*, shading, green algae, competition

はじめに

遮光による藍藻類 (*Microcystis aeruginosa*) の成長抑制効果について確認・検証するため、長崎県環境保健研究センターでは、2021年度に室内における試験管を用いた培養試験¹⁾を行った(以降、これを「室内培養試験」と表記する。)。この室内培養試験では、遮光することにより*M. aeruginosa*の成長が抑制されることが確認された。

また、同年度には、野外における遮光による藍藻類の抑制効果を検証するため、ダムの水面に3つの遮光資材を設置してアオコの発生状況を比較する試験²⁾も行った(以降、これを「現場試験」と表記する。)。この現場試験では、遮光資材を設置した地点において、設置していない地点よりアオコレベル(国立環境研究所の「見た目アオコ指標³⁾」に基づく。以降同じ。)や藍藻類の細胞密度が低くなるといった傾向は見られなかった。この結果の要因の一つとして、設置した遮光資材の面積がダム全体の水面に対して小さかったことが挙げられている。

現場試験では、水面を大規模に遮光して試験を実施することは困難であるため、本研究では、アオコの発生が多いとされる夏季に、屋外に水面の遮光面積が異なる水槽を設置し、水槽内で藍藻類を含む植物プランクトンを培養して、遮光による植物プランクトンの成長への影響を検証する。

材料と方法

1 試料水の準備

水槽へ投入する試料水として、藍藻類を含む植物プランクトンが入った水を準備した。これは2022年8月26日に長崎県諫早市の小ヶ倉ダム洞仙橋でアオコレベル4の水をポリ容器に採取し、試験開始まで20°Cで暗所保管したものである。

2 培地の調製

(1) 培地の選定

培地は、試験中に栄養塩類が不足しないよう、淡水用合成培地であるWC培地⁴⁾を用いた。WC培地については、藍藻類とほかの植物プランクトンを同時に培養した事例(藍藻類と緑藻類⁵⁾、藍藻類と珪藻類⁶⁾)が知られており、本研究では藍藻類以外の植物プランクトンも含む水(ダム水)を試料水として用いることから、全ての試験においてこの培地を作製して用いることとしたものである。

(2) WC培地の作製

屋外培養試験に用いたWC培地については、二羽による培地の滅菌方法⁷⁾を参考に、水槽に張った水を事前に滅菌した後、国立環境研究所微生物系統保存施設のマニュアル⁸⁾に準拠して作製した。(以降、これを「マニュアル」という。)マニュアルの培地リストに示されている各試薬については、全て同

リストと同じ割合で添加した。手順は手順1及び2に示すとおりである。

手順1: 水槽に張った水に5%次亜塩素酸ナトリウム(水100 Lに対し5%次亜塩素酸ナトリウム24 mLの割合)を入れてよく攪拌し、3時間程度放置した後、チオ硫酸ナトリウム(水100 Lに対し5%次亜塩素酸ナトリウム12 mLの割合)を入れてよく攪拌した。

手順2: 培養開始日に、WC培地が最終的に80 Lとなるよう培地リストの各試薬を必要量入れてよく攪拌し、pH 7.5付近となるようHCl(0.1 mol/L)で調整した。

3 試験方法及び条件

(1) 試験方法

培養試験は2022年8月31日～2022年9月12日に実施した。日当たりの良い屋外に容量100 Lの水槽を6つ設置し(各水槽をそれぞれA～Fと表記する。)(図1)、2 (2)の方法で各水槽約80 LまでWC培地を満たした後、各水槽に前述の1で準備した試料水を投入した。

水槽は、黒色のポリエチレン製で、内径が56 cm、高さが41.5 cmの円柱形のものを用い、雨水等の侵入を防ぐため、各水槽の上部を透明なアクリル板で覆った。このアクリル板は、風で飛ばされないよう、端(水槽の上面より外側の端)に穴をあけて紐を付け、水槽と固定した。水槽とアクリル板の間には、空気を取り込めるよう、木材等を挟み、2 cm程度の隙間を設けた。なお、この木材等については、水面の遮光率に影響がないように水槽の縁に挟んだ。また、水槽内の水温が高くなり過ぎないように、地面と水槽の間にすのこを1枚敷き、その上にポリエチレン製のマットを1枚敷き、水槽側面には白色の寒冷紗を2重に巻いた。

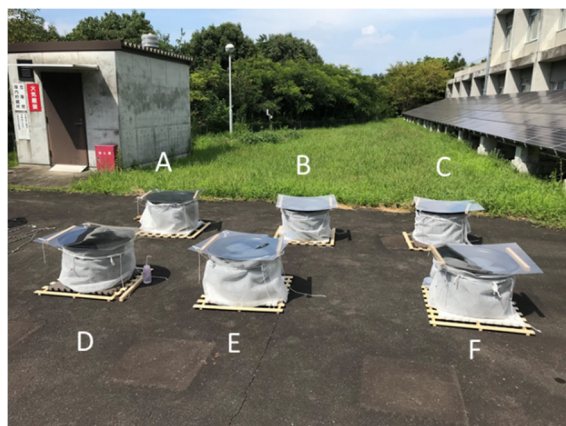


図1 水槽の設置状況

(2) 培養条件

(a) 遮光条件

遮光資材は、アオコ抑制のための部分遮光に用いられている資材で、現場試験において維持管理がし易く遮光能力が高いとされたシャロークリーン(株式会社クレハ環境製)(1辺12 cmの正六角形のプラスチック製フロート)を用い、これを水槽の水面に浮かべることによって遮光し(図2)、浮かべる遮光資材の個数を変えて3つの条件を設定した。各水槽に浮かべた遮光資材の個数及び遮光資材の面積と水面の面積から算出した理論上の遮光率は表1に示すとおりである。なお、夕方には水槽の縁によって影が生じたが、各水槽において影の生じ方は基本的に同じであったため、縁による影は無視することとした。



図2 水槽Bに浮かべた遮光資材

(b) 試料水の条件

1及び2 (2)の方法で準備した試料水について、その投入量を変えて2つの条件を設定した。各水槽への試料水の投入量は表1に示すとおりである。

表1 各水槽の条件

水槽名	投入した試料水の量 [mL]	遮光資材 [個]	理論上の遮光率 [%]
A	200	0	0
B	200	3	42
C	200	4	56
D	100	0	0
E	100	3	42
F	100	4	56

(3) 水質分析

各水槽から、培養開始日(以降、「0日目」と表記する。)及び12日目にそれぞれ約2 Lを、5日目及び8日目にそれぞれ約1 Lを採水した。採水は柄杓を用い、水槽内の培地をよく攪拌してから行った。

各日に採水した試料は、海洋観測指針の方法によりクロロフィルa (Chl.a) について測定したほか、0日目及び12日目については、採水した原水をガラス繊維濾紙 (Whatman製GF/B) を用いて濾過し、JIS K 0102-2の方法により溶存態全窒素 (D-T-N) 及び溶存態全りん (D-T-P) についても測定した。

(4) 藻類分析

藻類分析のための採水についても水質分析用の採水と同時にを行った。採水した試料10 mLをプラスチックピンに汲み取り、固定液 (25%グルタルアルデヒド溶液) を0.1 mL加えて検鏡試料とした。試料は植物プランクトンの量に応じて、適宜最大100倍まで希釈した。光学顕微鏡を用いて試料1 mL中の藍藻類を分類するとともに、群体の直径又は長さ等を計測し換算式から細胞数を求めた。⁹⁾

(5) 水温測定

全ての水槽に、小型水温データロガー (Onset社製テイドビット) を水槽の縁からテグスを付けて垂らし、水槽内の培地の中間程度の高さに設置し、30分ごとの水温を測定・記録した。なお、Aについては、反対の内側面にも小型水温データロガーを設置し、合計2個の小型水温データロガーを取り付け、それぞれ測定・記録した。

結果と考察

1 培地水の変化

水槽の培地水の変化について表2、図3に示す。

A、B、Cについては、8日目までは、およそ遮光率が低いものほど培地水は緑色が濃くなっていき、緑色のもやが生じた。12日目になるとAの培地水はくすんだ緑色となった。また、A及びBでは8日目に表層にゼリー状の物質が生じた。Cについては、8日目に培地水がほぼ無色となり白いもやが生じていたが、12日目には再び培地水は薄い緑色 (僅かにくすみあり) となりゼリー状の物質も生じた。これらの水槽内では植物プランクトンの組成が変わったことが考えられる。

D、E、Fについても、8日目までは、遮光率が低いものほど培地水は緑色が濃くなっていき、緑色のもやが生じたが、12日目になると、Dの培地水は、ややくすんだ緑色となった。D及びEでは8日目に、表層にゼリー状の物質が生じた。Fについては、8日目に培地水がほぼ無色となり、僅かに白いもやが生じていたが、12日目には再び培地水は薄い緑色 (僅かにくすみあり) となり、ゼリー状の物質も生じた。前述のA、B、Cと同様に、これらの水槽内では植物プランクトンの組成が変わったことが考えられる。

2 水質と植物プランクトン

Chl.aの変化について図4に示す。

A、B、CのChl.aについては、各水槽で0日目はほぼ同じ値であったが、8日目まで全ての水槽で増加し、遮光率の低いものから順に高い値を示し (A>B>C)、特にAについては顕著に増加した。12日目にはA及びBは著しく減少して下限値未満となり、Cについては増加して、C>A=Bとなった。

D、E、FのChl.aについては、各水槽0日目はほぼ同じ値であったが、5日目まで全ての水槽で増加し、遮光率の低いものから順に高い値を示した (D>E>F)。8日目にはD及びFは増加したが、Eは減少して下限値未満となり (D>F>E)、12日目には全ての水槽で下限値未満となった。

Chl.aが下限値未満となった水槽では、培地水は緑色を呈していたがいずれも鮮やかではなく幾分くすみがある様子も確認できた。室内で行った *Microcystis* 属の培養において、枯死した細胞が分解し始めた際に白濁することが報告されていることから¹⁰⁾、これらの水槽では、増殖した *Microcystis* 属の藍藻類が枯死し、分解が生じている可能性が考えられる。また、12日目に下限値未満となったA、B、D、E及びFについては、表層が緑藻類と思われる緑色の層で覆われており、優占する植物プランクトンが変化したと考えられたため、全ての水槽内の植物プランクトンを検鏡し種類ごとに細胞数を計数した。

検鏡の結果、*M. aeruginosa* 及び *M. wesenbergii* が出現した他、緑藻類の *Chlamydomonas* sp.、*Sphaerocystis* sp. 及び *Planktospaeria* sp. も出現した。これらの植物プランクトンの細胞密度の変化を図5に示す。なお、図5においては、*M. aeruginosa* 及び *M. wesenbergii* を纏めて *Microcystis* spp.、*Sphaerocystis* sp. 及び *Planktospaeria* sp. を纏めて *Sphaerocystis* sp. + *Planktospaeria* sp. と表記した。また、以降、本文中では spp. 及び sp. は省略して表記する。

Microcystis はA以外の水槽では8日目以降優占することはなかった。一方、*Chlamydomonas* はE及びFを除く全ての水槽で8日目以降優占した。*Sphaerocystis* + *Planktospaeria* は遮光した水槽であるE及びFで優占する結果となった。

水温は水槽間で差は見られず、45°Cを超える日もなかった (図6)。また、植物プランクトンの増殖に必要な溶存態の窒素やりんは培養終了日の12日目において枯渇していなかったことから (図7、図8)、

表2 各水槽における培地水の変化

水槽名	0日目 (8月31日)	5日目 (9月5日)	8日目 (9月8日)	12日目 (9月12日)
A	無色透明 (緑色微小粒)	緑色 (表層に緑色もや) (表層に緑色大粒)	緑色 (表層全体が気泡を有するゼリー状の緑色層で被覆)	くすんだ緑色 (表層は周辺部を除き気泡を有するゼリー状の緑色層で被覆) (周辺部は濃い緑色もや)
B	無色透明 (緑色微小粒)	僅かに緑色 (表層に緑色もや) (表層に緑色大粒(Aより少ない))	緑色 (緑色もや) (表層に緑色大粒) (表層全体が透明なゼリー状の層で薄く被覆)	僅かにくすみのある緑色 (表層全体が気泡を有するゼリー状の緑色層で被覆)
C	無色透明 (緑色微小粒)	ほぼ無色 (表層に僅かに緑色もや) (表層に緑色大粒(Bより少ない))	ほぼ無色 (白いもや) (表層にまばらに緑色大粒)	僅かにくすみのある薄い緑色 (表層全体が緑色の膜状の層で被覆) (膜状層の上にまばらに気泡を有するゼリー状の緑色物質)
D	無色透明	僅かに緑色 (表層に緑色もや) (表層に極まばらに緑色粒)	緑色 (表層全体が気泡を有するゼリー状の緑色層で被覆)	ややくすんだ緑色 (表層全体が気泡を有するゼリー状の緑色層で極めて厚く被覆)
E	無色透明	僅かに緑色 (表層に僅かに緑色もや) (表層に緑色大粒(Cと同程度の量))	緑色 (表層に緑色大粒) (表層全体が透明なゼリー状の層で薄く被覆)	僅かにくすみのある緑色 (表層全体が気泡を有するゼリー状の緑色層で厚く被覆)
F	無色透明	ほぼ無色 (表層に僅かに緑色もや) (表層に極まばらに緑色粒)	ほぼ無色 (僅かに白いもや) (表層に緑色微小粒)	僅かにくすみのある薄い緑 (表層全体が気泡を有するゼリー状の緑色層で厚く被覆)

培地水の色の後、括弧書きで、もや、粒、表層の被覆物について表記し、それらが無かった場合は省略している。

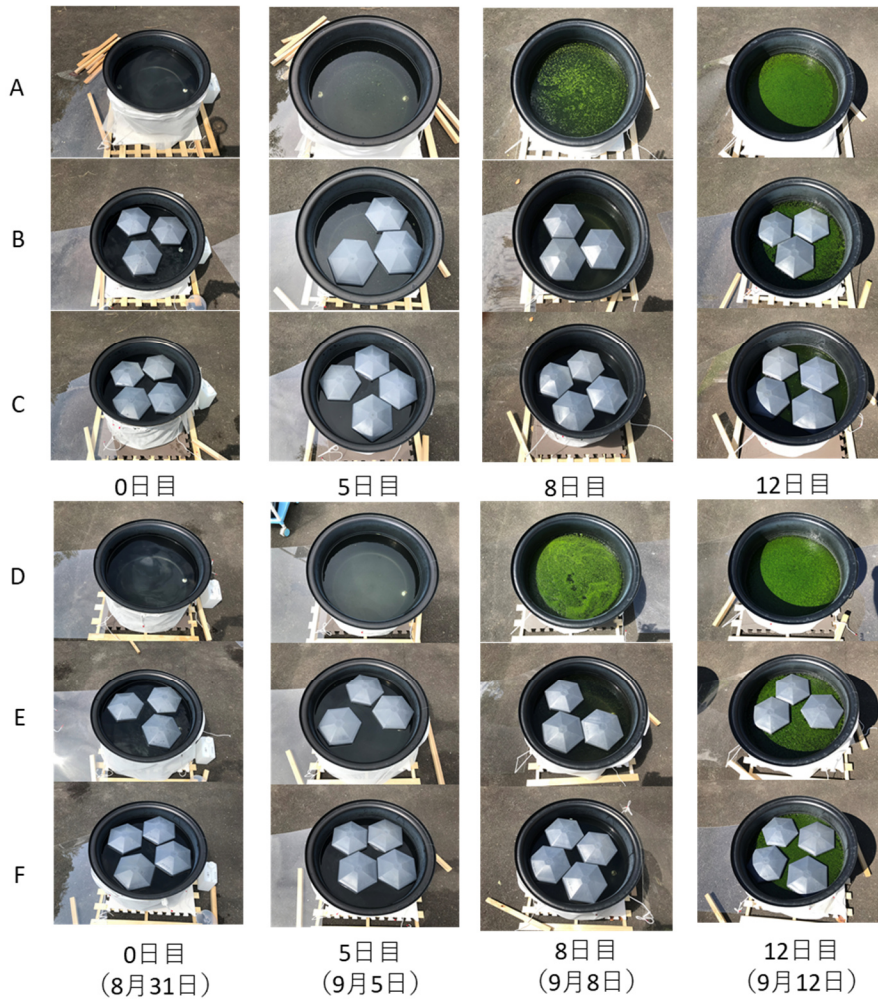
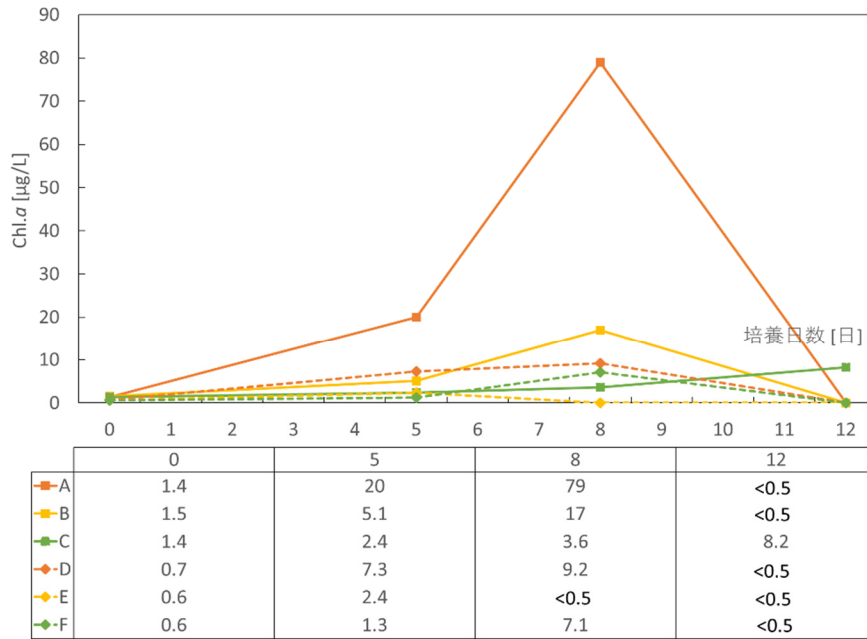


図3 培地水の変化



(Chl.aの下限値0.5 µg/L)

図4 Chl.aの変化

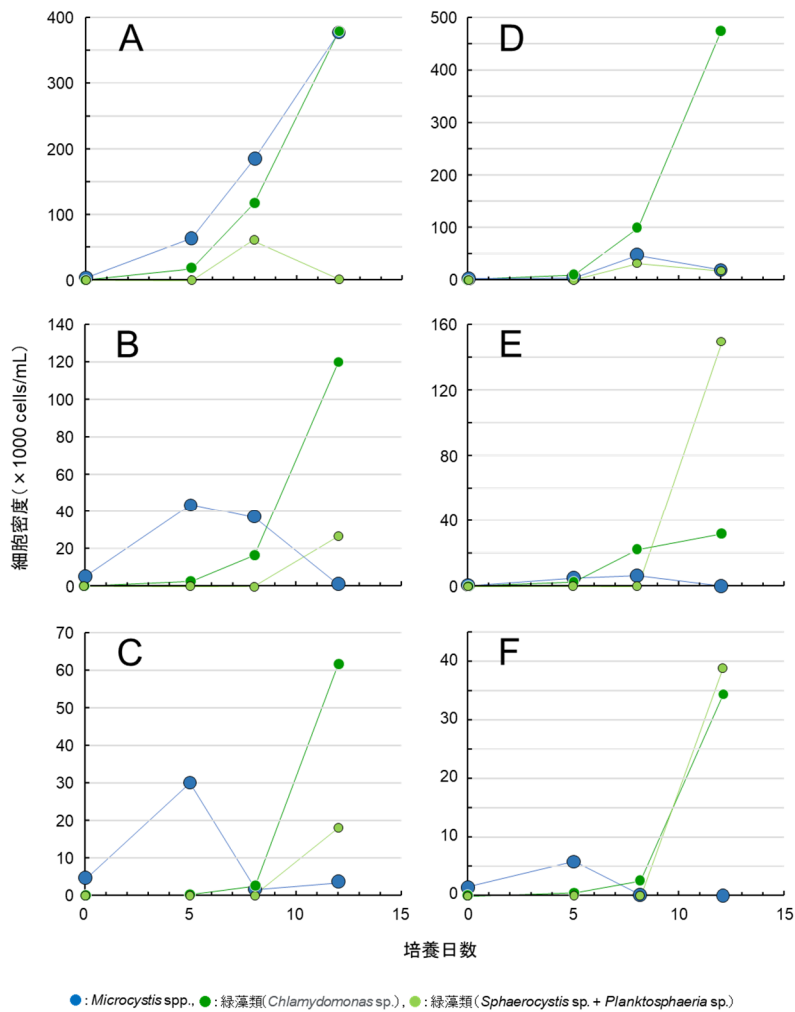


図5 植物プランクトンの細胞密度の変化

植物プランクトンの種組成の違いには遮光率と試料水の投入量すなわち植物プランクトンの初期濃度が大きく関わっていると考えられる。Aについては、試料水の投入量が多いことから、*Microcystis*の初期濃度が高く、遮光をしていないため急激に増殖していったものと考えられる。*Chlamydomonas*は遊泳することによって光合成に最適な光条件下で生きることができる¹¹⁾、*Microcystis*存在下でも増殖し、優占したと推察される。一方、Dでは試料水の投入量が少なく、*Microcystis*の初期濃度も低かったため、*Chlamydomonas*の方が増殖して優占し、競合によって*Microcystis*の増殖は抑制されたと考えられる。

Sphaerocystis + *Planktosphaeria*は日照時間が短い条件下で優占すると報告されている¹²⁾。本研究でも、同属群は遮光した水槽EおよびFで優占しており、既存の知見と符合する結果となった。同属群は、*Microcystis*の濃度が低い遮光環境下では*Microcystis*に代わって増殖することが示唆された。

これらの結果から、遮光は*Microcystis*を含む植物プランクトンの増殖抑制に効果があると考えられる。また、アオコの原因となる*Microcystis*について着目すると、緑藻類との競合によってもその増殖は妨げられることから、少なくとも遮光率が42%以上であれば、増殖を抑制できる可能性が示唆された。

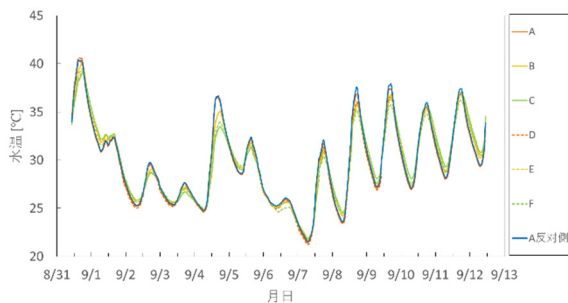


図6 水温の変化

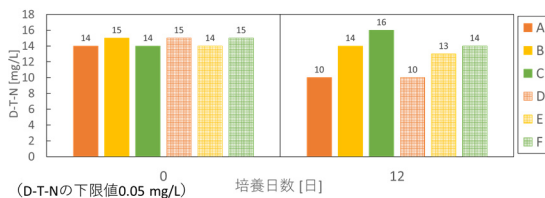


図7 D-T-Nの変化

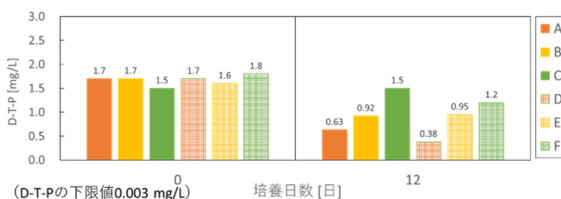


図8 D-T-Pの変化

まとめ

ダムで採水した様々な植物プランクトンが含まれる水を用いて屋外培養試験を行った結果、遮光率及び植物プランクトンの初期濃度によって、優占する種に変化がみられた。*Microcystis*は遮光した水槽内では、緑藻類の*Chlamydomonas*や*Sphaerocystis*などと競合して増殖を妨げられることから、少なくとも遮光率が42%以上であれば、アオコ対策として有効であることが示唆された。また、*Microcystis*の初期濃度が低い条件下では、緑藻類が増殖しやすい傾向がみられたことから、自然水域では、*Microcystis*の濃度が低い春先から対策を講じることが重要と考えられる。

参考文献

- 1) 豊村誠, 他: 植物プランクトン(藍藻類)増殖抑制手法の検討(室内培養試験), *長崎県環境保健研究センター所報*, (67), 113-116(2022).
- 2) 豊村誠, 他: 植物プランクトン(藍藻類)増殖抑制手法の検討(現場試験), *長崎県環境保健研究センター所報*, (67), 108-111(2022).
- 3) 環境庁国立環境研究所: SR-24-'98 湖沼環境指標の開発と新たな湖沼環境問題の解明に関する研究 平成4~8年度, vi + 52 pp., 環境庁国立環境研究所, つくば(1998).
- 4) Guillard, R. R. L. & C. J. Lorenzen: Yellow-green algae with chlorophyllide C, *Journal of Phycology*, **8**(1), 10-14(1972).
- 5) 竹内亮平, 他: 富栄養条件下での窒素制限に伴う*Scenedesmus quadricauda* および*Microcystis aeruginosa*の優占種変遷機構, *水文・水資源学会誌*, **28**(5), 233-244(2015).
- 6) 関谷卓見, 他: 藍藻類*Microcystis aeruginosa*と珪藻類*Cyclotella* sp.の増殖に及ぼすN/P比および温度の影響, *水環境学会誌*, **33**(11), 175-179(2010).
- 7) 二羽恭介: 大型水槽によるフリー配偶体を使ったワカメの種苗生産, *水産増殖*, **64**(2), 173-182(2016).
- 8) 国立環境研究所微生物系統保存施設: 継代培養、培地作成、凍結保存の方法(2022), https://mcc.nies.go.jp/method_j.html(2022. 4. 20アクセス)
- 9) 滋賀県琵琶湖環境科学センター: 琵琶湖マニュアル プランクトンモニタリング調査(2009年), 環境省プランクトン研修マニュアル,

(2009).

- 10) 矢木修身, 他: アオコの増殖及び分解に関する研究, *国立公害研究所報告*, **92**, 88 pp. + xxii(1986).
- 11) 若林憲一, 他: クラミドモナス走光性における眼点カロテノイドの役割, *植物科学最前線*, **9**, 90-101(2018).
- 12) 吉田陽一: 琵琶湖南湖におけるミクロキスチスの優占的発生と水質, 気象諸要因との関係, *日本水産学会誌*, **64**(4), 531-536(1997).

感染症サーベイランスにおけるウイルス感染症 (2022年度)

高木 由美香、松本 文昭、中峯 文香、井原 基、吉川 亮

Annual Surveillance Report of Viral Infectious Diseases (2022)

Yumika TAKAKI, Fumiaki MATSUMOTO, Fumika NAKAMINE, Motoki IHARA
and Akira YOSHIKAWA

キーワード：サーベイランス、インフルエンザ、パレコウイルス、日本紅斑熱
Key words: Surveillance, Influenza, Human Parechovirus, Japanese spotted fever

はじめに

感染症発生動向調査(サーベイランス)は、1999年4月1日に施行された「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」(以下、感染症法)に基づき、県内の患者発生状況、病原体の検索等感染症に関する情報をITの活用により早期かつ的確に把握し、その情報を速やかに地域に情報還元(情報提供・公開)することにより、医療機関における適切な初期診断を推進することを目的に実施されている。その後、鳥インフルエンザ(H7N9)や中東呼吸器症候群(MERS)などの新たな感染症の海外における流行や、デング熱の国内感染例の発生など、昨今の感染症の発生状況、国際交流の進展、保健医療を取り巻く環境の変化等を踏まえ、感染症に対応する情報収集体制を一層強化するために、2014年11月21日に改正感染症法が公布され、さらに2015年9月の感染症法施行規則(省令)の改正に伴い、「長崎県感染症発生動向調査実施要綱」¹⁾(以下、県要綱)の一部改正が行なわれた。

長崎県環境保健研究センターには改正された県要綱に基づき、県内の医療機関からウイルス性の感染症と診断された患者の検体が適宜採取、搬入されている。そこで、本調査では2022年度に搬入された検体について、ウイルス遺伝子の検索等を行ったのでその結果について報告する。

調査方法

1 検査材料

検査材料は、2022年度に県内の医療機関においてウイルス性の感染症と診断された209名の患者から採取された合計345検体を対象とした。

これらの医療機関は、県要綱に基づき、政令市保健所(長崎市)、中核市保健所(佐世保市)及び県立保健所管轄の10地域に基幹定点医療機関及び病原体定点医療機関として選定されている。

臨床検体の内訳は、咽頭ぬぐい液116検体、鼻咽頭ぬぐい液8検体、鼻腔ぬぐい液16検体、糞便(直腸拭い液を含む)17検体、血液85検体、血清44検体、髄液10検体、尿8検体、痂皮36検体及びその他5検体であった。

2 検査方法

改正された感染症法の施行に伴い、国立感染症研究所が発行した病原体検出マニュアルや参考文献等^{2,3)}に準じて、検体の前処理、遺伝子検出、細胞培養、ウイルス分離・同定等について検査標準作業書を作成し、これらに基づき検査した。

調査結果及び考察

表1に疾病別の被検者数及び検体件数の内訳を示す。

1 インフルエンザ(インフルエンザ様疾患を含む)

インフルエンザと診断された114名分の患者検体において、遺伝子の検出を実施した結果、インフルエンザウイルスに特異的な遺伝子が106名から検出された。検出されたインフルエンザウイルスの亜型の内訳はA/H3が105名と全体の9割以上を占め、残る1検体からは、A/H1pdm09の遺伝子が検出された。

長崎県及び全国における2022/2023シーズンの

表1. 疾病別の被検者数及び検体件数内訳

疾病名	被検者数	検体数	検査材料(内訳)										
			咽頭拭い液	鼻咽頭拭い液	鼻腔拭い液	糞便 (直腸拭い液)	血液	血清	髄液	尿	痂皮	その他	
インフルエンザ	114	114	91	8	15	0	0	0	0	0	0	0	0
手足口病	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
無菌性髄膜炎	5	19	5	0	0	5	1	3	4	1	0	0	0
急性弛緩性麻痺	1	2	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
急性肝炎	1	4	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0
SFTS・リケッチャ感染症	69	155	0	0	0	0	74	38	2	0	36	5	
その他	17	49	16	0	1	10	9	2	4	7	0	0	
計	209	345	116	8	16	17	85	44	10	8	36	5	

患者報告数の推移を図1に示す。2022年第52週に定点当たり患者報告数が1.0人を上回り、新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の流行が始まった2020年以降、3年ぶりの流行期入りとなった⁴⁾。その後2023年第2週に注意報レベル基準値を超えたものの、警報レベルを超えることなく、第7週の17.86人をピークとして減少傾向に転じた。

今後も、迅速な注意喚起情報の提供等の蔓延防止に向けた取り組みにつなげるために、保健所と協力しながら患者発生数の把握及び原因ウイルスの監視を継続することが必要である。

2 手足口病

手足口病と診断された2名分の患者検体に対し、エンテロウイルス(Enteroviruses; 以下、EVs)の遺伝子検出を実施した結果、いずれの検体からもEVsの遺伝子を検出した。検出したEVsの塩基配列の一部をダイレクトシーケンス法により決定し、ウイルス型別のためのウェブツール Enterovirus Genotyping tool⁵⁾により型別した結果、いずれもコクサッキーウイルスA16と同定された。

EVsが原因である手足口病及びヘルパンギーナは、例年夏季に流行するが、2022年は警報レベルを超えるような大きな流行は認められなかった。手足口病やヘルパンギーナは基本的に予後良好な疾患であるが、エンテロウイルス71(EV71)のように中枢神経症状を伴う合併症を起こしやすいEVsの報告⁶⁾があり、実際に県内でも流行が認められている⁷⁾。そのため、臨床的な診断で終わることなく、今回のように遺伝子型別をすることにより県内で流行しているEVsを採知し、重篤な症状を引き起こすEVsの迅速な掌握と臨床現場への情報還元が重要であり、引き

続き原因ウイルスの発生動向を注視していく必要がある。

3 無菌性髄膜炎

無菌性髄膜炎と診断された患者5名分19検体に対し、手足口病と同様の手法でEVsの遺伝子検出を実施した結果、いずれの検体からもEVsの遺伝子は検出されなかった。また、同じ検体を用いてヒトパレコウイルスの遺伝子検出^{8),9)}を試みたところ、患者2名からパレコウイルス3型の遺伝子が検出された。パレコウイルスは、新生児の発熱や髄膜炎の原因となるウイルスの一つで、上記の2名はいずれも0歳の患者であった。

無菌性髄膜炎の原因ウイルスは、その多くをEVsが占めると考えられている¹⁰⁾。EVsの中には、新生児期における心筋炎や敗血症様疾患等の重篤な症状を惹き起こすウイルスがあり、引き続き本県における流行状況を注視していく必要があると考えられる。

4 急性弛緩性麻痺(AFP)

AFPは、ポリオ対策の観点から世界保健機関(WHO)より患者の把握と原因病原体の検出が求められている。日本でも2018年からAFP(急性灰白髄炎を除く)が5類感染症全数届出疾患となり、AFPの届出があった際、地方衛生研究所(地衛研)では、EVD68、A71等ポリオ以外の検査の実施及びポリオ検査のための国立感染症研究所(感染研)への便検体の送付を行う必要がある。2022年度は、AFPと診断された患者1名2検体に対し、EVs及びパレコウイルスの遺伝子検出を試みたが、いずれの検体からも遺伝子は検出されなかった。また、感染研に送付した便検体は、ポリオの分離試験は陰性であった。

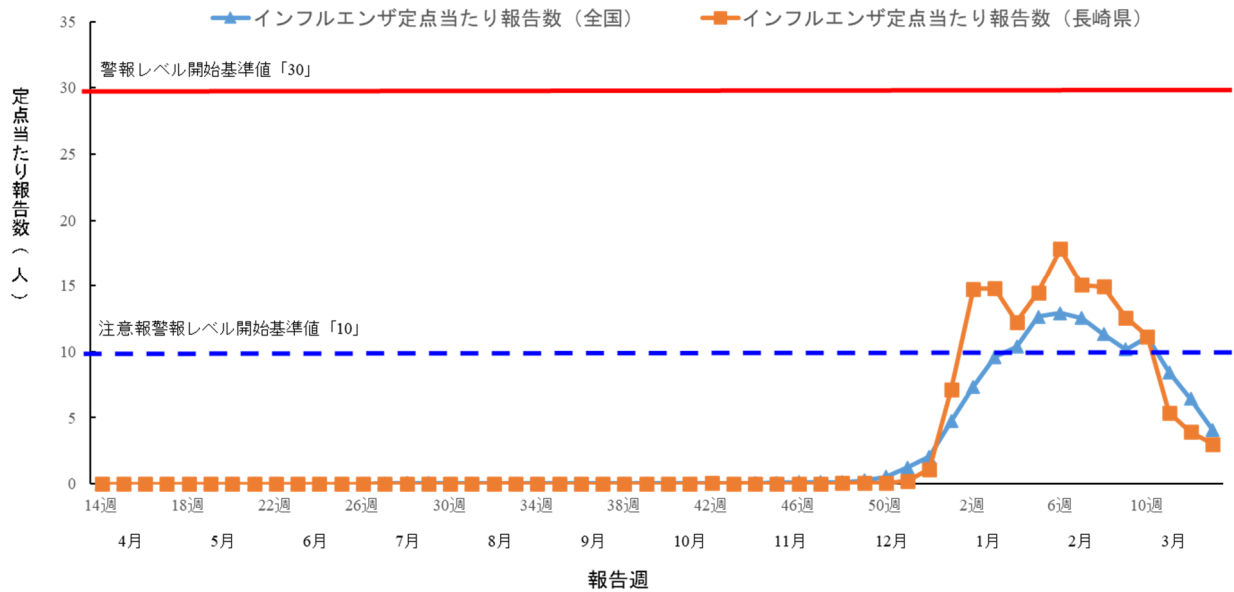


図1. インフルエンザの定点当たり報告数の推移 (2022年度)

5 急性肝炎

2022年4月15日、WHOにより欧米において小児の原因不明の急性肝炎事例の発生が報告された¹¹⁾。国内でも発生の実態を把握するため4月27日付厚生労働省結核感染症課の事務連絡による協力依頼が発出され、地衛研においては、症例定義を満たす原因不明の肝炎を呈する入院例について、アデノウイルス等病原体検査を実施するよう求められている。

上記の事務連絡に基づき、1名分4検体(咽頭拭い液、便、血液、血清)の検査依頼があった。アデノウイルス、EVs、パレコウイルスの遺伝子検出を試みたところ、咽頭拭い液からC群ライノウイルスが検出された。

2023年3月時点で急性肝炎の原因が特定されていないことから最新の情報を収集し、検査体制を整備しておく必要がある。

7 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS)、リケッチア感染症(つつが虫病及び日本紅斑熱)

SFTS及びリケッチア感染症は、臨床症状等により区別することが困難であり、検査項目を限定することができないため、本県では3疾患のうちいずれか一つの診断名であっても3疾患の検査を実施している。これらの3疾患の遺伝子検出は、SFTSウイルス、

*Orientia tsutsugamushi*及び*Rickettsia japonica*を対象として実施し、ペア血清による抗体価測定は*O. tsutsugamushi*と*R. japonica*を対象として検査を実施している(表2)。2022年度は、3疾患を疑う患者検体は、69名分155検体であった。

遺伝子検出の結果、4名からSFTSウイルス、15名から*R. japonica*、5名から*O. tsutsugamushi*の遺伝子が検出された。*O. tsutsugamushi*については、血清型別のため、ダイレクトシーケンスにより、56 kDa type specific antigen geneの部分配列を決定し、MEGA6.0¹²⁾を用いて近隣結合法¹³⁾による分子系統樹解析を行った。その結果、Kawasakiが3例、Kurokiが2例検出された。(図2参照)。

ペア血清による抗体価測定を行った4名のうち2名において*R. japonica*に対するペア血清での抗体価の有意な上昇、抗体陽転が認められた。

SFTS及びリケッチア感染症は野外の藪や草むらに潜んでいる病原体を保有しているマダニ類に刺咬されることで感染が成立する。感染予防のためには刺咬されないことが重要であり、具体的には長袖、長ズボンの着用や作業後の着替え、昆虫忌避剤の使用等があげられる。また、屋外活動後はシャワーや入浴でマダニ類に刺咬されていないか確認を行なうことも重要である¹⁴⁾。

表2. 疾病別の被検者数及び検体件数内訳

症例No.	性別	年齢	遺伝子検査	抗体検査
1	男	69	<i>R.j</i>	NT
2	男	65	-	NT
3	女	89	-	NT
4	女	16	-	NT
5	男	84	-	-
6	女	87	-	NT
7	女	35	<i>R.j</i>	NT
8	男	40	-	NT
9	男	71	-	NT
10	女	52	-	NT
11	女	81	-	NT
12	女	49	-	NT
13	女	90	-	NT
14	男	74	-	NT
15	男	75	-	NT
16	女	74	-	NT
17	女	81	-	NT
18	女	85	<i>R.j</i>	NT
19	男	65	-	NT
20	女	72	-	NT
21	男	71	-	NT
22	男	25	-	NT
23	男	74	-	NT

症例No.	性別	年齢	遺伝子検査	抗体検査
24	男	60	-	NT
25	女	84	SFTSV	NT
26	男	73	SFTSV	NT
27	男	46	SFTSV	NT
28	男	75	-	NT
29	女	50	-	Rj
30	男	74	-	NT
31	男	15	-	NT
32	女	78	-	NT
33	男	81	<i>R.j</i>	NT
34	男	78	-	NT
35	男	73	<i>R.j</i>	NT
36	女	73	<i>R.j</i>	NT
37	女	79	<i>R.j</i>	NT
38	男	58	-	NT
39	女	81	<i>R.j</i>	NT
40	女	64	<i>R.j</i>	NT
41	男	80	-	NT
42	女	88	<i>R.j</i>	NT
43	男	81	-	NT
44	女	68	-	NT
45	女	70	<i>R.j</i>	NT
46	女	78	SFTSV	NT

症例No.	性別	年齢	遺伝子検査	抗体検査
47	女	87	<i>R.j</i>	NT
48	女	86	<i>R.j</i>	NT
49	男	53	-	NT
50	男	78	<i>R.j</i>	NT
51	男	49	-	NT
52	男	72	<i>O.t</i> (Kuroki)	NT
53	男	84	<i>R.j</i>	NT
54	男	69	<i>O.t</i> (Kawasaki)	NT
55	男	61	<i>O.t</i> (Kuroki)	NT
56	女	77	-	NT
57	女	64	-	-
58	男	67	-	NT
59	女	28	-	NT
60	男	52	-	NT
61	男	69	<i>O.t</i> (Kawasaki)	NT
62	男	47	-	NT
63	女	69	<i>O.t</i> (Kawasaki)	NT
64	女	70	-	NT
65	女	58	-	NT
66	男	72	-	NT
67	男	80	-	NT
68	男	60	-	NT
69	男	54	-	NT

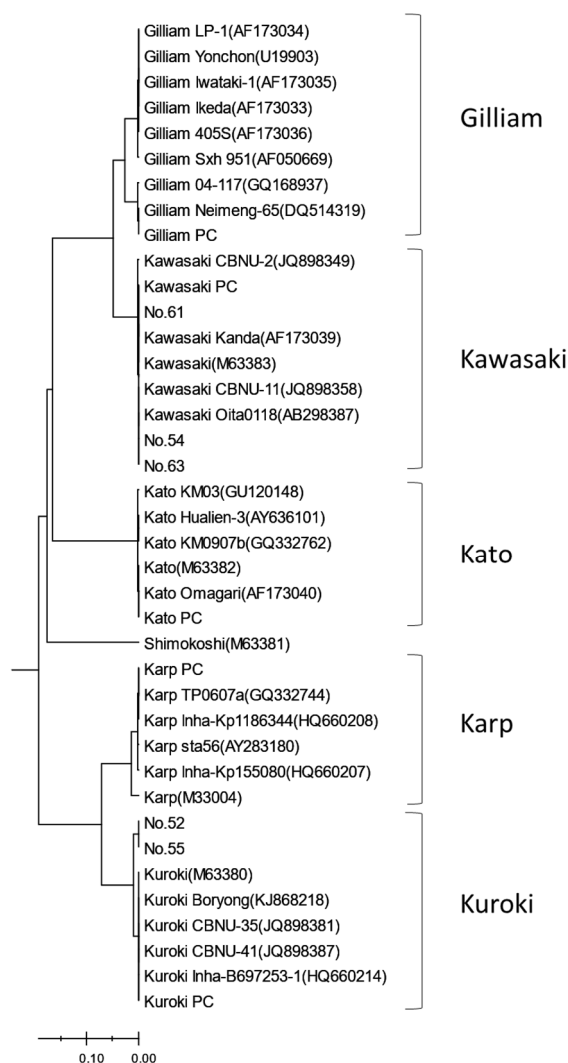


図2. *O.tsutsugamushi* 56kDa type specific antigen geneの分子系統樹

解析には、34株のリファレンス配列（Gilliam：9株、Kawasaki：6株、Karp：6株、Kuroki：6株、Kato：6株、Shimokoshi：1株）県内の陽性となった5検体から得られた塩基配列（表2の症例No参照）を使用した。

表3. 疾病別の被検者数及び検体件数内訳

症例No	保健所	年齢	性別	診断名	発症日	検体採取日	遺伝子型	陽性検体の種類	陰性検体
1	佐世保市	0歳1か月	男性	ウイルス性髄膜炎疑い	2022/6/26	2022/6/30	3型	直腸拭い液	咽頭拭い液
2	長崎市	0歳0か月	男性	新生児発熱・感染症関連HLH	2022/6/21	2022/6/24	3型	咽頭拭い液、直腸拭い液、 全血、血清、髄液	尿
3	佐世保市	0歳1か月	女性	ウイルス性敗血症	2022/7/8	2022/7/9 2022/7/11	3型	全血、血清、便、 咽頭拭い液、直腸拭い液	
4	西彼	0歳1か月	男性	乳児発熱	2022/7/9	2022/7/13	3型	全血、便、髄液	咽頭拭い液、 尿
5	県央	0歳0か月	女性	ヒトパレコウイルス感染症	2022/7/17	2022/7/20	3型	全血、便	咽頭拭い液
6	県央	0歳0か月	男性	パレコウイルス髄膜炎	2022/7/15	2022/7/16	3型	全血、便、咽頭拭い液	
7	県央	2歳11か月	男性	急性上気道炎、急性気管支炎、 ウイルス性胃腸炎	2022/7/14	2022/7/16	NT	咽頭ぬぐい液	

また、4類感染症では、レプトスピラ症を疑う2名の患者から採取されたそれぞれ4検体(急性期血清、急性期血漿、急性期尿、回復期血清)について感染研に検査を依頼し、検査の結果、いずれの患者からもレプトスピラの遺伝子が検出され、抗体の陽転も確認された。県内でレプトスピラ症の患者が確認されたのは、5年ぶりであった。

そのほか、県要綱に規定されていない診断名(乳児・新生児発熱、ウイルス性敗血症等)の患者検体17名分が搬入された。そのうち、急性上気道炎、急性気管支炎と診断された7名からパラインフルエンザウイルスの遺伝子が検出された。また、新生児・乳児発熱、敗血症等を呈した4名からパレコウイルス3型の遺伝子が検出された。咽頭炎及び胃腸炎と診断された1名からCV-A9遺伝子が検出された。

以上のように感染症サーベイランスにおいては、病原体リスクマネジメントの観点から臨床症状に基づく診断に加えて、遺伝子検出等による病原体の同定と型別並びにそれらの解析に基づく病原体発生動向の迅速な把握が重要であることは明らかである。

本事業の適切かつ確実な遂行のためには、医療機関、保健所及び地衛研が連携して本事業に取り組む必要があり、それらの達成が特殊な病原体に対する注意喚起等の行政施策、ひいては県民の感染症に対する意識向上につながると考えられる。

謝 辞

感染症発生動向調査にご協力頂いた各定点医療機関及び協力医療機関の諸先生、検体の収集及び搬入にご協力頂きました長崎市、佐世保市、県立各保健所の関係諸氏に深謝する。

参 考 文 献 ・ 脚 注

- 1) 長崎県感染症情報センター: 長崎県感染症発生動向調査実施要綱, <https://www.pref.nagasaki.jp/bunrui/hukushi-hoken/kansensho/kansen-c/hasseidoukou/>
- 2) 国立感染症研究所: 病原体検出マニュアル, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/labo-manual.html> (2022.4.26)
- 3) 国立感染症研究所(厚生労働科学研究 新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業「現在、国内で分離・同定できないウイルス性出血熱等の診断等の対応方法に関する研究」班): SFTSウイルス検出マニュアル, (2013).
- 4) 長崎県感染症対策室: インフルエンザの流行期入り, [https://www.pref.nagasaki.jp/press-contents/591785/\(2023.1.6\)](https://www.pref.nagasaki.jp/press-contents/591785/(2023.1.6))
- 5) A Kroneman *et al.*: An Automated Genotyping Tool for Enteroviruses and Noroviruses, *J Clin Virol* 2011 Jun; **51**(2):121-5.
- 6) Huang CC *et al.*: Neurologic complications in children with enterovirus 71 infection, *N Engl J Med.* **341**, pp936-942 (1999)
- 7) 松本 文昭 他: 長崎県環境保健研究センター所報 63, (2017) 資料 p.110-115
- 8) W Allan Nix *et al.*: Detection of All Known Parechoviruses by Real-Time PCR, *J. Clin. Microbiol*, 2008 Aug; **46**(8):2519-24
- 9) H. Harvala *et al.*: Epidemiology and Clinical Associations of Human Parechovirus Respiratory Infections, *J. Clin. Microbiol*, 2008 Oct; **46**(10): 3446-3453

- 10) 国立感染症研究所: 無菌性髄膜炎について
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/kansennohanashi/520-viral-megingitis.html> (2020.6.25)
- 11) 世界保健機関(WHO): Diseases Outbreak News.
Acute hepatitis of unknown aetiology - the United Kingdom of Great Britain
- 12) Tamura K, *et al.*: MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0, *Mol Biol Evol*, **30**(12), 2725-29, (2013).
- 13) Saitou, N, *et al.*: The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees, *Mol Biol Evol*, **4**, pp406-425 (1987).
- 14) 国立感染症研究所: マダニ対策、今できること,
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/sfts/2287-ent/3964-madanitaisaku.html> (2022)

蚊媒介感染症に関する蚊の生息調査 (2022年度)

井原 基, 中峯 文香, 高木 由美香, 松本 文昭, 吉川 亮

Monitoring of Vector Mosquitoes concerning Dengue virus, Chikungunya virus and Zika virus in Nagasaki (2022)

Motoki IHARA, Fumika NAKAMINE, Yumika TAKAKI, Fumiaki MATSUMOTO and Akira YOSHIKAWA

キーワード：蚊媒介感染症、デング熱、チクングニア熱、ジカ熱、アルボウイルス
 Key words: Mosquito-borne Infection, Dengue Fever, Chikungunya Fever, Zika Fever, Arbovirus

はじめに

2014年8月、国内でデング熱に感染した患者が約70年ぶりに報告されたことを契機に、厚生労働省は2015年に「蚊媒介感染症に関する特定感染症予防指針」を策定し、国立感染症研究所は「デング熱・チクングニア熱等蚊媒介感染症の対応・対策の手引き」により各ブロックで実地研修を行った。

これを受け、都道府県には平常時の予防対策として、大規模公園等のリスクエリアの抽出と定期的な蚊の密度調査(蚊密度モニタリング)が求められ、本県においても2015年度から平常時における媒介蚊の発生状況の定点調査を実施している。加えて本県では、捕集した蚊(ヒトスジシマカ)についてPCRによる遺伝子(デングウイルス、チクングニアウイルス、ジカウイルス)検出を実施することとした。

2015年調査開始当初の実施地点は、外国からの来日者数が多く高リスクと想定される平和公園(長崎市)と佐世保公園(佐世保市)を対象とし、長崎市および佐世保市と共同で調査を行った。翌2016年度からは県医療政策課、長崎市、佐世保市および当センターで協議し、平和公園の調査は、蚊の捕集から遺伝子検出までを長崎市が担当し、佐世保公園については蚊の捕集を佐世保市が行い、遺伝子検出は当センターで実施するという体制となった。

また、2016年度からはデング熱の流行が報告されている中国、台湾に寄港するクルーズ船に着目し、停泊港に近い水辺の森公園(長崎市)を実施地点として追加した。

当センターでは、水辺の森公園における蚊の捕

集から遺伝子検出までを実施しており、本報では、2022年度の調査内容、蚊密度モニタリングおよび遺伝子検出結果について報告する。

調査方法

1 蚊密度モニタリング

(1) 調査時期及び回数

6月～10月に計5回、午前9時頃から実施した。

(2) 調査地点

事前の調査で蚊密度が高いと推測される水辺の森公園内の図1に示す6地点で調査した。



図1 蚊密度モニタリング定点
 メインゲート、北ゲート駐車場裏、
 宵待橋西、水の庭園トイレ、
 南ゲートプロム入口、森の劇場奥

表1 2022年度 蚊捕集結果(水辺の森公園)

調査日	6月15日		7月13日		8月10日		9月7日		10月4日		合計	
天気	曇り		晴れ		曇り		曇り		曇り		-	
捕集数	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌	雄	雌
地点	4	10		7			1	4			5	21
地点	2	2	6	42		3		6	2	7	10	60
地点	9	28		12		9	2	6		4	11	59
地点				2		2					0	4
地点							1	1			1	1
地点	1	1		1				2			1	4
合計	16	41	6	64	0	14	4	19	2	11	28	149

表2 2022年度 蚊密度モニタリング結果(水辺の森公園)

調査日	6月15日		7月13日		8月10日		9月7日		10月4日		合計		
雌	密度	雌	密度	雌	密度	雌	密度	雌	密度	雌	密度	雌	密度
地点	10	1.5	7	0.7			4	1.3				21	4.2
地点	2	0.3	42	4.0	3	1.3	6	1.9	7	3.9		60	12
地点	28	4.1	12	1.2	9	3.9	6	1.9	4	2.2		59	11.8
地点			2	0.2	2	0.9						4	0.8
地点							1	0.4				1	0.2
地点	1	0.2	1	0.1			2	0.7				4	0.8
平均数	6.8		10.7		2.3		3.2		1.8			24.9	

(3) 捕集方法

捕集時間を各地点8分間として人囿法にて実施した。

(4) 蚊の種別・雌雄同定

地点ごとに捕集した蚊は、凍殺スプレーで凍殺後速やかに冷蔵保存した。帰所後、冷却しながらルーペで観察して、ヒトスジシマカとそれ以外の蚊に分類し、ヒトスジシマカは速やかに雌雄を判別した。

2 遺伝子検出

(1) 捕集蚊ホモジネイト処理

雌雄判別したヒトスジシマカを地点ごとに20匹を目安にプールを作製した。作製したプールをMEM/2HI-FBSを1.0 mLずつ分注した2 mLピーズ入りチューブに入れ、ピーズ式破砕機で蚊を破砕(5,000 rpm、20 sec)した。破砕後、速やかに2 mLピーズ入り破砕チューブを冷却遠心(12,000 rpm、3 min、4 °C)した。保存用の2 mLチューブにMEM/2HI-FBSを0.5 mL分注しておき、滅菌スポイ

トで遠心上清を注射筒に移し、0.22 μm孔径のメンブレンフィルターでろ過した。

(2) RNA抽出

メンブレンフィルターでろ過した捕集蚊ホモジネイト140 μLを用いて、QIAamp Viral RNA mini kit (QIAGEN) により添付文書に基づきRNAを抽出した。

(3) PCR反応

RNA抽出液をDNase 処理し、処理後のRNAを国立感染症研究所が発行した病原体検出マニュアルや参考文献に準じてPCRを実施した。PCR産物については電気泳動にて増幅を確認した。

調査結果および考察

1 蚊密度モニタリング

各地点の捕集数および雌雄分類の結果を表1に示す。

調査日以前の天候や調査当日の風の強さにも影響されるが、調査時期別では、7月の捕集数が1番多く、次いで6月が多かった。すべての調査時期の

合計捕集数において、雌が雄よりも多く捕集された。雄は吸血することなく、雌に誘引されてきているため多くの雄が捕集されていることは、多くの雌の存在が想定されるので注意が必要である。

地点別では、北ゲート駐車場裏、宵待橋西での捕集数が群を抜いて多かった。北ゲート駐車場裏は生垣近くの斜面上にあり、日中も日陰になりやすく、宵待橋西は道路が近く川沿いの斜面上であった。

各地点の雌成虫密度を表2に示す。

当センターでは、蚊の発生源や休息地となる場所を把握する目的で調査日別の雌捕集数平均を、地点ごとに比較して雌成虫密度のランク付けを行っている。雌成虫密度においても、地点 および は他の地点よりも高値となっていた。ヒトスジシマカは昼間吸血性であり、雌のみが吸血を行う。雌は、潜伏場所から4～5mの距離に人が近づくと、ヒトの接近に気づいて吸血のために飛来するため、地点 および は潜伏場所と非常に近かった可能性が高いと推測される。

また、公園全体の環境は2016年の調査開始時よりも整備が進んでおり、雨水桝や側溝、空き缶などの蚊の幼虫が生息できる場所や樹木が茂り下草のある風通しが悪い日陰等成虫が生息しやすい場所が全体的に少なくなっていた。

以上の調査結果から、蚊の幼虫対策や成虫に対する消毒等の対策の必要性はなかった。

2 遺伝子検出

すべての検体から、デングウイルス、チクングニアウイルスおよびジカウイルスの遺伝子は検出されなかった。

これまでの調査でも検出されることはなかったが、公園が整備されて蚊が生息しにくい環境になってきていることに加え、ここ数年の新型コロナウイルスの

影響で海外からの来日者数が激減しており、人の動きが平時より少なくなったため各ウイルス遺伝子を検出される可能性は低くなっていると考えられる。

まとめ

「蚊媒介感染症に関する特定感染症予防指針」の策定以降、長崎県内ではジカウイルス感染症の患者発生報告はないが、デング熱が2015年に2名、2016年に1名、2017年に1名、2020年に1名、2023年に1名の合計6名、チクングニア熱が2019年に2名発生している。これらデング熱の患者6名およびチクングニア熱の患者2名のすべてが海外への渡航歴があり、感染場所は海外と推定されている。このことから、海外での蚊媒介感染症に罹患し、日本に病原体を持ち帰り、媒介蚊をとおして新たな感染を引き起こす可能性が考えられる。

今後も、蚊密度モニタリング調査および病原体の遺伝子検出を継続することで、長崎県内の蚊媒介感染症の予防・発生対策に役立てていきたい。

参考文献

- 1) 厚生労働省:蚊媒介感染症に関する特定感染症予防指針,
<https://www.mhlw.go.jp/content/000832570.pdf>
(2022.4.5アクセス)
- 2) 国立感染症研究所:デング熱・チクングニア熱・ジカウイルス感染症等の媒介蚊ヒトスジシマカの対策<緊急時の対応マニュアル>
<https://www.niid.go.jp/niid/images/ent/2019/manabo20191024.pdf>
(2022.4.5アクセス)

長崎県における日本脳炎の疫学調査 (2022年度)

豚の日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況調査

中峯 文香, 井原 基, 高木 由美香, 松本 文昭, 吉川 亮

Epidemiological Study of Japanese Encephalitis in Nagasaki (2022)

—Surveillance of swine infected by Japanese Encephalitis Virus—

Fumika NAKAMINE, Motoki IHARA, Yumika TAKAKI, Fumiaki MATSUMOTO
and Akira YOSHIKAWA

キーワード：日本脳炎、アルボウイルス、豚感染、HI抗体陽性率

Key words: Japanese Encephalitis, Arbovirus, Swine Infection, HI Antibody Positive Rate

はじめに

日本脳炎は東アジアから東南アジア、南アジアさらにはオーストラリアにかけて広く分布しており、年間およそ68,000人の患者が報告されている¹⁾。感染者のほとんどは無症状に終わるが、発症すると定型的な脳炎を呈し、1～2日で40℃以上の高熱となり、頭痛、嘔吐、頸部硬直などの髄膜刺激症状が現れ、次いで意識障害、筋硬直、けいれん等の脳炎症状が出現する。致死率は約20%であり、回復してもその半数に精神障害、運動障害等の後遺症が残る。

国内では、ワクチンの普及、媒介蚊の減少、生活環境の変化などにより1966年の2,017人をピークに患者数は減少しているが、毎年数名発生しており、県内でも2010年に1名、2011年に2名、2013年に1名(死亡例)、2016年に4名(2名死亡)及び2021年に1名の患者発生が報告されている。

日本脳炎はFlavivirus属に属する日本脳炎ウイルス(Japanese encephalitis virus :JEV)に感染して起こる。JEVは主にコガタアカイエカが媒介するアルボウイルス(節足動物媒介性ウイルス)であり、「蚊→豚(時にトリ)→蚊」のサイクルで生態環を形成している。終末宿主であるヒトでは、ヒト-ヒト感染はなく、ヒトはJEVのウイルス血症中の豚を吸血した蚊を介して感染する。

そこで、厚生労働省では毎年初夏から秋にかけて豚のJEV抗体獲得状況から間接的にJEVのまん延状況を調べている。本県では、厚生労働省の定めた感染症流行予測調査実施要領に基づいて、豚を対象とした感染源調査を実施している。

加えて本県では、日本脳炎の発生予防とまん延防止を図ることを目的とした「感染症流行予測調査事業(日本脳炎感染源調査)における注意喚起等実施要領」に基づき、豚血清中のJEV遺伝子の検出ならびに抗JEV-IgM抗体を測定している。

本県の日本脳炎に関する疫学調査(感染症流行予測調査事業及び関連調査)について、2022年度の調査結果を報告する。

調査方法

1 感染源調査

(1) 調査時期及び回数

6月～9月の上旬及び下旬に計8回実施した。

(2) 調査対象及び検体

調査対象は、諫早市内で飼育され、佐世保市と畜場に出荷された生後約6ヶ月の肥育豚80頭とし、調査対象の放血液より得られた血清を検体とした。

(3) 調査事項

感染症流行予測事業検査術式に従い、JEVに対する赤血球凝集抑制(HI)抗体及び2-Mercaptoethanol(2-ME)感受性抗体を測定した。

2 JEV遺伝子検索

感染源調査で使用した豚血清を検体としてJEV遺伝子を検索した。具体的にはQIAamp Viral RNA Mini Kit(QIAGEN)を用いてRNAを抽出し、エンベロープ(E)領域を標的としたOne-Step RT-PCR及びNested PCR²⁾により326 bpの増幅産物が確認されたものを陽性とした。

3 JEVの分離

感染源調査で使用した豚血清を検体として既報に準じてウイルス分離を行った²⁾。細胞変性効果が認められた場合、既報²⁾に基づきPCRによりJEV遺伝子を確認した。

4 抗JEV-IgM抗体測定

感染源調査で使用した豚血清を用いて、初感染の指標とされる血清中の抗JEV-IgM抗体を抗JEV-IgM capture ELISAにより測定した。ELISAの条件及び抗JEV-IgM抗体陽性の判定基準等は既報²⁾に準じた。

表1 2021年度豚HI抗体陽性率及び2-ME感受性抗体陽性率調査結果

採血 月日	採血 頭数	HI 抗体価 (倍)								HI抗体 陽性率 (%)	2-ME抗体 陽性率 (%)
		< 10	10	20	40	80	160	320	640		
6/8	10	2	2	6						80	-
6/22	10	3		7						70	-
7/6	10	1		9						90	-
7/20	10			10						100	-
8/3	10	2		3	5					80	100
8/24	10		1	4		3	1	1		70	100
9/7	10	1		3	3	3				90	100
9/21	10		5	4		1				100	100

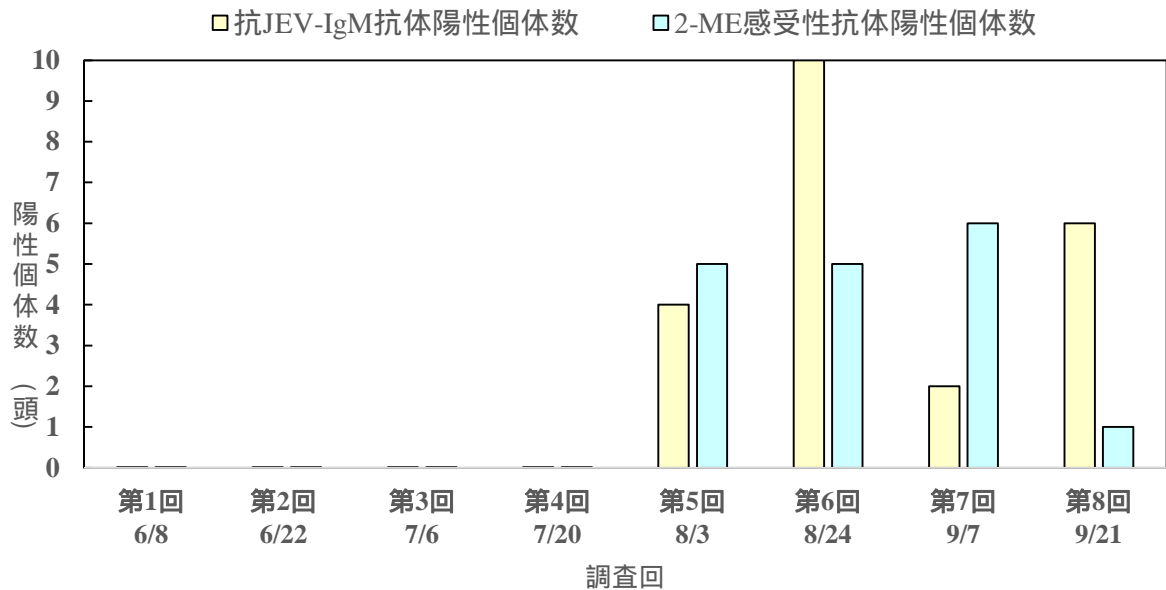


図1 豚の抗JEV-IgM抗体及び2-ME感受性抗体陽性個体数の推移

調査結果及び考察

1 感染源調査

2022年度の豚HI抗体陽性率及び2-ME感受性抗体陽性率調査結果を表1に示す。

2022年度は、第1回目調査（6月8日）でHI抗体陽性の豚が確認され、その後の調査でHI抗体陽性率は増加し、陽性率は70～100%で推移した。直近

の感染の指標となる2-ME感受性抗体は、第5回目調査（8月3日）の5頭から検出された。

保毒蚊（JEVに感染した媒介蚊）が生後4～6ヶ月の免疫のない豚を吸血することで豚はJEVに感染し、2～3日の潜伏期を経て約3日間持続するウイルス血症を起こす。このウイルス血症時に吸血した蚊がウイルスに感染し、10～13日の潜伏期を経てウイルスを

媒介する³⁾。このことから2022年度本県ではJEVを保有した蚊が6月には活動を既に開始し、9月以降もウイルスを媒介しながら感染を拡大していたと推察される。

例年、7月末から8月初旬に豚のJEV感染が始まり、8月中旬にはほとんどの豚が感染し、その後2-ME感受性抗体陽性豚は減少しており、今回の調査でも同様の推移がみられた。しかしながら、従前に比べるとHI抗体価の上昇が小さいため、本年度の感染状況によるものなのか、検査系の影響(使用している試薬、ガチョウ血球の性状変化や検査手技など)によるものか再点検が必要と思われた。

2 JEV遺伝子検索

遺伝子検索の結果、感染源調査で使用した豚血清80検体からJEV遺伝子は確認されなかった。

3 JEVの分離

ウイルス分離の結果、感染源調査で使用した豚血清80検体から有意なCPEは確認できなかった。

4 抗JEV-IgM抗体測定

豚の抗JEV-IgM抗体及び2-ME感受性抗体陽性数の推移を図1に示す。

第5回目調査(8月3日)で4頭が抗JEV-IgM抗体陽性であった。当該調査回で抗JEV-IgM抗体陽性個体が確認されたため、注意喚起等実施要領に基づき感染症対策室へ報告した。

例年、2-ME感受性抗体よりIgM抗体が早期に検出されるが、本年度は、2-ME感受性抗体陽性個体の確認と同一調査回であることから、第4回(7月20日)と第5回(8月3日)の間に感染が始まっていた可能性がある。いち早くその地域におけるJEVに感染

した蚊の活動を把握するうえでは、検体採取日の選定も重要であることが示唆された。

まとめ

- 1 2022年度は第1回目調査(6月8日)の8頭からHI抗体が、第5回目調査(8月3日)の5頭から2-ME感受性抗体が最初に確認された
- 2 抗JEV-IgM抗体陽性豚は第5回目調査(8月3日)に1頭最初に確認され、感染症対策室から日本脳炎の注意喚起が行われた。
- 3 本年度の調査では豚血清からJEV遺伝子は確認されず、ウイルス分離もできなかった。
- 4 各抗体の測定結果をみると例年とは大きく異なり、天候の影響が考えられた。

謝辞と付記

感染症(日本脳炎)流行予測調査事業にご協力いただいた長崎県央農業協同組合、佐世保食肉センター株式会社及び佐世保市食肉衛生検査所の関係各位に感謝する。

参考文献

- 1) World Health Organization : Japanese encephalitis (2019), <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/japanese-encephalitis> (2021.5.19アクセス)
- 2) 山下 綾香, 他: 長崎県環境保健研究センター所報63号, 103-107(2017)
- 3) 小早川 隆敏: 改定・感染症マニュアル, 株式会社マクガイヤ, 239~240(1999)
- 4) 倉根 一郎: 平成26年度_環境研究総合推進費終了成果報告書(S-8-1(8))

長崎県における食中毒病因物質の概要 (2022年度)

山口 結奈, 高木 由美香, 井原 基, 中峯 文香, 松本 文昭, 右田 雄二, 吉川 亮

Prevalence and Etiological Agents of Food Poisoning in Nagasaki (2022)

Yuina YAMAGUCHI, Yumika TAKAKI, Motoki IHARA, Fumika NAKAMINE,
Fumiaki MATSUMOTO, Yuji MIGITA, and Akira YOSHIKAWA

キーワード：食中毒、カンピロバクター・ジェジュニ、ノロウイルス、テトロドトキシン、アニサキス
Key words : Food poisoning, *Campylobacter jejuni*, Norovirus, tetrodotoxin, *Anisakis*

はじめに

1997年5月30日の食品衛生法施行規則改正でノロウイルス (2003年8月29日同規則改正で小型球形ウイルスから名称変更) 及びその他のウイルスと腸管出血性大腸菌 (VT産生) が、1999年12月28日には同規則改正によりコレラ菌、赤痢菌、チフス菌、パラチフス A 菌が、2012年12月28日にはグドア、ザルコシスティス、アニサキス及びその他の寄生虫が食中毒事件票に病因物質として追加された。これらの施行規則改正により、ウイルス性食中毒が位置づけられるとともに、コレラ菌等の4菌種についても飲食に起因する健康被害発生時は、他の食中毒病因物質と同じ措置がとられるようになった。当センターでは保健所との協力体制の下、ノロウイルス及び細菌学的検査を同時に実施している。

本報告では、2022年度に発生した本県食中毒事例で検出された病因物質について報告する。

調査方法

長崎県生活衛生課が取りまとめた2022年度の食中毒発生状況 (長崎市及び佐世保市の発生届出分含む) より、主要病因物質 (細菌、ウイルス、寄生虫、自然毒及び化学物質等) ごとに事件数及び患者数を集計した。

結果及び考察

長崎県内では食中毒が21事例発生した。発生事例の内訳を表1に示す。

1 細菌性食中毒

佐世保市、長崎市及び対馬市においてカンピロバクター属菌による食中毒が3件発生した (事例No. 12、No. 13、No. 14)。

事例 No. 12 は、佐世保市の飲食店において提供された加熱不十分な鶏肉などを喫食した6名が腹痛、下痢、発熱等の症状を呈し、このうち4名からカンピロバクター属菌が検出された。

事例 No. 13 は、長崎市の飲食店において提供された食事 (鶏胸たたき、鳥レバー炙り串) を喫食した3名が腹痛、下痢などの症状を呈し、全員の便からカンピロバクター属菌が検出された。

事例 No. 14 は、対馬市内にある飲食店において提供された食事を喫食した9名中6名が下痢、嘔吐、発熱等の症状を呈し、対馬保健所から有症者6名、従事者3名の便が搬入された。検査を実施したところ有症者6名中3名からカンピロバクター・ジェジュニを検出した。

2 ウイルス性食中毒

ノロウイルスによる食中毒は、県内で3事例発生した (事例 No. 16、No. 17、No. 18)。

事例 No. 16 の原因と推定された恵方巻は西海市内の飲食店で製造され、約75名が喫食していた。西彼保健所より有症者13名、従事者3名の便及び施設拭き取り6検体が搬入され検査を実施したところ有症者13名中11名からノロウイルスG II遺伝子が検出

された。当該11名の検体から改めてシーケンス解析を実施したところ11名中8名はノロウイルスG II. 2 遺伝子であった。残り有症者3名から検出されたノロウイルスG IIは遺伝子量が少なく解析できなかった。従事者3名及び施設拭き取り6検体からノロウイルス遺伝子は検出されなかった。

事例 No. 17 は、平戸市内の飲食店を利用した185人のうち約100名が下痢、嘔吐、腹痛などの症状を呈し、このうち有症者20名及び調理従事者7名の検体が県北保健所及び県央保健所から搬入され検査を実施した。その結果有症者20名中16名及び調理従事者7名中2名からノロウイルスG II遺伝子が検出された。当該18名の検体から改めてシーケンス解析を実施したところすべてノロウイルスG II. 17であった。

事例 No.18 は、長崎市内の事業場(保育所)の園児及び職員73名中園児24名及び職員2名が嘔吐などの症状を呈し、このうち7名からノロウイルス遺伝子が検出された。

4 化学物質性食中毒

テトロドキシンによる食中毒が長崎市保健所管内で1件発生した(事例 No. 6)。患者2名は釣ったフグを自宅で調理し喫食しており、全身の痺れ、下痢、嘔吐などを呈した。診察した医師からの届出及び患者の喫食状況などからフグによる食中毒と判断された。

3 寄生虫性食中毒

アニサキスによる食中毒は長崎市保健所管内で6事例、南島原市で4事例、諫早市で2事例、大村市と時津町で各1事例発生した(事例 No. 1、No. 2、No. 3、No. 4、No. 5、No. 7、No. 8、No. 9、No. 10、No. 11、No. 15、No. 19、No. 20、No. 21)。いずれも医療機関でアニサキスが確認された。

謝 辞

本調査を遂行するにあたり、種々の情報を提供していただいた長崎県生活衛生課、長崎市保健環境試験所、長崎市保健所、佐世保市保健所及び長崎県立各保健所の関係各位に深謝する。

表1 長崎県内の食中毒発生状況及び病因物質 (2022年4月～2023年3月)

事例 No.	発生年月日	発生場所	摂食者数	患者数	原因施設	原因食品	病因物質	検出数 / 検体数	検体(由来)	備考
1	2022/4/20	長崎市	4	1	家庭	しめさば、鯛の刺身(推定)	アニサキス			医療機関で患者からアニサキスを抽出
2	2022/4/21	諫早市	2	1	魚介類販売業	4/20に販売されたシメサバ	アニサキス			医療機関で患者からアニサキスを抽出
3	2022/5/8	時津町	1	1	飲食店営業	5/8に提供された海鮮丼	アニサキス			医療機関で患者からアニサキスを抽出
4	2022/5/10	南島原市	1	1	魚介類販売業	アジの切り身	アニサキス			医療機関で患者からアニサキスを抽出
5	2022/5/13	南島原市	1	1	魚介類販売業	5/12に販売された生食用魚介類	アニサキス			医療機関で患者からアニサキスを抽出
6	2022/6/9	長崎市	2	2	家庭	自分で釣ったフグ	テトロドトキシン			診察した医師から食中毒の届出あり
7	2022/6/19	長崎市	3	1	不明	不明	アニサキス			医療機関で患者からアニサキスを抽出
8	2022/7/2	南島原市	2	1	魚介類販売業	7/2に販売された生食用鮮魚介類	アニサキス			医療機関で患者からアニサキスを抽出
9	2022/8/9	南島原市	1	1	魚介類販売業	8/8に販売されたシメサバ	アニサキス			医療機関で患者からアニサキスを抽出
10	2022/8/21	大村市	4	1	飲食店営業	8/20に提供された刺身	アニサキス			医療機関で患者からアニサキスを抽出
11	2022/10/12	長崎市	1	1	魚介類販売業	刺身盛り合わせ	アニサキス			医療機関で患者からアニサキスを抽出
12	2022/10/19	佐世保市	6	6	飲食店営業	10/17に提供された食事	カンピロバクター属菌			
13	2022/10/22	長崎市	3	3	飲食店営業	10/19に提供された食事	カンピロバクター属菌			
14	2022/12/12	対馬市	9	6	飲食店営業	12/10に提供された食事	カンピロバクター・ジェジュニ	3 / 6 0 / 3	有症者便 従事者便	
15	2023/1/22	諫早市	2	1	魚介類販売業	1/22に販売された生食用鮮魚介類	アニサキス			医療機関で患者からアニサキスを抽出
16	2023/2/4	西海市	75	32	飲食店営業	2/3に調理された恵方巻	ノロウイルス GII.2 及び ※ノロウイルスGII	11 / 13 0 / 3 0 / 6	有症者便 従事者便 施設拭き取り	※遺伝子量が少なく型別不能
17	2023/2/19	平戸市	185	100	飲食店営業	2/18から2/19に提供された食事	ノロウイルス GII.17	16 / 20 2 / 7	有症者便 従事者便	
18	2023/2/22	長崎市	※73	26	事業場(保育所)	調理提供された食事	ノロウイルス			※園児及び職員数
19	2023/3/14	長崎市	3	1	魚介類販売業	しめさば	アニサキス			医療機関で患者からアニサキスを抽出
20	2023/3/23	長崎市	25	1	魚介類販売業	刺身盛り合わせ	アニサキス			医療機関で患者からアニサキスを抽出
21	2023/3/28	長崎市	2	1	飲食店	寿司定食	アニサキス			医療機関で患者からアニサキスを抽出

本表は、県民生活部生活衛生課の直中毒発生状況一覧表（長崎市、佐世保市発生分含む）から作成した。

病原物質の検出数は、環境保健研究センター保健科対応事例のみ記載した。

食品等の急性毒性物質の生物学的検査 (2022年度)

川野みどり, 蔡国喜, 井原基, 吉川亮

Biological examination of acutely toxic substances in food (2022)

Midori KAWANO, Guoxi CAI, Motoki IHARA and Akira YOSHIKAWA

キーワード：生物学検査、ナシフグ、毒化、テトロドトキシン、麻痺性貝毒

Key words: Biological examination, Nashifugu (Fugu vermicularis), Toxicity, Tetrodotoxin, Paralytic shellfish poison

はじめに

長崎県では、ナシフグは古くより一般に食用にされてきた。昭和58年12月の「フグの衛生確保について」(昭和58年12月2日付け環乳第59号厚生省環境衛生局長通知)において、その筋肉及び精巢が食用可能な部位とされてきたが、昭和63年から平成元年にかけて発生した輸入ナシフグの食中毒や本県産のナシフグから毒性が検出されたことにより、平成5年2月3日付け環乳第23号によりナシフグは販売可能なフグの種類から削除された。

しかし、県内産ナシフグによる食中毒事例は発生していないため調査したところ、ナシフグの産卵期にはフグ毒規制値を超過する個体があったもののそれ以外の時期では規制値以下であった¹⁾。これらの調査結果より漁協関係者からの販売解禁の要望に応え、厚生省は専門者会議を開催し、平成7年12月7日付け衛乳第270号「長崎及び熊本県産のナシフグに関する局長通知」により、有明海及び橘湾で漁獲されるナシフグは有毒部位から筋肉部への毒の移行を確実に防止するための措置が適切に実施されるものに限り、販売が認められることとなった。

なお、平成12年12月19日付生衛発第1821号厚生省生活衛生局長通知により精巢も解禁され、長崎県「ナシフグによる食中毒防止対策要領」に基づき処理され産地確認証紙が貼付されるナシフグ精巢(ただし、3月から7月に漁獲されたものに限る。精巢重量10gに満たないもの及び雌雄の判別がつかないものは流通できない)が流通することとなった。

当センターでは食品の安全性の確保を図るため、食品中に残留する毒性物質の検査を行っており、ナシフグや貝類(アサリやカキ)などを対象として定期的にマウス急性毒性試験を実施し、モニタリングする

ことにより、基準値を超える食品の流通を防いでいる。

本資料は1999年度²⁾及び2000 - 2003年度³⁾の調査資料の続報であり、2022年度に実施したフグ毒及び麻痺性貝毒の検査結果を報告する。

調査方法

1 検査材料

県内保健所が収去した当該海域で漁獲されたものを対象とし、ナシフグは精巢と筋肉を、麻痺性貝毒はアサリとカキを検体とした。

ナシフグは、5月に精巢2検体、6月に精巢3検体及び11月(検体採取は5月、冷凍保存)に筋肉2検体、12月(検体採取は5月、冷凍保存)に筋肉2検体の計9検体の検体搬入があった。

麻痺性貝毒は、4月にアサリ4検体、12月にカキ 8検体の計12検体の検体搬入があった。

2 検査方法

ふぐ毒(ナシフグ精巢及び筋肉)の検査は、「フグの衛生確保について」(平成12年12月19日付生衛発第1821号)の別添「ナシフグによる食中毒防止対策要領」に基づき検査を実施した。

麻痺性貝毒(アサリ及びカキ)の検査は、「貝毒の検査法等について」(昭和55年7月1日環乳第30号厚生省環境衛生局乳肉衛生課長通知)の別添「麻痺性貝毒検査法」に基づき検査を実施した。

調査結果

2022年度の検体数は、ナシフグ9検体及び麻痺性貝毒12検体の計21検体で、いずれの検体からも規制値以上の毒力は検出されなかった(表1、表2)。

参 考 文 献

- 1) 梅原芳彦 他:長崎県衛生公害研究所報, 40, 141 - 142 (1994).
 2) 濱野敏一 他:長崎県衛生公害研究所報, 45, 119 - 120 (1999).
 3) 山崎省吾 他:長崎県衛生公害研究所報, 49, 111 - 112 (2003).

表1 ナシフグ精巢及び筋肉の毒性実験検査結果

番号	部位	採取日	海域	重量(g)	結果(MU/g)
R4F001	精巢	5月11日	有明海	19.86	ND
R4F002	精巢	5月11日	有明海	23.37	ND
R4F003	精巢	5月11日	有明海	11.34	ND
R4F004	精巢	5月26日	有明海	10.81	ND
R4F005	精巢	5月26日	有明海	13.67	ND
R4F006	筋肉	5月11日	有明海	157.33	ND
R4F007	筋肉	5月11日	有明海	116.82	ND
R4F008	筋肉	5月11日	有明海	126.61	ND
R4F009	筋肉	5月11日	有明海	92.17	ND

(備考) MU/g:体重20gのマウスを30分で死亡させる毒量

ND(Not Detection):検出せず、30分経過後もマウスが生存

表2 麻痺性貝毒の毒性実験検査結果

番号	検体	採取日	海域	重量(g)	結果(MU/g)
R4A001	アサリ(殻つき)	4月19日	有明海	2,000	ND
R4A002	アサリ(殻つき)	4月19日	有明海	2,000	ND
R4A003	アサリ(殻つき)	4月25日	有明海	2,000	ND
R4A004	アサリ(殻つき)	4月25日	有明海	2,000	ND
R4K001	カキ(むき身)	12月13日	西彼町地先	300	ND
R4K002	カキ(むき身)	12月12日	有明海(中央)	300	ND
R4K003	カキ(むき身)	1月11日	有明海(共同)	300	ND
R4K004	カキ(むき身)	12月13日	諫早湾	300	ND
R4K005	カキ(むき身)	12月12日	久賀湾	400.6	ND
R4K006	カキ(むき身)	12月12日	戸岐湾	408.8	ND
R4K007	カキ(むき身)	12月12日	宿ノ浦郷姥ヶ浦地先	400	ND
R4K008	カキ(むき身)	12月12日	壱岐市内海湾	100	ND

(備考) MU/g:体重20gのマウスを15分で死亡させる毒量

ND(Not Detection):検出せず、60分経過後もマウスが生存

長崎県における三類感染症の発生状況の概要(2022年度)

右田 雄二, 山口 結奈, 吉川 亮

Occurrence of Category III Infectious Diseases in Nagasaki (2022)

Yuji MIGITA, Yuina YAMAGUCHI and Akira YOSHIKAWA

キーワード: 腸管出血性大腸菌、MLVA法

Key words: EHEC, MLVA

はじめに

「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」により三類感染症に分類される。コレラ、細菌性赤痢、腸管出血性大腸菌(*Enterohemorrhagic Escherichia coli*, EHEC)感染症、腸チフスおよびパラチフスについては、感染源の究明と感染拡大防止のため、長崎県感染症発生動向調査事業に基づき、菌の検索および疫学調査を実施している。今回、2022年度に長崎県内で発生した三類感染症の発生状況および分離同定された菌株に対する分子疫学解析結果をまとめたので報告する。

調査方法

1 発生状況

2022年度に長崎県において医師の届出に基づき感染症サーベイランスシステムに報告された三類感染症について取りまとめた。

2 分子疫学解析

県立保健所管内および佐世保市保健所管内で発生した腸管出血性大腸菌感染症から分離同定されたEHECについては当センターにて血清型別、Vero毒素検査 [Polymerase Chain Reaction (PCR) 法、real-time PCR法もしくはReversed Passive Latex Agglutination (RPLA) 法] を実施、確認後、分子疫学解析のため国立感染症研究所(以下、感染研)に送付し、解析結果の還元を受けた。長崎市保健所管内分については長崎市保健環境試験所から還元情報の提供を受けた。

感染研では、2014年シーズンより EHEC O157、O26、およびO111について、2017年からはO103、O121、O145、O165およびO91の菌株について反復配列多型解析法 (Multiple-Locus Variable number tandem repeat Analysis, MLVA)¹⁾による解析を開始し

ている。これらの8血清型以外の菌株については、パルスフィールドゲル電気泳動 (Pulsed-Field Gel Electrophoresis, PFGE) 法によるRFLP解析を実施している。

結果および考察

1 発生状況

県内EHEC感染症は、長崎市保健所、佐世保市保健所および各県立保健所(西彼、県央、県南、県北、壱岐)において61名届出された。このうち57名の分離株を収集し解析した。腸チフス、パラチフスおよび赤痢患者の届出はなかった。

今年度のEHEC感染症の発生は、例年並みに夏季に多く冬季に少ない傾向であった(図1)。

年齢階級別にみると、9歳未満は3割(19名)、70歳以上は2割(12名)と低年齢層と高齢層の二峰性分布となった(図2)。無症状病原体保有者は2割弱(11名)と少なかった。

発生届を管轄保健所地域別にみると、長崎市が最も多く15事例15名、県北7事例13名、県南11事例12名、壱岐5事例10名、県央4事例4名、佐世保市3事例4名、西彼3事例3名であった。五島、上五島及び対馬においては発生がなかった。

分離株のO血清型別については、O157が31名、

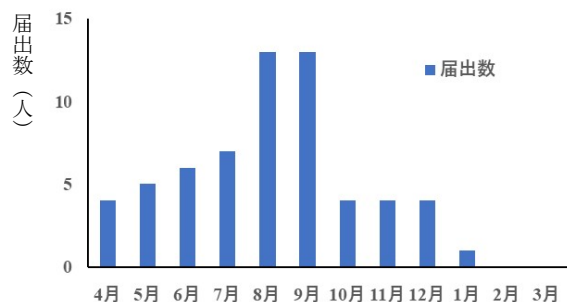


図1 EHEC月別届出件数

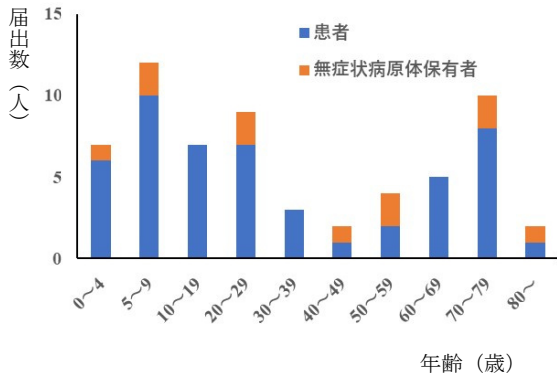


図2 EHEC年齢階級別届出件数

O111が10名、O26が10名、O103が3名、O8、O115及びOUTがそれぞれ1名であった(表1)。

今年度は大きな集団発生はなかった。感染者が複数の事例は保育園感染1事例(No.10)、家族感染8事例(No.13、14、15、16、20、21、22および30)で、この他はすべて1名の散发事例であった(表1)。

2 分子疫学解析

MLVA法ではリピート数が完全に一致すると「密接に関連あり」、相違する部位数が1部位であると「関連の可能性あり」と判断する²⁾。全国の分離株のMLVA解析結果と比較し、相違する部位数が1部位である株 (Single locus variant, SLV) 同士については、同じ遺伝子型として扱われ、MLVA型とあわせてMLVA complexとして表記される。

2022年度に県内で発生したEHEC45事例(57株)の疫学情報とMLVA型を示した(表1)。さらに本県の分離株が全国の自治体との間でMLVA (MLVA complex)型が一致(類似)した事例(40株)についてとりまとめた(表2)。

MLVA (22m2021、22c066および22c071)は県内分離株との間で、MLVA (22m3007、21c305p、22c012、22m0231、22m0272および22m0354)は県外分離株との間で、さらにMLVA (20m0073、22c021、22c302および22m0291)は県内外の分離株との間でMLVA型が一致(類似)したが、疫学的な関連性は不明であった。

県内でみると、MLVA型22m2021は2022年5~9月に発生した壱岐O26の2事例(No.20、22)で、MLVA型22c021は7~10月に発生した長崎市・県南のO157の4事例(No.7、35、37、45)で、さらにMLVA型22c066は7~12月に発生した県南のO157の3事例(No.1、9、10)で、同じ遺伝子型が長期にわたり確認された。一方、MLVA型22c071については9月に県南・県央・西彼・長崎市と広域的に発生したO157の7事例(No.3、4、26、28、29、42、43)で確認

された。このように地域内に共通の感染源が長期にわたり存在する可能性、EHECに汚染された食材等が流通により県内各地に拡散された可能性を疑うようなケースもみられた。

MLVA complex 22c010については、広域散发事例の可能性が示唆された。22c010は2022年1~12月に北部九州を中心に広がり、本県では2022年8月に生レバー喫食歴のある2名の患者(事例No.16)から確認された。この22c010は、2021年12月~2022年1月に県内飲食チェーン店の複数店舗で喫食歴のある7名の患者から検出されたMLVA complex 21c034³⁾と極めて類似しており、二つのcomplexを形成する主なMLVA型は21m0222と同じであった。浦川ら⁴⁾は他府県の感染状況も解析し、共通食品を喫食した可能性のあるMLVA 21c034/22c010による広域発生事例と報告している。

EHEC感染症は通常細菌性食中毒の潜伏期間は数時間から3日程度に対し、4~8日(最長14日)と長い。そのため感染から症状が出るまでに個人差があり、食中毒の探知は困難となっている。よって、保健所において感染症として取り扱う場合であっても食中毒を想定した患者情報の収集が必要であり、感染症部門と食品衛生部門のさらなる連携が必要と思われる。当所においては、2023年度からはO157、O26、O111、O103、O121、O145、O165およびO91については自らMLVA解析を実施し、解析結果を早期に還元できる体制を整備したところであり、今後も継続して、感染拡大の防止やEHEC感染症の感染経路の解明に寄与していきたい。

謝 辞

本調査を遂行するにあたり、情報を提供いただいた長崎市、長崎県立各保健所および長崎市保健環境試験所の担当者、並びに長崎県感染症対策室の担当者に深謝する。

参 考 文 献

- 1) Izumiya H, et al., Microbiol Immunol 54: 569-577, (2010).
- 2) Ishihara T, et al., IASR Vol.35:129-130, 2014
- 3) 右田 雄二 他: 長崎県環境保健研究センター所報 67, (2021) 資料 p.133-136
- 4) 浦川 美穂 他: 腸管出血性大腸菌感染症 O157 VT1&2におけるMLVA 21c034/22c010の広域事例の発生について, IASR Vol. 44: 11-13, 2023

表 1 長崎県において分離された腸管出血性大腸菌株(2022年度)

事例 No.	管轄 保健所	発生時期	発生規模	血清型	毒素型	菌株数	解析結果	
							MLVA型	(MLVA complex)
1		2022年7月	散発	O157:H7	VT1+2	1	22m0364	(22c066)
2		2022年8月	散発	O157:H7	VT2	1	22m0366	
3		2022年9月	散発	O157:H7	VT2	1	22m0368	(22c071)
4		2022年9月	散発	O157:H7	VT2	1	22m0368	(22c071)
5		2022年9月	散発	O157:H7	VT2	1	22m0291	
6	県南	2022年10月	散発	O157:H7	VT2	1	22m0291	
7		2022年10月	散発	O157:H7	VT1+2	1	20m0169	(22c021)
8		2022年11月	散発	O26:H11	VT1+2	1	22m2136	
9		2022年11月	散発	O157:H7	VT1+2	1	22m0537	(22c066)
10		2022年12月	散発(保育園)	O157:H7	VT1+2	2	22m0537	(22c066)
11		2023年1月	散発	O8:H49	VT1+2	1		
12		2022年6月	散発	O26:H11	VT1	1	22m2038	
13		2022年6月	散発(家族内)	O103:H2	VT1	2	22m4006	
14		2022年8月	散発(家族内)	O111:H-	VT1+2	2	22m3029	(22c302)
15	県北	2022年8月	散発(家族内)	O111:H-	VT1+2	4	22m3001	(22c302)
16		2022年8月	散発(家族内)	O157:H7	VT1+2	2	22m0350 21m0406	(22c010)
17		2022年9月	散発	O157:H-	VT1+2	1	22m0367	
18		2022年10月	散発	O26:H11	VT1	1	22m2115	
19		2022年5月	散発	O111:H-	VT1	1	22m3008	
20		2022年5月	散発(家族内)	O26:H11	VT1	2	22m2021	
21	杵岐	2022年6月	散発(家族内)	O157:H7	VT1+2	2	21m0315	(22c012)
22		2022年9月	散発(家族内)	O26:H11	VT1	3	22m2021	
23		2022年11月	散発	OUT:H16	VT1	1		
24		2022年4月	散発	O26:H11	VT1	1	22m2020	
25	県央	2022年8月	散発	O103:H2	VT1	1	22m4016	
26		2022年9月	散発	O157:H7	VT2	1	22m0368	(22c071)
27		2022年12月	散発	O26:H11	VT1	1	22m2137	
28	西彼	2022年9月	散発	O157:H-	VT2	1	22m0368	(22c071)
29		2022年9月	散発	O157:H7	VT2	1	22m0368	(22c071)
30		2022年4月	散発(家族内)	O111:H-	VT1	2	22m3007	
31	佐世保市	2022年7月	散発	O157:H-	VT1+2	1	22m0365	
32		2022年12月	散発	O157:H7	VT1+2	1	22m0538	
33		2022年5月	散発	O115:H10	VT1	1		
34		2022年5月	散発	O111:H-	VT1+2	1	22m3009	(21c305p)
35		2022年7月	散発	O157:H7	VT1+2	1	20m0169	(22c021)
36		2022年6月	散発	O157:H7	VT1+2	1	22m0229	
37		2022年7月	散発	O157:H7	VT1+2	1	20m0169	(22c021)
38		2022年7月	散発	O157:H-	VT1+2	1	20m0073	
39	長崎市	2022年7月	散発	O157:H-	VT1+2	1	20m0073	
40		2022年8月	散発	O157:H-	VT2	1	22m0231	
41		2022年8月	散発	O157:H-	VT1+2	1	22m0272	
42		2022年9月	散発	O157:H7	VT2	1	22m0575	(22c071)
43		2022年9月	散発	O157:H7	VT2	1	22m0368	(22c071)
44		2022年9月	散発	O157:H7	VT2	1	22m0354	
45		2022年10月	散発	O157:H7	VT1+2	1	20m0169	(22c021)

表2 長崎県EHEC感染事例とMLVA型が一致(類似)した事例(2022年度)

MLVA型 (MLVA complex)	長崎県分離株				血清型	毒素型	MLVA型が一致(類似)した自治体等
	事例No.	発生時期	保健所	菌株数			
22m3007	30	2022年4月	佐世保市	2	O111:H-	VT1	{2022年} 7月(広島県)
22m3009 (21c305p)	34	2022年5月	長崎市	1	O111:H-	VT1+2	{2021年} 10月(久留米市)、11月(長崎県) {2022年} 5月(福岡市)
22m2021	20	2022年5月	壱岐	2	O26:H11	VT1	
22m2021	22	2022年9月		3	O26:H11	VT1	
21m0315 (22c012)	21	2022年6月	壱岐	2	O157:H7	VT1+2	{2022年} 6月(福岡市)、7月(福岡市)、8月(福岡市)、9月(福岡市・北九州市)
20m0073	38	2022年7月	長崎市	1	O157:H-	VT1+2	{2022年} 7月(滋賀県)、10月(仙台市、山形県、宮城県)
	39	2022年7月		1	O157:H-	VT1+2	
20m0169	35	2022年7月	長崎市	1	O157:H7	VT1+2	{2022年} 3月(大阪府)、5月(奈良県、大阪府、大阪市)、6月(奈良県、大阪府、神戸市、大阪市、広島市)、7月(茨城県、奈良県、大分県、大阪府)、8月(奈良県、堺市、鹿児島県、京都府)、9月(千葉県、大阪府、福岡県)、10月(三重県、長崎県、横浜市)、11月(福岡市)
20m0169 (22c021)	37	2022年7月	長崎市	1	O157:H7	VT1+2	
20m0169	45	2022年10月	長崎市	1	O157:H7	VT1+2	
20m0169	7	2022年10月	県南	1	O157:H7	VT1+2	
22m0364	1	2022年7月		1	O157:H7	VT1+2	
22m0537 (22c066)	9	2022年11月	県南	1	O157:H7	VT1+2	
22m0537	10	2022年12月		2	O157:H7	VT1+2	
22m3029 (22c302)	14	2022年8月	県北	2	O111:H-	VT1+2	{2022年} 2月(北九州市)、8月(岐阜県・愛知県・福山市)
22m3001	15			4	O111:H-	VT1+2	
22m0231	40	2022年8月	長崎市	1	O157:H-	VT2	{2022年} 8月(東京都)
22m0272	41	2022年8月	長崎市	1	O157:H-	VT1+2	{2022年} 8月(福岡市、広島県、福岡県)、9月(広島市)、10月(大阪市)
22m0350 (22c010)	16	2022年8月	県北	2	O157:H7	VT1+2	{2022年} 1月(福岡市・長崎県・福岡県)、6月(北九州市・福岡市・佐賀県)、7月(北九州市)、8月(福岡市・千葉県・北九州市)、9月(福岡市・尼崎市)、10月(北九州市)、11月(山口県)、12月(福岡市)
21m0406							
22m0368	3		県南	1	O157:H7	VT2	
22m0368	4		県南	1	O157:H7	VT2	
22m0368	26		県央	1	O157:H7	VT2	
22m0368 (22c071)	28	2022年9月	西彼	1	O157:H7	VT2	
22m0368	29		西彼	1	O157:H7	VT2	
22m0575	42		長崎市	1	O157:H7	VT2	
22m0368	43		長崎市	1	O157:H7	VT2	
22m0354	44	2022年9月	長崎市	1	O157:H7	VT2	{2022年} 9月(福岡市)
22m0291	5	2022年9月	県南	1	O157:H7	VT2	{2022年} 7月(佐賀県)、8月(大分県)
22m0291	6	2022年10月		1	O157:H7	VT2	

長崎県環境保健研究センターにおける 新型コロナウイルス検査の概要 (2022年度)

松本 文昭, 高木 由美香, 中峯 文香, 井原 基, 右田 雄二, 蔡 国喜, 川野 みどり,
山口 結奈, 吉川 亮

Overview of Testing for SARS-CoV-2 in Nagasaki Prefectural Institute of Environment and Public Health (2022)

Fumiaki MATSUMOTO, Yumika TAKAKI, Fumika NAKAMINE, Motoki IHARA, Yuji MIGITA,
Guoxi CAI, Midori KAWANO, Yuina YAMAGUCHI, and Akira YOSHIKAWA

キーワード : SARS-CoV-2、新型コロナウイルス感染症、変異株、ゲノム解析
Key words : SARS-CoV-2, COVID-19, Variants, Whole genome analysis

はじめに

2019年12月に中国湖北省で発生したSARS-CoV-2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) による新型コロナウイルス感染症 (Coronavirus disease of 2019: COVID-19)は、その後、世界各地に広がり、世界的なパンデミックとなった。さらに、SARS-CoV-2が変異を繰り返した結果、感染・伝播性の増加や抗原性の変化が懸念される変異株 (Variants of Concern = VOC) が出現し、世界保健機関 (World Health Organization: WHO) を中心として世界的なサーベイランス体制が取られている¹⁾。我が国においても、国立感染症研究所がWHOの評価を参考にいくつかの変異株をVOCに位置付け、発生動向を監視してきたが、2023年4月21日現在、オミクロンをVOCに位置付けている²⁾。

COVID-19は、主に感染者 (無症状病原体保有者を含む) から咳やくしゃみ、会話などの際に排出されるウイルスを含んだ飛沫による感染や接触感染を通じて広がり、1~14日間の潜伏期間を経て、発熱や呼吸器症状、全身倦怠感等の症状を呈する。初期症状はインフルエンザや感冒と似ているため、発症初期にこれらの疾患と区別するのは困難であることから、抗原検査や遺伝子検査による検査診断が重要となる³⁾。

当センターでは既報⁴⁾のとおり2020年2月から行政検査対応を、2021年7月からゲノム解析を開始しており、ここでは、2022年4月以降の検査および解析結果について報告する。

材料および方法

1 調査期間

2022年4月1日から2023年3月31日とした。

2 供試検体

(1) 陽性者の接触者調査

長崎県内でCOVID-19患者発生に伴う積極的疫学調査の一環として行われた接触者調査において、保健所長が検査を必要とすると判断した者を調査対象とし、調査対象者から採取された鼻咽頭ぬぐい液等の上気道由来検体および唾液を検査材料とした。それらの検体は、医療機関や保健所において採取され、保健所職員により当センターに搬入された。そのようにして集められた延べ1,301検体を検査に供した。

(2) ゲノム解析

SARS-CoV-2の全塩基配列解析に基づく変異株の発生動向監視のため、次世代シーケンサー (Next Generation Sequencer: NGS) によるSARS-CoV-2のゲノム解析を行った。

解析に供する検体は、当センターで実施したreal time PCR検査でSARS-CoV-2遺伝子陽性かつゲノム解析に必要と考えられるRNA量 (real time PCRにおいてCt値27以下) が見込まれるものを選別した。すなわち、接触者調査等で得られた陽性検体167検体のうち95検体、ゲノム解析を目的として保健所から依頼された32検体のうち22検体、重症例・死亡例の発生に伴う解析を目

的として保健所から依頼された7検体のうち3検体、ならびに県内8か所の医療機関および2か所の民間検査機関からゲノムサーベイランスのために提供された1,593検体のうち1,327検体の延べ1,447検体をゲノム解析に供した。

3 方法

陽性者の接触者調査およびゲノム解析は既報⁴⁾に基づき検査と解析を行った。

結 果

1 陽性者の接触者調査

調査期間中に搬入された1,301検体のうち167検体からSARS-CoV-2の遺伝子が検出された。

2 ゲノム解析

ゲノム解析に供した1,447検体から1,244株のSARS-CoV-2ゲノムを決定した。Pangolin (ver.4.2)による系統分類の結果を図1および図2に示す。

分類の結果、オミクロン株のBA.1系統が26株、BA.2系統 (BA.2.75を含む) が290株、BA.4系統が2株、BA.5系統 (BQ.1系統を含む) が924株、XBB系統が2株であった。オミクロン株の経時的推移をみると本県では、2022年4月に流行の主流系統がBA.1からBA.2に置き換わり、続く夏場の流行においては、7月に主流系統がBA.2からBA.5系統に置き換わっていた。

調査期間中において最も多く検出されたBA.5系統の詳細な分類結果を図3に示す。

BA.5系統のうち、最も多く検出されたのは、BA.5.2系統およびBA.5.2.1系統から派生したBF系統の株であり、それらの株は、7月の流行以降解析株の半数以上を占めていた。

考 察

調査期間中における陽性者の接触者調査検体数は、2021年度の22,636検体から大幅に減少し1,301検体であった。これは、2022年3月17日に、政府のCOVID-19の基本的対処方針が変更され、これまで保健所により幅広く行われてきた積極的疫学調査が医療機関や高齢者施設等、特に重症化リスクが高い方々が入院・入所している施設における感染事例に集中化する方針⁵⁾が示されたことが影響していると考えられた。

我が国におけるCOVID-19の流行第6波以降、本

県においてもオミクロン株による大規模な流行が発生し、異なる系統のオミクロン株が流行してきた⁴⁾。ゲノム解析による系統分類の結果から、調査期間中に本県において最も多く検出されたのは、BA.5系統であった。また、オミクロン株の系統別の推移をみると全国と同様の傾向を示していた⁶⁾。

2023年5月8日からCOVID-19の感染症法上の位置付けが五類定点把握感染症に変更され、それに伴い、COVID-19に関する様々な対策が変更され、当センターにおける検査関連業務も平時のサーベイランス体制に移行している。

しかしながら、位置づけ変更後においても、新たなVOCの出現に注意することが必要であることから、引き続きゲノムサーベイランスを実施することが国から求められている⁷⁾。平時のサーベイランス体制におけるルーチンワークに加えて、変異株の動向把握のためのゲノム解析についても引き続き実施していく必要がある。

謝 辞

調査にご協力頂いた各医療機関の諸先生、検体の収集および搬入にご協力頂きました長崎市、佐世保市、県立各保健所並びに各振興局等の関係諸氏に深謝する。

参 考 文 献

- 1) World Health Organization: Tracking SARS-CoV-2 variants, <https://www.who.int/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants> (2023.7.3 Accessed)
- 2) 国立感染症研究所: SARS-CoV-2変異株について, <https://www.niid.go.jp/niid/ja/2019-ncov/2551-cepr/10745-cepr-topics.html> (2023.7.3 Accessed)
- 3) 令和4年度厚生労働行政推進調査事業費補助金 新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業 一類感染症の患者等の発生に備えた臨床的対応に関する研究班: 新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) の診療の手引き 第9.0版, p6
- 4) 長崎県環境保健研究センター所報 67, (2021) 報文, 長崎県環境保健研究センターにおける新型コロナウイルス検査の概要 (2021年度)
- 5) 内閣官房, 新型コロナウイルス感染症対策の基本的対処方針(令和4年3月17日変更)

- 6) 国立感染症研究所, 新型コロナウイルス ゲノムサーベイランスによる系統別検出状況 (2023年5月8日現在) ,https://www.niid.go.jp/niid/images/cepr/covid-19/20230510_genome_surveillance.pdf (2023.7.3 Accessed)
- 7) 厚生労働省, 令和新型コロナウイルス感染症の積極的疫学調査におけるゲノム解析及び変異株 PCR 検査について (要請) , (0205 健感発第4号 令和5年4月27日一部改正)

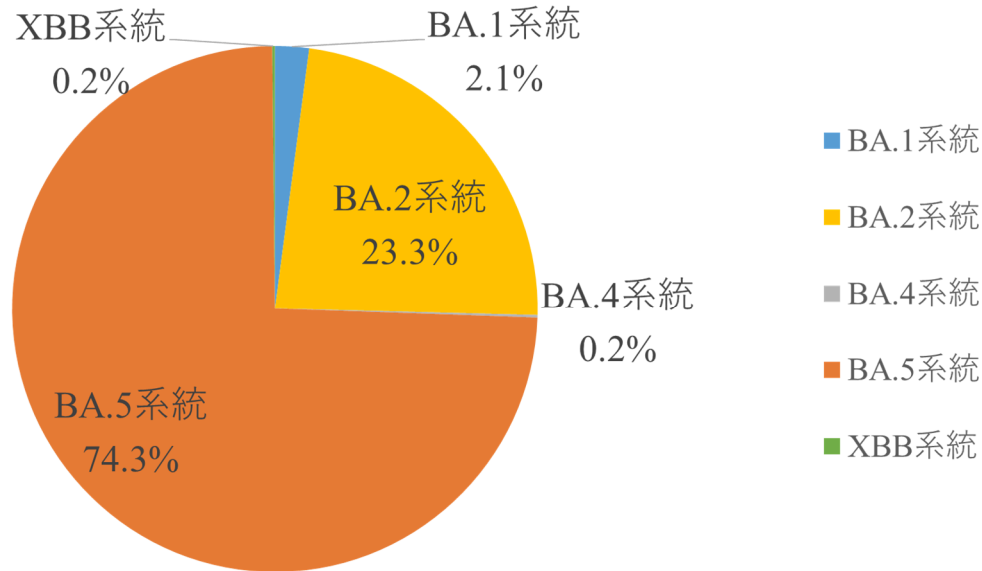


図1 解析株の系統分類結果

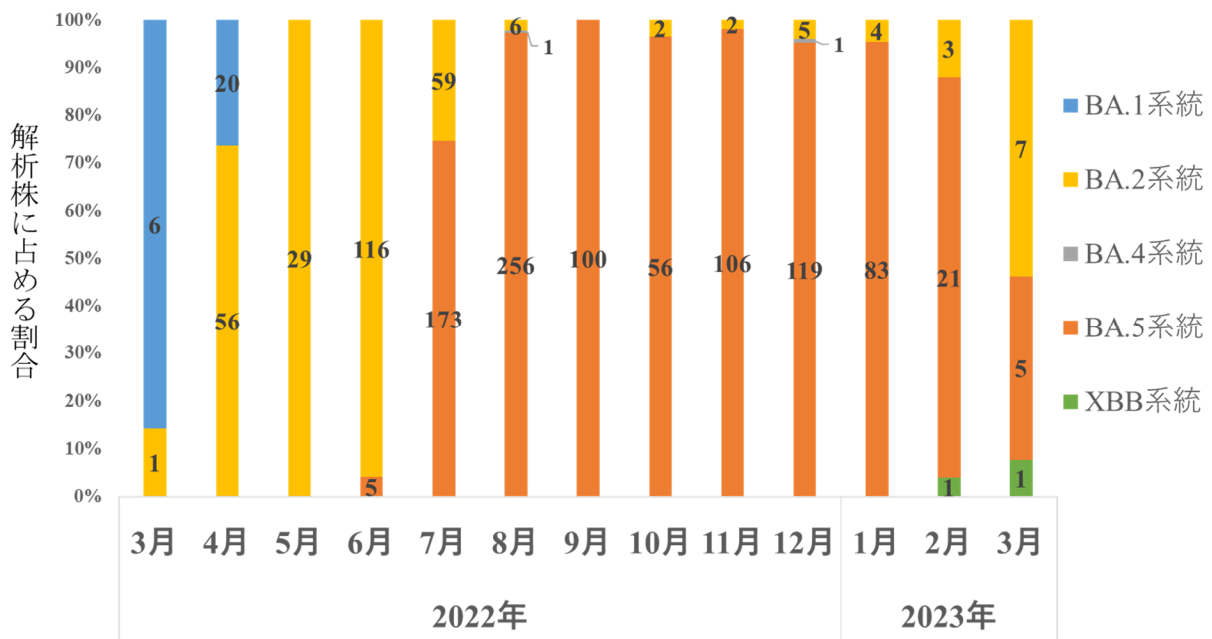


図2 各系統の月別検出結果

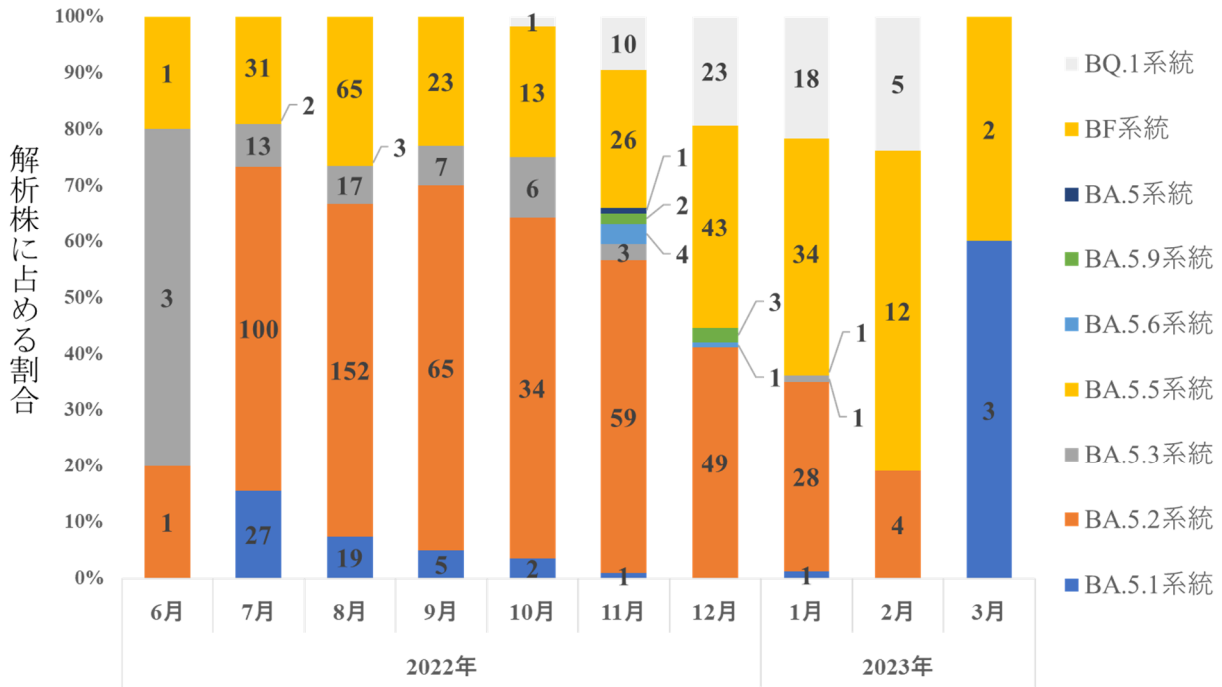


図3 令和4年度に長崎県で検出されたBA.5系統の月別検出状況 (n=924)

長崎県におけるロタウイルスの感染源調査 (2022年度)

高木 由美香, 中峯 文香, 井原 基, 松本 文昭, 吉川 亮

Surveillance report of Rotavirus infection in Nagasaki (2022)

Yumika TAKAKI, Fumika NAKAMINE, Motoki IHARA, Fumiaki MATSUMOTO
and Akira YOSHIKAWA

キーワード: ロタウイルス、パレコウイルス、アデノウイルス
Key words: Rotavirus, Human Parechovirus, Adenovirus

はじめに

ロタウイルスは、乳幼児の重症急性胃腸炎の主要な病原体で、下痢、嘔吐、発熱などの症状を引き起こす。通常1週間程度で回復するが、他のウイルス性胃腸炎に比べると重度の脱水症状を呈することが多く、けいれんや腎不全、肝機能障害、脳炎・脳症などの合併症を引き起こすことがある。ロタウイルスに対する治療薬はなく、対症療法のみであるが、重症化予防を目的として、2020年10月よりワクチンの定期接種が開始された。ワクチン導入にあたり、厚生労働省は、ワクチン効果の把握や流行監視を目的に、2021年度より感染症流行予測調査実施要領に基づき、ロタウイルスの感染源調査を開始した。初年度から参加している3府県に続き、本県も2022年度より本調査に協力することとした。

今回、2022年度の上記調査の概要および結果について報告する。

調査方法

1 検査材料

検査材料は、本調査の協力医療機関において、2022年6月～2023年3月に感染性胃腸炎と診断された15歳以下の患者から採取された便または直腸拭い液43検体を対象とした。また、患者情報は、協力医によって記入・提出された「ロタウイルス感染症感染源調査用 調査票」をもとに集計した。

2 検査方法

感染症流行予測調査事業検査術式に基づき、ロタウイルス、ノロウイルス(NoV)、サポウイルスのリアルタイムRT-PCRによる遺伝子検出を試みた。遺伝

子が検出された場合には、conventional RT-PCRおよびシーケンス解析による遺伝子型別を行った。また、当センター独自の検査項目として、エンテロウイルス、ヒトパレコウイルス、アデノウイルスの遺伝子検出を検査標準作業書に基づき実施した。

調査結果及び考察

2022年度に搬入された検体の検査結果を検体採取月別に図1に示す。43検体中19検体からウイルス遺伝子が検出されたが、本調査の目的であるロタウイルス遺伝子は検出されなかった。一方、検査術式の対象ウイルスであるノロウイルス遺伝子が1月に採取された3検体から検出され、ウイルス型別のためのウェブツール¹⁾により型別した結果、いずれもG4であった。

また、当センター独自に実施した検査項目について、アデノウイルス遺伝子が4検体、ヒトパレコウイルス遺伝子が12検体から検出された。アデノウイルスは、すべてアデノウイルス41型(Ad41)で、9月～12月に検出された。パレコウイルスは、7月にヒトパレコウイルス3型(HPeV3)が3検体、9月と3月にヒトパレコウイルス1型(HPeV1)が5検体から検出され、残る3検体は遺伝子量が少なく、型別できなかった(ヒトパレコウイルス型別不明:HPeV UT)。

以上の結果をみると、検体数は少ないながら、HPeV3は初夏、Ad41は秋～冬、NoVは冬と、ウイルスの検出に季節性が認められる傾向にあった。今後検体数を増やすことができれば、ウイルスの流行の把握にも有用であると考えられる。

また、ウイルス遺伝子が検出された検体の患者情

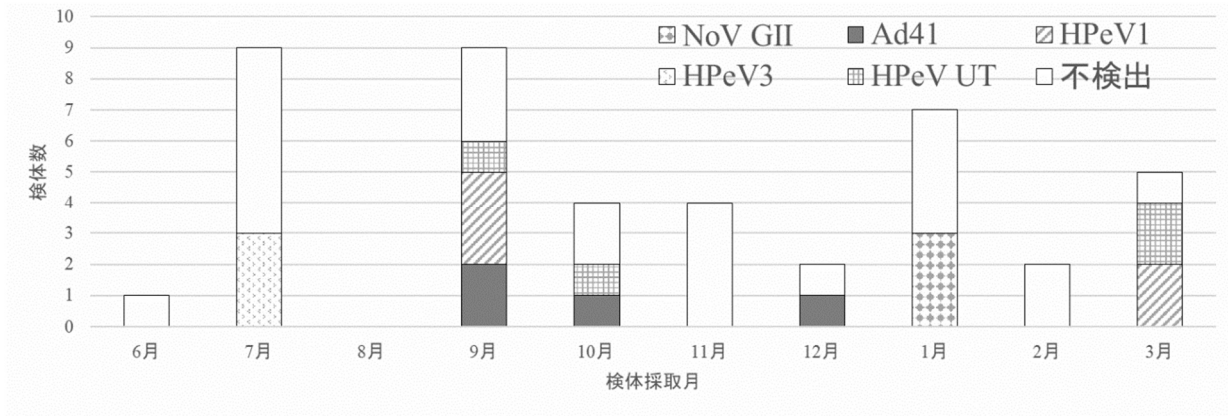


図1 検体採取月別ウイルス遺伝子検出結果 (n = 43)

表1 2022年度 ロタウイルス感染症 感染源調査用 調査票に基づく患者情報

検体番号	検体採取日	性別	年齢	流行状況	下痢 持続時間	下痢 最大回数	嘔吐	発熱	ワクチン 接種歴	検出ウイルス
R22004	2022/7/7	男	0歳8か月	あり	1~4日	1~3回	あり	なし	あり	HPeV3
R22009	2022/7/28	女	2歳7か月	あり(家庭)	6日以上	6回以上	なし	なし	なし	HPeV3
R22010	2022/7/28	女	1歳5か月	あり(家庭)	6日以上	6回以上	なし	なし	あり	HPeV3
R22013	2022/9/2	女	0歳7か月	なし	6日以上	6回以上	なし	なし	あり	HPeV1
R22014	2022/9/2	女	0歳7か月	なし	6日以上	6回以上	なし	なし	あり	HPeV1
R22015	2022/9/9	女	1歳9か月	あり(保育所)	1~4日	6回以上	あり	なし	あり	Ad41
R22019	2022/9/13	女	1歳2か月	不明	1~4日	1~3回	あり	なし	あり	Ad41
R22020	2022/9/15	男	4歳10か月	なし	1~4日	1~3回	なし	なし	あり	HPeV UT
R22021	2022/9/20	男	0歳7か月	なし	6日以上	6回以上	なし	なし	あり	HPeV1
R22024	2022/10/7	男	1歳5か月	あり(保育所)	1~4日	1~3回	なし	なし	あり	HPeV UT
R22025	2022/10/19	男	7歳3か月	あり(学校)	1~4日	4~5回	なし	あり	あり	Ad41
R22031	2022/12/20	女	1歳10か月	あり(保育所)	1~4日	4~5回	なし	なし	回数不明	Ad41
R22034	2023/1/15	男	1歳1か月	あり(家庭)	6日以上	4~5回	なし	なし	あり	NoV G
R22036	2023/1/17	男	2歳2か月	あり(保育所)	1~4日	4~5回	なし	なし	あり	NoV G
R22037	2023/1/19	女	1歳4か月	あり(保育所)	1~4日	1~3回	あり	あり	あり	NoV G
R22041	2023/3/6	女	0歳4か月	なし	6日以上	4~5回	なし	なし	あり	HPeV UT
R22043	2023/3/10	男	1歳5か月	あり	1~4日	4~5回	なし	なし	あり	HPeV1
R22044	2023/3/10	男	0歳5か月	あり	1~4日	4~5回	なし	なし	あり	HPeV1
R22045	2023/3/29	男	0歳9か月	なし	1~4日	1~3回	なし	あり	1回	HPeV UT

報を表1に示す。今後患者情報を蓄積し、検出ウイルスと症状などの関係について考察していきたい。

まとめ

2022年度よりロタウイルスの感染源調査を開始した。2022年度搬入された検体からロタウイルス遺伝子は検出されなかったが、ワクチン効果の把握や流行監視のためには本調査に継続して取り組んでいくことが重要である。また、ロタウイルスの検出だけではなく、その他のウイルスの検査を行うことにより、県内の感染性胃腸炎の原因となるウイルスの把握にも有用な調査であると考えられるため、今後も本調査を実施していきたい。

謝辞

検体採取および送付にご協力頂いた医療法人やなぎクリニック 理事長 柳 忠宏先生および院内スタッフならびに協力医療機関選定に尽力いただいた県央保健所 藤田 利枝所長および長崎県小児医会に深謝する。

参考文献

1) A Kroneman et.al.: An Automated Genotyping Tool for Enteroviruses and Noroviruses, J Clin Virol 2011 Jun;51(2):121-

農産物中の残留農薬の検査結果 (2022 年度)

松尾 広伸, 谷口 香織, 出口 雄也, 辻村 和也

Survey of Pesticide Residues in Agricultural Products (2022)

Hironobu MATSUO, Kaori TANIGUCHI, Yuya DEGUCHI,
and Kazunari TSUJIMURA

キーワード: 残留農薬、一斉分析、農産物

Key words: Pesticide residues, Simultaneous determination, Agricultural products

はじめに

食品衛生法では、農作物等の栽培や保存時に使用された農薬が残留した食品を摂取することにより、人の健康を損なうことがないよう、全ての農薬について残留基準が設定され、これを超えるような農作物は販売等が禁止されている。長崎県では、長崎県食品衛生監視指導計画に基づき、県内で流通する農産物中の残留農薬検査を実施している。本報では、2022 年度センターで実施した残留農薬検査結果を報告する。

調査方法

1 試料及び試薬

表 1 に示す 50 試料について検査を行った。なお、みかんについては果皮を除いたものを検査した。

農薬標準溶液は、関東化学製農薬混合標準溶液 48、54、58、63、70、77、78 及び 79 を使用した。試薬に関しては、超純水及びメタノールは関東化学製の LC/MS 用、試料の前処理に用いたアセトニトリル、アセトン、ヘキサン及びトルエンは関東化学製の残留農薬試験・PCB 試験用(5000 倍濃縮)、その他の試薬は残留農薬試験用又は特級を用いた。検体の前処理における精製には、スペルコ製 ENVI-Carb/LCNH2 (500 mg/500 mg、6 mL)を用いた。

2 検査対象農薬

検査対象農薬は、表 2 に示す 242 農薬の中から農産物の種類に応じ A~J のグループ分けをし、186~216 農薬を選択した。報告下限値はアセタミプリドのみ

0.05 ppm、他は全て 0.01 ppm とした。

3 装置

(1) ガスクロマトグラフタンデム質量分析法 (GC/MS/MS)

株式会社島津製作所製 GCMS-TQ8040 を使用した。

(2) 液体クロマトグラフタンデム質量分析法 (LC/MS/MS)

アジレントテクノロジー株式会社製 1290 Infinity LC/6460 を使用した。

4 分析方法

分析は、厚生労働省通知¹⁾「GC/MS による農薬等の一斉分析法(農産物)」及び「LC/MS による農薬等の一斉分析法 I(農産物)」に準じて行った。

検査結果

2022 年度残留農薬検査の結果、農薬を検出した農産物の一覧を表 3 に示す。全 50 試料のうち 12 試料から報告下限値以上の農薬が検出された。全ての試料が食品衛生法に基づく残留基準値以内であった。

参考文献

1) 食安発第 1129002 号 厚生労働省医薬食品局食品安全全部長通知“食品に残留する農薬、飼料添加物又は動物用医薬品の成分である物質の試験法について(一部改正).” (2015 年 11 月 29 日).

表 1 検査対象農産物

区分	検査項目 グループ	農作物名	検体数	区分	検査項目 グループ	農作物名	検体数	
県内産	A	かんしょ	2	県内産	F	びわ	1	
		だいこんの根	1		G	こまつな	1	
	B	うめ	2		H	アスパラガス	1	
		みかん ^{※1}	1		I	ばれいしょ	9	
	C	きゅうり	13		J	ニガウリ	2	
		トマト	1		J	なす	4	
	D	にんじん	5		県外産	A	かんしょ	1
	E	なつみかん	1			B	りんご	1
		あまなつ	1			H	レタス	1
		平戸夏香	1					

※1 一部の農薬については検査対象外とした(残留基準値が果皮を含むもの対象となったため)

表 2 検査対象農薬

No	項目名	機器	A 根菜 1	B 酸性 果実	C ナス 科ウ リ科 1	D 根菜 2	E 柑橘 類	F その 他果 実	G 緑黄 色 葉菜 花菜	H 淡色 葉菜 未成 熟豆 類	I 根菜 3	J ナス 科ウ リ科 2	他 グル ープ 外
1	1, 1-ジクロロ-2, 2-ビス(4-エチルフェニル)エタン	GC			○				○	○	○		
2	2-(1-ナフチル)アセタミド	GC			○				○	○	○		
3	EPN	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
4	XMC	GC			○	○		○	○	○	○	○	
5	アザコナゾール	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
6	アジンホスメチル	GC		○		○		○	○		○	○	
7	アセタミプリド	GC	○	○	○	○	○	○		○	○	○	
8	アセトクロール	GC	○	○	○	○	○	○			○	○	
9	アゾキシストロビン	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
10	アトラジン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
11	アニロホス	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
12	アメトリン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
13	アラクロール	GC	○	○	○	○	○		○	○	○	○	
14	イサゾホス	GC	○	○	○	○	○					○	
15	イソキサチオン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
16	イソキサチオンオキシソ	GC									○		
17	イソフェンホス	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
18	イソプロカルブ	GC	○	○	○				○	○		○	

No	項目名	機器	A 根菜 1	B 酸性 果実	C ナス 科ウ リ科 1	D 根菜 2	E 柑橘 類	F その 他果 実	G 緑黄 色 葉菜 花菜	H 淡色 葉菜 未成 熟豆 類	I 根菜 3	J ナス 科ウ リ科 2	他 グル ープ 外
19	イソプロチオラン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
20	イプロバリカルブ	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
21	イプロベンホス	GC	○	○	○	○	○		○	○	○		
22	イミダクロプリド	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
23	イミベンコナゾール	GC				○		○	○			○	
24	インダノファン	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
25	インドキサカルブ	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
26	ウニコナゾール-P	GC	○	○	○	○		○	○	○	○	○	
27	エスプロカルブ	GC	○	○	○	○	○				○	○	
28	エチオン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
29	エディフェンホス	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
30	エトキサゾール	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
31	エトフェンブロックス	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
32	エトフメセート	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
33	エポキシコナゾール	GC			○				○	○			
34	オキサジアゾン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
35	オキサジキシル	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
36	オキサジクロメホン	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
37	オキサミル	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
38	オキシカルボキシン	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
39	オキシフルオルフェン	GC	○	○	○	○		○	○	○	○	○	
40	カズサホス	GC		○	○	○						○	
41	カフェンストール	GC							○				
42	カルバリル	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
43	カルフェントラゾンエチル	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
44	カルプロバミド	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
45	キナルホス	GC	○	○	○	○		○	○	○	○	○	
46	キノキシフェン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
47	キノクラミン	GC	○	○	○	○	○	○				○	
48	クミルロン	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
49	クレソキシムメチル	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
50	クロキントセットメキシル	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
51	クロチアニジン	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
52	クロマゾン	GC	○	○	○	○	○					○	
53	クロマフェノジド	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
54	クロメブロップ	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
55	クロリダゾン	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

No	項目名	機器	A 根菜 1	B 酸性 果実	C ナス 科ウ リ科 1	D 根菜 2	E 柑橘 類	F その 他果 実	G 緑黄 色 葉菜 花菜	H 淡色 葉菜 未成 熟豆 類	I 根菜 3	J ナス 科ウ リ科 2	他 グル ープ 外
56	クロルタールジメチル	GC	○	○	○	○	○	○			○	○	
57	クロルピリホス	GC	○	○	○	○	○	○		○	○	○	
58	クロルピリホスメチル	GC		○	○	○	○					○	
59	クロルフェナビル	GC	○	○	○	○	○		○	○	○	○	
60	クロルフェンソン	GC			○					○	○		
61	クロルフェンビンホス	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
62	クロルプファム	GC		○		○		○	○	○	○	○	
63	クロルプロファム	GC	○	○	○	○	○					○	
64	クロルベンシド	GC			○								
65	クロロクスロン	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
66	クロルベンジレート	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
67	シアナジン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
68	シアノホス	GC		○	○							○	
69	ジウロン	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
70	ジエトフェンカルブ	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
71	ジクロシメット	GC	○	○	○	○	○			○	○	○	
72	ジクロトホス	GC			○				○	○	○		
73	ジクロフェンチオン	GC	○	○	○	○	○					○	
74	ジクロホップメチル	GC	○	○	○	○	○	○		○	○	○	
75	ジクロラン	GC	○	○	○	○	○			○		○	
76	シニドンエチル	GC							○	○	○		
77	シハロホップブチル	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
78	ジフェナミド	GC	○	○	○	○	○	○	○		○	○	
79	ジフェノコナゾール	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
80	シフルフェナミド	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
81	ジフルフェニカン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
82	シプロコナゾール	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
83	シプロジニル	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
84	シマジン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
85	シメコナゾール	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
86	ジメタメトリン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
87	ジメチピン	GC							○	○	○	○	
88	ジメチルビンホス	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
89	ジメテナミド	GC	○	○	○	○	○	○		○	○	○	
90	ジメトエート	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
91	ジメトモルフ	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
92	シメトリン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

No	項目名	機器	A 根菜 1	B 酸性 果実	C ナス 科ウ リ科 1	D 根菜 2	E 柑橘 類	F その 他果 実	G 緑黄 色 葉菜 花菜	H 淡色 葉菜 未成 熟豆 類	I 根菜 3	J ナス 科ウ リ科 2	他 グル ープ 外
93	ジメピペレート	GC	○	○	○	○	○	○		○	○	○	
94	シラフルオフェン	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
95	スピノサド	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
96	スピロキサミン	GC				○	○	○			○	○	
97	スピロジクロフェン	GC		○	○	○		○	○	○	○	○	
98	ターバシル	GC	○	○	○	○		○	○	○	○	○	
99	ダイアジノン	GC	○	○	○	○						○	
100	チアクロプリド	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
101	チアベンダゾール	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
102	チアトキサム	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
103	チオジカルブ及びメソミル	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
104	チオベンカルブ	GC	○	○	○	○	○			○	○	○	
105	チフルザミド	GC	○	○	○	○		○	○	○	○	○	
106	テトラクロルピホス	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
107	テトラコナゾール	GC			○				○	○	○		
108	テトラジホン	GC	○	○	○	○	○	○		○	○	○	
109	テニルクロール	GC	○	○	○	○	○	○		○	○	○	
110	テブコナゾール	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
111	テブチウロン	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
112	テブフェノジド	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
113	テブフェンピラド	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
114	テフルトリン	GC	○	○	○	○			○	○	○	○	
115	テルプトリン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
116	トリアジメノール	GC	○	○		○	○				○		
117	トリアジメホン	GC	○	○	○	○			○	○	○	○	
118	トリアゾホス	GC	○	○	○	○		○			○	○	
119	トリアレート	GC			○								
120	トリシクラゾール	GC	○	○	○	○	○	○			○	○	
121	トリチコナゾール	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
122	トリデモルフ	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
123	トリブホス	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
124	トリフルラリン	GC			○								
125	トリフロキシストロピン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
126	トルクロホスメチル	GC		○	○	○	○				○	○	
127	トルフェンピラド	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
128	ナプロバミド	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
129	ニトロタールイソプロピル	GC	○	○	○	○				○	○	○	

No	項目名	機器	A 根菜 1	B 酸性 果実	C ナス 科ウ リ科 1	D 根菜 2	E 柑橘 類	F その 他果 実	G 緑黄 色 葉菜 花菜	H 淡色 葉菜 未成 熟豆 類	I 根菜 3	J ナス 科ウ リ科 2	他 グル ープ 外
130	ノルフルラゾン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
131	バクロブトラゾール	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
132	パラチオン	GC	○	○	○	○			○	○	○	○	
133	パラチオンメチル	GC	○	○	○	○	○	○		○	○	○	
134	ハルフェンプロックス	GC		○	○	○	○	○	○	○	○	○	
135	ピコリナフェン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
136	ピテルタノール	GC	○	○	○	○			○	○	○		
137	ビフェノックス	GC	○	○		○			○	○		○	
138	ビフェントリン	GC		○	○	○	○	○	○	○	○	○	
139	ビペロニルプトキシド	GC			○				○	○	○		
140	ビペロホス	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
141	ビラクロストロピン	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
142	ビラクロホス	GC				○		○	○	○	○	○	
143	ビラゾホス	GC	○	○	○	○		○	○	○	○	○	
144	ビラフルフェンエチル	GC	○	○		○	○	○	○	○	○		
145	ビリダフェンチオン	GC	○	○	○	○		○	○	○	○	○	
146	ビリダベン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
147	ビリフェノックス	GC	○		○		○	○		○	○		
148	ビリブチカルブ	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
149	ビリブプロキシフェン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
150	ビリミカーブ	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
151	ビリミノバックメチル	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
152	ビリミホスメチル	GC	○	○	○	○	○	○		○	○	○	
153	ビリメタニル	GC	○	○	○	○	○	○		○	○	○	
154	ピロキロン	GC	○	○	○	○	○	○				○	
155	ピンクロゾリン	GC	○	○	○	○	○	○		○	○	○	
156	フィプロニル	GC				○	○	○	○		○	○	
157	フェナミホス	GC				○	○	○					
158	フェナリモル	GC	○	○	○	○	○	○		○	○	○	
159	フェニトロチオン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
160	フェノキサニル	GC	○	○	○	○		○	○	○	○	○	
161	フェノキシカルブ	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
162	フェノチオカルブ	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
163	フェノブカルブ	GC	○	○		○	○		○	○	○	○	
164	フェンアミドン	GC		○		○	○	○	○			○	
165	フェンクロルホス	GC			○								
166	フェンスルホチオン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

No	項目名	機器	A 根菜 1	B 酸性 果実	C ナス 科ウ リ科 1	D 根菜 2	E 柑橘 類	F その 他果 実	G 緑黄 色 葉菜 花菜	H 淡色 葉菜 未成 熟豆 類	I 根菜 3	J ナス 科ウ リ科 2	他 グル ープ 外
167	フェンチオン	GC	○	○	○	○	○	○					
168	フェントエート	GC	○	○	○	○		○		○	○	○	
169	フェンビロキシメート	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
170	フェンブコナゾール	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
171	フェンプロバトリン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
172	フェンプロピモルフ	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
173	フサライド	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
174	ブタクロール	GC	○	○	○	○		○	○	○	○	○	
175	ブタフェナシル	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
176	ブタミホス	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
177	ブピリメート	GC	○	○	○	○	○	○			○	○	
178	ブプロフェジン	GC	○	○	○	○	○	○		○	○	○	
179	フラムプロップメチル	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
180	フラメトビル	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
181	フルアクリピリム	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
182	フルジオキソニル	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
183	フルシラゾール	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
184	フルチアセットメチル	GC							○				
185	フルトラニル	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
186	フルトリアホール	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
187	フルフェノクスロン	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
188	フルフェンピルエチル	GC							○		○		
189	フルミオキサジン	GC	○	○		○	○	○	○	○	○	○	
190	フルミクロラックペンチル	GC				○		○	○	○		○	
191	フルリドン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
192	ブレチラクロール	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
193	プロシミドン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
194	プロチオホス	GC	○	○	○	○	○	○		○	○	○	
195	プロバキサゾップ	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
196	プロパジン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○		
197	プロパニル	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
198	プロバホス	GC			○								
199	プロパルギット	GC	○	○							○		
200	プロピコナゾール	GC	○	○	○	○		○		○	○	○	
201	プロピザミド	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
202	プロヒドロジャスモン	GC	○			○						○	
203	プロフェノホス	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

No	項目名	機器	A 根菜 1	B 酸性 果実	C ナス 科ウ リ科 1	D 根菜 2	E 柑橘 類	F その 他果 実	G 緑黄 色 葉菜 花菜	H 淡色 葉菜 未成 熟豆 類	I 根菜 3	J ナス 科ウ リ科 2	他 グル ープ 外
204	プロポキスル	GC				○			○	○	○	○	
205	プロマシル	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
206	プロトリン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
207	プロモブチド	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
208	プロモプロピレート	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
209	プロモホス	GC	○	○	○	○	○	○		○	○	○	
210	プロモホスエチル	GC			○					○	○		
211	ヘキサコナゾール	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
212	ヘキサジノン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
213	ヘキシチアゾクス	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
214	ベナラキシル	GC		○	○				○		○	○	
215	ベノキサコール	GC	○	○	○	○	○				○	○	
216	ベルメリン	GC	○	○	○	○	○	○	○		○	○	
217	ペンコナゾール	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
218	ベンシクロン	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
219	ベンダイオカルブ	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
220	ペンディメタリン	GC	○	○	○	○	○	○		○	○	○	
221	ベシフレセート	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
222	ホサロン	GC							○				
223	ボスカリド	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
224	ホスチアゼート	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
225	ホスファミドン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
226	ホレート	GC		○									
227	マラチオン	GC	○	○					○	○			
228	ミクロブタニル	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
229	メカルバム	GC			○				○	○	○		
230	メタベンズチアズロン	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
231	メタラキシル	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
232	メチダチオン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
233	メキシクロール	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
234	メキシフェノジド	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
235	メミノストロビン	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
236	メラクロール	GC	○	○	○	○	○	○		○	○	○	
237	メフェナセット	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
238	メフェンピルビエチル	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
239	メプロニル	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
240	ラクトフェン	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○

No	項目名	機器	A 根菜 1	B 酸性 果実	C ナス 科ウ リ科 1	D 根菜 2	E 柑橘 類	F その 他果 実	G 緑黄 色 葉菜 花菜	H 淡色 葉菜 未成 熟豆 類	I 根菜 3	J ナス 科ウ リ科 2	他 グル ープ 外
241	リニュロン	LC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
242	レナシル	GC	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
検査項目数			201	211	216	214	186	193	185	201	213	212	134

表3 残留農薬検査結果

グループ	農産物名	検出数/検体数	区分	検出農薬	検出値 ^{※1} ppm	分析値 ^{※2} ppm	基準値 ppm
A	かんしょ	1/3	県内産	アラクロール	0.01	0.01	0.02
B	りんご	1/1	県外産	アセタミプリド	0.01	0	2
				スピロジクロフェン	0.04	0	2
				ボスカリド	0.02	0	2
C	きゅうり	4/13	県内産	ボスカリド	0.02	0	5
			県内産	イミダクロプリド	0.01	0	1
			県内産	クロルフェナピル	0.02	0.0	0.5
			県内産	メタラキシル	0.01	0	1
C	トマト	1/1	県内産	イミダクロプリド	0.01	0	1
			県内産	チアクロプリド	0.03	0	1
E	平戸夏香	1/1	県内産	シラフルオフェン	0.18	0	3
G	こまつな	1/1	県内産	クロチアニジン	0.01	0	20
				チアメキサム	0.01	0	5
				フルフェノクスロン	0.13	0	10
H	レタス	1/1	県外産	ボスカリド	0.01	0	30
			県内産	クロチアニジン	0.01	0	20
J	なす	2/4	県内産	フェニトロチオン	0.24	0	5
				フェンプロパトリン	0.11	0	1

※2 報告下限値 0.01 ppm の桁数に合わせた値を検出値とする

※3 告示に定める食品に残留する農薬等の成分である物質の量の限度(基準値)の桁数に合わせた値を分析値とする

県内流通食品の成分規格基準および食品添加物の使用基準に関する 検査結果(2022年度)

出口 雄也, 山口 恵里果, 山口 結奈, 右田 雄二, 吉川 亮, 辻村 和也

Survey Report in Commercially Available Food on Ingredient Standards of Food and Criteria for the Use of Food Additives (2022)

Yuya DEGUCHI, Erika YAMAGUCHI, Yuina YAMAGUCHI, Yuji MIGITA,
and Kazunari TSUJIMURA

キーワード: 食品添加物, ソルビン酸, 亜硝酸根, 大腸菌群, 酸価, 過酸化値, 魚肉ねり製品, 揚げ麺, 食肉製品

Key words: food additive, sorbic acid, nitrite, coliform bacteria, acid value, peroxide value, fish paste products, fried noodles, meat products

はじめに

2022年度長崎県食品衛生監視指導計画に基づいた食品一斉収去検査として、理化学検査と細菌検査を実施した。

対象食品および検査項目は、魚肉ねり製品について添加物使用基準(ソルビン酸)および成分規格基準(大腸菌群)、加熱食肉製品について成分規格基準(亜硝酸根および大腸菌群などの細菌検査)、即席めん類について成分規格基準(酸価及び過酸化値)である。

これらの検査結果について報告する。

調査方法

1 魚肉ねり製品の理化学検査及び細菌検査

魚肉ねり製品を対象に、保存料(ソルビン酸)定量検査および大腸菌群検査を実施し、それぞれ添加物使用基準および成分規格基準に適合しているかを確認した。

試料は、県内に流通する魚肉ねり製品のうち、県内製造品を中心に計20検体(ソルビン酸使用表示あり:13検体、なし:7検体)とした。

(1) 保存料(ソルビン酸)定量検査

(a) 試薬

ソルビン酸標準品は、関東化学株式会社製のものを使用した。試薬に関しては、メタノールは関東化学株式会社製のLC/MS用を使用し、その他の

試薬は特級品以上のものを使用した。

(b) 検査方法

食品中のソルビン酸について、均質化試料を水蒸気蒸留装置(宮本理研工業株式会社製 型式:STC-5D)を用いて蒸留することにより、試験溶液を得た。これを高速液体クロマトグラフ装置(アジレント・テクノロジー株式会社製 型式:Agilent 1260 Infinity LC)を用いて、絶対検量線法により定量した。装置の測定条件を表1に示した^{1), 2)}。

表1 高速液体クロマトグラフ装置条件

カラム	Inertsil ODS-3V, 4.6 mmID × 150 mm (ジエールサイエンス社製)
ガードカラム	Inertsil ODS-3, 4.6 mmID × 150 mm (ジエールサイエンス社製)
移動相	メタノール-水-0.2 mol/L リン酸緩衝液 (pH 4.0) (36:59:5)
流速	1.0 mL/min
カラム温度	40°C
測定波長	230 nm

(2) 大腸菌群検査

(a) 試薬

試薬に関しては、ペプトンはサーモフィッシャーサイエンティフィック株式会社製、菌の培養には日水製薬株式会社製のBGLB培地、EMB培地、乳糖ブイヨン培地を使用し、その他の試薬は特級品以上のものを使用した。

(b) 検査方法

検体を細切して滅菌ペプトン加生理食塩水を加えた 10 倍希釈液を倍濃度 BGLB 発酵管に接種し、35°C 48 時間培養後にガス発生の有無を確認した。ガス発生を認めた場合には確定試験として EMB 培地、完全試験として乳糖ブイヨン発酵管を用いて追加で培養を実施し、完全試験でガスの発生を認めるものを「大腸菌群陽性」と判定した^{3), 4)}。

2 加熱食肉製品の理化学検査および細菌検査

加熱食肉製品を対象に、発色剤(亜硝酸根)定量検査および細菌検査(包装後加熱食肉製品について大腸菌群およびクロストリジウム属菌、加熱後包装食肉製品について *Escherichia coli* (*E.coli*)、黄色ブドウ球菌およびサルモネラ属菌)を実施し、それぞれの成分規格基準に適合しているかを確認した。

試料は、県内に流通する加熱食品製品のうち、県内製造品を中心に包装後加熱食肉製品 5 検体および加熱後包装食肉製品 5 検体の計 10 検体(亜硝酸根使用表示あり:9 検体、なし:1 検体)とした。

(1) 発色剤(亜硝酸根)定量検査

(a) 試薬

標準品として、関東化学株式会社製の亜硝酸ナトリウムを使用した。試薬に関しては、特級品以上のものを使用した。

(b) 検査方法

検査は、食品中の亜硝酸ナトリウムについて、亜硝酸イオンとジアゾ化反応によって発色する赤紫色を分光光度計(日本分光株式会社 V-730)を用いて、波長 540 nm の吸光度を測定し、亜硝酸根として定量した^{3), 5), 6)}。

(2) 細菌検査

(a) 試薬

使用した試薬に関して、表 2 に示した。表中にない試薬は特級品以上のものを使用した⁷⁾。

(b) 検査方法

大腸菌群

魚肉練り製品と同様に行った。

クロストリジウム属菌

検体を細切して滅菌ペプトン加生理食塩水を加えた 10 倍希釈液および、100 倍希釈液を作製し、各々を滅菌パウチに 10 mL ずつ接種し、クロストリジア測定用培地を加え溶封し 35°C 24 時間培養した。発育した培地上的の黒色集落の数と希釈倍数から検体 1 g あたりの菌数を求めた。^{3), 4), 8)}

E.coli

検体を細切して滅菌ペプトン加生理食塩水を加えた 10 倍希釈液を作製した。その後 EC

発酵管 5 本に接種し、44.5°C 24 時間培養後にガス発生の有無を確認した。ガス発生を認めた場合には確定試験として EMB 培地、完全試験として乳糖ブイヨン発酵管を用いて追加で培養を実施し、完全試験でガスの発生を認め、グラム染色でグラム陰性無芽胞桿菌の場合を「*E.coli* 陽性」と判定した^{3), 4)}。

黄色ブドウ球菌

検体を細切して滅菌緩衝ペプトン水を加えた 10 倍希釈液と 100 倍希釈液、1000 倍希釈液を作製し、各段階の希釈液を卵黄加マンニット食塩寒天培地で培養した。発育した疑わしい集落 2~5 個を TSA 培地で純培養し、グラム染色、コアグラゼ試験を実施した。グラム陽性球菌、コアグラゼ試験陽性のものを黄色ブドウ球菌と判定し、培地上的の集落数と希釈倍数から試料 1 g あたりの菌数を求めた^{3), 4), 8)}。

サルモネラ属菌

検体を細切して滅菌緩衝ペプトン水を加えた 10 倍希釈液を 37°C 22 時間培養後、ラバポートバシリアディス培地、テトラチオネート培地に接種し 42°C 22 時間増菌した。これを DHL 寒天培地、クロモアガーサルモネラに塗抹して培養し、菌を分離した。今回の試験でサルモネラ属菌を疑う集落は確認されなかった。疑わしい集落が観察された場合には、生化学性状試験を実施する。

生化学性状として TSI 寒天培地で高層部黄変・黒変・ガス産生(高層部における気泡または亀裂の発生)および斜面部が鮮やかに赤変したもののおよび、LIM 培地で培地全体が紫変(リジン陽性)、運動性陽性、インドール反応陰性を確認した菌を定型的なサルモネラ属菌と判断した。それらの菌株についてサルモネラ診断用血清で O 抗原の群別を決定した。また、非定型的なサルモネラ属菌が疑われる場合は、生化学性状試験を追加した^{3), 4), 8)}。

3 即席めん類の理化学検査

即席めん類を対象に、酸価油脂の試験として、酸価および過酸化値の測定を行い、成分規格基準に適合しているかを確認した。

試料は、県内に流通する即席めん類のうち、揚げ麺について県内製造品を中心に 14 検体とした。

(1) 試薬

県内に流通する試薬に関しては、ジエチルエーテルは関東化学株式会社製の油脂試験用、0.1 mol/L エタノール性水酸化カリウム溶液及び 0.01 mol/L チ

チオ硫酸ナトリウム溶液は富士フィルム和光純薬株式会社製の容量分析用、フェノールフタレイン溶液は関東化学株式会社製の滴定用指示薬、でんぷん(溶性)は関東化学株式会社製の鹿一級を使用した、その他の試薬は特級品以上のものを使用した。

(2) 検査方法

検査は、試料より石油エーテルで抽出した油脂を用いて行った。酸価は、抽出した油脂をエタノール・ジエチルエーテル混液に溶解後、1%フェノールフタレイン溶液を指示薬とし、0.1 mol/L エタノール性水酸化カリウム溶液で滴定することで求めた。過酸化物価は、抽出した油脂をイソオクタン・酢酸混液に溶解後、でんぷん溶液を添加し、0.01 mol/L チオ硫酸ナトリウム溶液で滴定することで求めた^{6), 9), 10)}。

規格基準および使用基準¹¹⁾

1 魚肉ねり製品

- (1) ソルビン酸使用基準: 2.0 g/kg 以下
(定量下限: 0.01 g/kg)
- (2) 大腸菌群の成分規格基準: 陰性であること

2 加熱食肉製品

- (1) 亜硝酸根規格基準: 0.070 g/kg 以下
(定量下限: 0.0002 g/kg)
- (2) 微生物の成分規格基準:
 - ・包装後加熱食肉製品
 - 大腸菌群: 陰性
 - クロストリジウム属菌: 1,000/g 以下
 - ・加熱後包装食肉製品
 - E.coli*: 陰性
 - 黄色ブドウ球菌: 1,000/g 以下
 - サルモネラ属菌: 陰性

3 即席めん類

即席めん類(めんを油脂で処理したものに限る)の成分規格基準は、含有油脂の酸価が3以下かつ過酸化物価が30以下である。

検査結果

1 魚肉ねり製品の理化学検査及び細菌検査

(1) 保存料(ソルビン酸)定量検査

原材料表示に保存料(ソルビン酸)の記載が無い7検体については、ソルビン酸の検出値が定量下限値未満であること、ソルビン酸の表示が有る13検体については使用基準の範囲内であることを確認した。また、すべての検体について使用表示との整合性を確認した。

(2) 大腸菌群検査

すべて陰性で、規格基準に適合していた。

2 加熱食肉製品の理化学検査および細菌検査

- (1) 発色剤(亜硝酸根)定量検査
すべて規格基準に適合していた。
- (2) 細菌検査
すべて規格基準に適合していた。

3 即席めん類の理化学検査

すべて規格基準に適合していた。

参考文献

- 1) 薬生食基発0628第1号 厚生労働省医薬・生活衛生局食品基準審査課長通知及び薬生食監発 0628第1号厚生労働省医薬・生活衛生局食品監視安全課長通知:「『食品中の食品添加物分析法』の改正について」, (2019年6月28日).
- 2) 日本食品衛生協会編: 食品衛生検査指針(食品添加物編) 追補 2020, 公益社団法人日本食品衛生協会, 東京(2020).
- 3) 厚生省生活衛生局長通知: 衛乳第54号「食品衛生法施行規則及び食品、添加物等の規格基準の一部改正について」(1993年3月17日).
- 4) 日本食品衛生協会編: 食品衛生検査指針(微生物編) 2018, 公益社団法人日本食品衛生協会, 東京(2018).
- 5) 日本食品衛生協会編: 食品衛生検査指針(食品添加物編) 2003, 公益社団法人日本食品衛生協会, 東京(2003).
- 6) 日本薬学会編: 衛生試験法・注解 2020, 金原出版株式会社, 東京(2020).
- 7) 厚生労働省医薬・生活衛生局生活衛生・食品安全部基準審査課 事務連絡:「食品、添加物の規格基準に定めるサルモネラ属菌および黄色ブドウ球菌の試験法にかかる留意事項について」, (2016年1月28日).
- 8) 食安発0729第4号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知:「食品、添加物等の規格基準に定めるサルモネラ属菌及び黄色ブドウ球菌の試験法の改正について」, (2015年7月29日).
- 9) 食安発0328第1号 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知:「食品、添加物等の規格基準の一部を改正する件について」, (2016年3月28日).
- 10) 日本食品衛生協会編: 食品衛生検査指針(理化学編), 公益社団法人日本食品衛生協会, 東京(2015).
- 11) 厚生省告示第370号: 食品、添加物等の規格基準, (1959年12月28日)

畜水産食品中の残留動物用医薬品の検査結果(2022年度)

松永 尚子, 松尾 広伸, 川野 みどり, 吉川 亮, 辻村 和也

Survey Report of Veterinary Drug Residues in Livestock Products and Sea foods (2022)

Naoko MATSUNAGA, Hironobu Matsuo, Midori KAWANO, Akira YOSHIKAWA
and Kazunari TSUJIMURA

キーワード: 畜水産食品、動物用医薬品、高速液体クロマトグラフ-タンデム質量分析装置(LC-MS/MS)

Key words: Livestock products and Sea foods, veterinary drug residues, liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS)

はじめに

2022年度厚生労働省畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査の一環として、県内産の畜水産食品(養殖魚介類、乳)中の抗生物質、合成抗菌剤、内寄生虫用剤の検査を行ったので報告する。

調査方法

1 試料及び試薬

検査に供した試料は、表1に示す。

標準品に関しては、富士フィルム和光純薬株式会社のもを使用した。

試薬に関しては、アセトニトリル及びメタノールは関東化学(株)製のLC/MS用を、ギ酸は富士フィルム和光純薬(株)製のLC/MS用を使用した。その他の試薬は、残留農薬用及び特級品以上のものを使用した。

2 検査項目及び残留基準

検査項目及び残留基準は、表2に示す。

3 検査方法

(1) 抗生物質の微生物学的検査

1994年7月1日付け衛乳第107号「畜水産食品中の残留抗生物質簡易検査法(改定)別添2」及び食品衛生検査指針(理化学編)、ペーパーディスク法(IDF standard)[関連法規:1951年12月27日付け厚生省令第52号「乳及び乳製品の成分規格等に関する省令」]に準じた。

(2) 抗生物質、合成抗菌剤及び内寄生虫用剤の理化学検査

厚生労働省通知試験法 HPLC による動物用医薬品等の一斉試験法(畜水産物)及び文献²⁾を参考に、分析法を検討し、「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」(2007年11月15日付け食安発第1115001号)³⁾及び「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について」(2010年12月24日付け食安発1224第1号)⁴⁾に従い、試験法妥当性を評価し⁵⁾、標準操作手順書を作成し、その方法を適用した。その概要を以下に示す。

当該前処理は、均質化検体から0.3%ギ酸メタノール/アセトニトリル(7/3)混液及び0.2M EDTA-2Na水溶液で対象成分を2回粉碎抽出し、さらに残渣にEDTA含有クエン酸緩衝液を加えて粉碎抽出を行った。それらの上清を合わせたものを定容後、0.22 µm フィルターでろ過し、試験溶液とした。分析装置は、高速液体クロマトグラフ-タンデム質量分析装置(LC-MS/MS)として、アジレントテクノロジー株式会社製 1290 Infinity LC/6460を使用した。

検査結果及び考察

養殖魚介類16検体、乳9検体の検査を行った。結果、抗生物質、合成抗菌剤、内寄生虫用剤について基準値を超える検体は無かった。

参 考 文 献

- 1) 厚生労働省ホームページ：畜水産食品の残留有害物質モニタリング検査結果.
- 2) 松本理世、他：LC/MS/MS を用いた畜水産物中動物用医薬品等の迅速一斉分析法の検討(第3報), 熊本県保健環境科学研究所報, 44, 28-37, (2014).
- 3) 食安発第 1115001 号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインについて」(2007年11月15日).
- 4) 食安発 1224 号第1号厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知：「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について」(2010年12月24日).
- 5) 松尾広伸, 辻村和也:LC-MS/MS を用いた畜水産物中動物用医薬品の迅速一斉分析法の検討, 長崎県環境保健研究センター所報, 66, 60-65, (2020).

表1 試 料

搬入機関	養殖魚介類		乳
	ぶり	まだい	
西彼保健所	1		1 8
県央保健所			
県南保健所	3	2	
県北保健所	3	2	
五島保健所	1	1	
上五島保健所		1	
対馬保健所	1		
壱岐保健所		1	
合 計	9	7	9

表2 検査項目及び残留基準 (単位: ppm)

検査項目	養殖魚介類		乳
	ぶり	まだい	
(抗生物質)			
テトラサイクリン類	0.2 ^{*1}	0.2 ^{*1}	0.1 ^{*2}
スピラマイシン類 ^{*3}	0.2	0.2	0.2 ^{*2}
ベンジルペニシリン (合成抗菌剤)			0.004
スルファメラジン	0.01	0.01	
スルファジミジン	0.01	0.01	0.025
スルファモノメキシン	0.1	0.1	
スルファジメキシン	0.1	0.1	
スルファキノキサリン	0.01	0.01	
オキソリン酸	0.06	0.06	
チアンフェニコール	0.02	0.02	
(内寄生虫用剤)			
チアベンダゾール類 ^{*4}			0.10

*1: 魚介類におけるオキシテトラサイクリンのみの値を記載。

検査においてテトラサイクリン、クルテトラサイクリンに、一律基準(0.01 ppm)を適用した。

*2: オキシテトラサイクリン、テトラサイクリン、クルテトラサイクリンの和

*3: スピラマイシン、ネオスピラマイシンの和

*4: チアベンダゾール、5-ヒドロキシチアベンダゾールの和

*5: 残留基準の設定されていないものは、一律基準を記載

繊維製品中のホルムアルデヒドの検査結果(2022年度)

山口 恵里果, 出口 雄也, 辻村 和也

Survey Report of Formaldehyde in Textile Goods (2022)

Erika YAMAGUCHI, Yuya DEGUCHI and Kazunari TSUJIMURA

キーワード: ホルムアルデヒド、繊維製品

Key words: formaldehyde, textile goods

はじめに

例年、「有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律」に基づき県内の各地域において販売されている衣料品等の検査を行なっている。2022年度は西彼地区において販売されている衣料品等に含まれるホルムアルデヒドの検査を実施したので報告する。

調査方法

1 検体及び試薬

24月以内の乳幼児用の衣料品 15 検体、24月を超えるもの 5 検体の検査を行なった(表 1)。

標準品として、ホルムアルデヒド標準液(関東化学株式会社製、水質分析用)を使用した。その他の試薬は特級品以上のものを使用した。

分光光度計は日本分光株式会社製 V-730 を用いた。

表 1 検体一覧

	検体数
24月以内のもの	15 検体
中衣	3
下着	2
よだれ掛け	2
くつした	2
手袋	3
寝衣	1
おしめ	1
おしめカバー	1
24月を超えるもの	5 検体
下着	3
くつした	2
合計	20 検体

2 分析方法

試験は、公定法¹⁾に規定する方法に準じて行なった。身体と接触する部分を細かく切り、24月以内のものは 2.50 g を正確に、それ以外のは約 1 g を精密に量りとり、精製水 100 mL を正確に加えて 40°C で 1 時間抽出を行なった。これをガラスろ過器 G2 によりろ過し、試験溶液とした。この試験溶液の波長 413 nm^{*1}におけるホルムアルデヒドによる吸光度^{*2} A-Ao を、分光光度計を用いて測定した。

*1: 事前に、ホルムアルデヒド 4.0 ppm 標準溶液のスペクトルを測定し、412~415 nm における吸収の極大波長が検出された 413 nm を測定波長として採用した。

*2: ホルムアルデヒドによる吸光度 A-Ao について、吸光度 A とは、試験溶液とアセチルアセトン試薬の反応により生じる吸光度であり、吸光度 Ao とは、吸光度 A の対照として、アセチルアセトン試薬の代わりに酢酸・酢酸アンモニウム緩衝液を用いた溶液の吸光度である。ホルムアルデヒドによる吸光度 A - Ao は、遊離ホルムアルデヒドとアセチルアセトンの反応生成物(3,5-ジアセチル-1,4-ジヒドロルチジン)による吸光度を表す。

検査結果

表 1 に示した全ての検体は基準値以下であり、ホルムアルデヒドは検出されなかった。

(家庭用品中のホルムアルデヒド基準値)

(1) 24月以内の乳幼児用のもの

A-Ao の値が 0.05 以下又は下式により計算する試料 1 g についてのホルムアルデヒド溶出量が 16 µg 以下でなければならない。

(2) 24 月を超えるもの

下式により計算する試料 1 g についてのホルムアルデヒド溶出量は 75 μg 以下でなければならない。

ホルムアルデヒド溶出量(μg)

= $C (\mu\text{g/ml}) \times (A - A_0) / A_s \times 100 \times 1 / \text{試料採取量(g)}$

C: ホルムアルデヒド標準液の濃度

A_s : ホルムアルデヒド標準液の吸光度

参 考 文 献

- 1) 薬生薬審発 0328 第 5 号:「家庭用品中の有害物質試験法について」.(2022 年 3 月 28 日).

健康食品中の強壯用無承認無許可医薬品の検査結果(2022年度)

松永 尚子, 松尾 広伸, 辻村 和也

Survey Report of Pharmaceuticals Illegally Added to Dietary Supplements for the Enhancement of Sexual Performance (2021)

Naoko Matsunaga, Hironobu MATSUO and Kazunari TSUJIMURA

キーワード: 無承認無許可医薬品, 強壯効果, 健康食品, LC-QTOF/MS

Key words: Illegal Pharmaceuticals, Enhancement of Sexual Performance, Dietary Supplements, LC-QTOF/MS

はじめに

近年、強壯効果を標榜している健康食品に無承認無許可医薬品が含まれている事例が相次いで報告されている¹⁾。このため、これら無承認無許可医薬品による健康被害を未然に防ぐため、2003年度より県内で販売されている「いわゆる健康食品」(以下、健康食品)の医薬品成分検査を実施している。2022年度の健康食品の強壯系成分の検査結果について報告する。

調査方法

1 検体

2022年度は、県内雑貨量販店で販売されている無承認無許可医薬品にあたる強壯系成分の混入の可能性がある物品5製品5検体(液剤2、カプセル1、錠剤2)を購入し検体とした。

2 検査対象物質

強壯用医薬品であるシルденаフィル、ホンデナフィル、タダラフィル、バルデナフィル、ヨヒンビン、リドカインの6種類をターゲット検査対象物質とした。

また、既知情報から整理した強壯系成分59成分をスクリーニング検査の対象物質とした。

3 試薬

シルденаフィル、ホンデナフィル、タダラフィル、バルデナフィル、ヨヒンビン、リドカイン標準品は10 mgをメタノールに溶解して10 mLとし、標準原液(1000 ppm)とした。さらに各標準原液をアセトニトリル-メタノール(1:1)で希釈して、混合標準溶液を調製した。

前処理及び標準溶液調製及び移動相に用いたアセトニトリルはLC/MS用を用いた。その他のメタノー

ルは関東化学株式会社製のLC/MS用、超純水及びギ酸は富士フィルム和光純薬株式会社製のLC/MS用を用いた。

4 分析装置及び条件

高速液体クロマトグラフ-四重極飛行時間型質量分析装置(LC-QTOF-MS)として、株式会社エーピー・サイエックス製ExionLC 2.0 + SCIEX X500R QTOFを使用した。分析カラムはウォーターズ株式会社製Waters UPLC HSS C₁₈(2.1 mm i.d. × 100 mm、粒子径1.8 μm)を用いた。カラム温度は45°Cとし、移動相には3 mM ギ酸アンモニウム溶液(pH 2.9)(A液)及び0.1%ギ酸-アセトニトリル(B液)を表1に示すグラジエント溶離条件で用いた。また、流速は0.35 mL/minとし、試料の注入量は2 μLとした。

表1 グラジエント溶離条件

Time, min	A液, %	B液, %
0 - 2.1	80	20
6.5	60	40
9.5 - 11.0	40	60
11.3 - 12.8	2	98
13.0	80	20
15.0	80	20

また、QTOF/MS分析は、Scan範囲:m/z:100-650、測定モードはIDA、Cone Energyを50 Vとした。また、Collision Energyは10 V、CE spreadは0 V、spray voltageは3000 V、温度を600°Cとした。Ion source gas 1および2、Curtain gas、CAD gasはそれぞれ60、60、30 psiとした。

ターゲット検査対象物質の名称、組成式及び精密質量数を表2に示す。

表2 ターゲット検査対象物質

物質名	組成式	精密質量数
シルデナフィル	C ₂₂ H ₃₀ N ₆ O ₄ S	474.2049
ホンデナフィル	C ₂₅ H ₃₄ N ₆ O ₃	466.2692
タダラフィル	C ₂₂ H ₁₉ N ₃ O ₄	389.1376
バルデナフィル	C ₂₃ H ₃₂ N ₆ O ₄ S	488.2206
ヨヒンビン	C ₂₁ H ₂₆ N ₂ O ₃	354.1943
リドカイン	C ₁₄ H ₂₂ N ₂ O	234.1732

5 分析検体の前処理

錠剤は乳鉢で粉末にした。カプセル剤は、内容物と皮膜に分け、皮膜ははさみで細かくし、内容物とともに粉砕した。液剤および錠剤検体は、約0.2gを採取し、カプセルは、全量を用い、アセトニトリル-メタノール(1:1)10mLを加えて1分間攪拌した後、10分間超音波抽出した。これらを3000rpmで5分間遠心分離した後、上清2mLを分取し、アセトニトリル-メタノール(1:1)で10mLに定容した。その溶液を0.2μm遠心式フィルターユニットでろ過し、試験溶液とした。

検査結果

今回調査した健康食品からは全ての検体においてターゲット検査対象物質は未検出だった(表3)。また、ターゲット検査対象物質以外の強壮系成分(59成分)についても精密質量数によるターゲットスクリーニング検査で含有が疑われる検体は無かった。また、ライブラリ検索によるノンターゲットスクリーニング検査においても含有が疑われる検体は無かった。

参考文献

- 厚生労働省医薬食品局監視指導課・麻薬対策課 報道発表資料:平成23年度無承認無許可医薬品等買上調査の結果について。(2012年6月22日).
- Waters Application Note:「UPLC/MS/MS for the Screening, Confirmation, and Quantification of Drugs Illegally Added to Herbal/Dietary Supplements for the Enhancement of Male Sexual Performance」, (2012).

表3 健康食品中強壮用無承認無許可医薬品検査結果(2022)

検査項目	強壮成分検出数/検体数	備考
ターゲット検査対象物質	シルデナフィル	0/5
	ホンデナフィル	0/5
	タダラフィル	0/5
	バルデナフィル	0/5
	ヨヒンビン	0/5
	リドカイン	0/5
スクリーニング対象物質	以外の既報強壮系成分	0/5

指定薬物の検査結果(2022 年度)

松尾 広伸, 松永 尚子, 辻村 和也

Survey Report of Designated Substances Controlled by the Pharmaceuticals and Medical Devices Act, for Luxury Goods (2022)

Hironobu MATSUO, Naoko MATSUNAGA and Kazunari TSUJIMURA

キーワード: 指定薬物, 医薬品医療機器等法, LC-QTOF/MS, GC-MS

Key words: Designated Substances, PMD Act, LC-QTOF/MS, GC-MS

はじめに

近年、危険ドラッグの乱用による事件事故が大きな社会問題となっている。危険ドラッグ中の成分は主に「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律(医薬品医療機器等法)」で指定薬物として規制される成分であり、その危険性は麻薬や覚醒剤をしのぐものもある。現在 2,300 成分を超える化学物質が指定薬物とされている。国は、包括指定制度導入、認定手続きの簡素化、単純所持禁止等の対応を行い、規制の強化及び迅速化に取り組んでいる。

長崎県でも 2014 年度より危険ドラッグ及びその含有が疑われる嗜好品等を買上し、指定薬物の混入検査を開始した。本年度は、指定薬物成分の混入の可能性があるリキッド、固形剤、クリームおよびジェルについて検査を実施した。その結果について報告する。

調査方法

1 検体

指定薬物成分の混入の可能性のある物品としてリキッド 4 製品、ジェル 3 製品およびクリーム 3 製品をインターネット通販で購入し、計 10 製品を検体とした。

2 前処理

検体 25 mg(クリーム製品にあっては 50 mg)をマイクロチューブに量り取り、メタノール 1 mL を加え、ボルテックス攪拌 30 秒及び 5 分間超音波照射(クリーム製品にあっては 60 °C で 5 分間加温後、50 °C で 10 分間超音波照射)による抽出後、0.2 μm 遠心式フィルターユニット(メルクミリポア)でろ過し、試験溶液とした。試験溶液は、必要に応じ適宜メタノールで希釈した。

3 分析装置

(1) ガスクロマトグラフ - 質量分析装置 (GC-MS)
アジレントテクノロジー株式会社製 7890A/5975C GC/MSD を使用した。

(2) 高速液体クロマトグラフ-四重極飛行時間型質量分析装置(LC-QTOF/MS-DAD)
株式会社エーピー・サイエックス製 ExionLC 2.0 / X500R QTOF を使用した。

4 分析条件

指定薬物の GC-MS 分析条件は、「指定薬物の分析法について」(2007 年 5 月 21 日付け薬食監麻発第 0521002 号監視指導・麻薬対策課通知)に準じて行った。また、LC-MS 分析条件は、平成 27 年度指定薬物分析研究会議の資料を参考にした。GC-MS 条件(表 1)及び LC-QTOF/MS-DAD 条件(表 2)に示す。

5 スクリーニング検査

GC-MS スキャン分析で取得したデータを対象に、AMDIS プログラム(NIST)を用い、Deconvolution 処理を行った。処理されたピークについて、当センターで作成した「指定薬物 GC-MS ライブラリー」、国衛研「違法ドラッグ閲覧データシステム」、「SWGDRUG Mass Spectral Library」及び「Cayman Spectral Library」を用い、各検体に含まれる指定薬物及び類似体のスクリーニングを行った。

LC-QTOF/MS スキャン分析では、取得したデータを対象に、当センターで作成した「指定薬物精密質量数データベース」、株式会社エーピー・サイエックス提供の「違法薬物ライブラリー」及び「法医学ライブラリー」を用い検索を行った。

表 1 GC-MS 分析条件

【条件 1】	【条件 2】(合成大麻ノイド用)
カラム: HP-1MS (30 m×0.25 mm i.d., 膜厚 0.25 μm, Agilent 製)	カラム: HP-1MS (30 m×0.25 mm i.d., 膜厚 0.25 μm, Agilent 製)
キャリアーガス: He, 0.7 mL/min	キャリアーガス: He, 1.1 mL/min
(リテンションタイムロッキング): MDPPP: 27.8 min)	(リテンションタイムロッキング): MDPPP: 4.96 min)
注入口温度: 200°C、スプリットス	注入口温度: 250°C、スプリットス
検出器温度: 280°C	検出器温度: 280°C
イオン化法: EI	イオン化法: EI
カラム温度: 80°C (1 min) -5°C/min-190°C (15 min) -10°C/min -310°C (10 min)	カラム温度: 200°C (1 min) -5°C/min-310°C (7 min)
スキャン: m/z: 40-550	スキャン: m/z: 40-550

表 2 LC-QTOF/MS-DAD 分析条件

【条件 1】	【条件 2】(合成大麻ノイド用)
カラム: ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1×100 mm, 1.8 μm, Waters 製)	カラム: ACQUITY UPLC HSS T3 (2.1×100 mm, 1.8 μm, Waters 製)
ガードカラム: Van Guard column (2.1 mm×5 mm, 1.8 μm, Waters 製)	ガードカラム: Van Guard column (2.1 mm×5 mm, 1.8 μm, Waters 製)
移動相 A: 0.1% ギ酸	移動相 A: 0.1% ギ酸
移動相 B: 0.1% ギ酸アセトニトリル	移動相 B: 0.1% ギ酸アセトニトリル
グラジエント条件: A(%)/B(%) = 95/5(0 min) -80/20(20 min) -20/80(30 min, 10 min hold)	グラジエント条件: A(%)/B(%) = 65/35(4 min fold) -35/65 to 25/75 (4-16 min)-10/90(16-17 min, 6 min hold)
流速: 0.3 mL/min	流速: 0.3 mL/min
カラム温度: 約 40°C	カラム温度: 約 40°C
イオン化法: ESI	イオン化法: ESI
DAD スキャン範囲: 210-450 nm	DAD スキャン範囲: 210-450 nm
MS スキャン: m/z 100-800	MS スキャン: m/z 100-1000

検査結果

2022 年度指定薬物の検査において、医薬品医療機器等法第 2 条第 15 項に規定する指定薬物を含有する製品は確認されなかった。

参考文献

- 1) 薬食監麻発 0521002 号 厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課長通知:「指定薬物の分析法について。」(2007 年 5 月 21 日)。

- 2) 野澤真里奈他; 違法ドラッグ試買検査の実施について (2011), *京都府保環研年報* 57, 56~63 (2012)
- 3) 高橋市長、他; 千葉県における違法ドラッグ試験検査について(平成 21 年度), *千葉県衛生研究所年報* 58, 51~54 (2009).
- 4) 武田章弘、他; 平成 23・24 年度の違法ドラッグ買上調査について, *大阪府立公衛研所報* 51, 23~27 (2013)
- 5) 内山菜穂子; 平成 27 年度指定薬物分析研究会議資料「危険ドラッグ製品の分析及び成分の同定について」(2015).

食品中のアレルゲン検査結果(2022年度)

松永 尚子, 松尾 広伸, 辻村 和也

Survey Report of Allergen in Food (2022)

Naoko MATSUNAGA, Hironobu MATSUO and Kazunari TSUJIMURA

キーワード: アレルゲン(特定原材料)、小麦、酵素免疫測定法

Key words: allergen, wheat, ELISA method

はじめに

アレルギー物質を含む食品について、特定のアレルギー体質を持つ方の健康危害の発生を防止する観点から、食物アレルギーを引き起こすことが明らかになった食品のうち、特に発症数、重篤度から勘案して表示する必要性の高い特定原材料を食品衛生法施行規則(昭和23年厚生省令第23号)別表第5の2に掲げ、これらを含む加工食品については、規則第5条に定めるところにより当該特定原材料の記載が2002年4月に本格的に施行された。また、特定原材料の検査法については2002年11月の厚生労働省通知により、定量検査法(ELISA法)および確認検査法(PCR法・ウエスタンブロット法)が定められた¹⁾。

当センターでは、2007年度から本格的にアレルゲンの検査を開始している。2022年度は、「小麦」の検査を行ったのでその結果を報告する。

調査方法

1 試料

県内に流通する加工食品のうち、「小麦」の使用、または混入が疑われるもので、使用原材料表示に「小麦」が記載されていない12検体とした(検体内訳:西彼保健所(3)・県南保健所(3)・県北保健所(3)・五島保健所(1)・杵岐保健所(1)・対馬保健所(1))。

2 試薬

1)定量検査法(ELISA法)

株式会社森永生化学研究所製モリナガ FASPEK エライザ 小麦および日本ハム株式会社中央研究所製 FASTKIT エライザ Ver. 小麦を使用した。

2)確認検査法(PCR法)

DNA抽出には、QIAGEN社製 DNeasy Plant mini

kitを使用した。植物DNA検出用プライマー対および小麦DNA検出用プライマー対はオリエンタル酵母工業株式会社製アレルゲンチェッカー「植物共通」、「小麦」を使用し、PCR緩衝液、dNTP、MgCl₂、TaqポリメラーゼはApplied Biosystems社製を使用した。電気泳動用時に用いる100bp DNA Ladder、Loading bufferはタカラバイオ社製、エチジウムブロマイドはInvitrogen社製、アガロース、TE緩衝液、TAE緩衝液は(株)日本ジーン製を使用した。

3 機器

フードカッター:レッチェ社製 GM200, 恒温振とう機:東京理科器機株式会社製 MMS-3011, 冷却遠心機:クボタ商事株式会社製 3740, マイクロプレートリーダー:バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社製 iMark, プレートウォッシャー:バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社製 ImunoWash 1575 を用いた。

4 検査方法

2014年3月26日消費表第36号消費者庁次長通知「アレルギー物質を含む食品の検査法について」の一部改正について²⁾に準じて検査を行った。

規格基準

特定原材料等由来のタンパク質含量が、10 μg/g未満でなければならない。

検査結果

2種類のELISA法による定量検査の結果、1検体から10 μg/gを超える小麦由来のタンパク質を検出した(表1)。そこでPCR法による確認検査を行ったところ、1検体から小麦に特異的な増幅遺伝子バンドを検出した(表1)。

今回の検査において、1 検体の表示違反(疑)製品の市場への流通が確認された。今後も表示違反食品の排除および表示適正化を行う目的で、県内に流通する食品中のアレルゲンの検査が必要と考えられる。

表 1. 小麦由来タンパク質が検出された検体の検査結果

検体	小麦表示	定量検査 (ELISA法)		確認検査 (PCR法)
		FASPEK	FASKIT	
菓子	なし	>20 µg/g	>20 µg/g	陽性

参 考 文 献

- 1) 第 0513003 号 厚生労働省通知食案基発:「アレルギー物質を含む食品の検査法について」,
- 2) 消食表第 36 号 消費者庁次長通知:「アレルギー物質を含む食品の検査法について」の一部改正について, (2014 年 3 月 26 日)

健康危機事案を想定した模擬訓練結果(2022年度)

山口 恵里果, 松永 尚子, 松尾 広伸, 出口 雄也, 谷口 香織, 辻村 和也

Results of Simulated Training for A Food Poisoning Outbreak Case (2022)

Erika YAMAGUCHI, Naoko MATSUNAGA, Hironobu MATSUO, Yuya DEGUCHI, Kaori TANIGUCHI and Kazunari TSUJIMURA

キーワード: 健康危機管理、食中毒、ジェルピン、ベラトラミン、TLC、LC-MS/MS

Key words: health crisis management, food poisoning, jervine, veratramine, TLC, LC-MS/MS

はじめに

近年の健康危機は、健康食品事件や残留農薬の含まれた食品の流通、生物毒など多様で高度な対応を要するものに変容してきている。このような健康危機事案に的確に対応するため、地方衛生研究所の位置づけについては「地域保健対策の推進に関する基本的な指針(1994年12月1日厚生省告示第374号)」の中で、「地方衛生研究所は、地域における健康危機管理の科学的・技術的中核となる機関として機能の充実強化を図ること、他地方衛生研究所等の関係機関と連携体制の構築を図ること」とされている。

こうした状況を踏まえて、地方衛生研究所全国協議会九州支部(以下、「九地研」という。)では、2006年2月に「九州ブロック地方衛生研究所広域連携マニュアル」を策定し、情報の共有、試験検査・技術研修の相互支援等広域連携を行い、地域保健総合推進事業の一環として九地研会員で毎年原因不明の健康危機事案を想定した毒性物質の定性・定量検査の模擬訓練を実施している。

当センター生活化学科でも本訓練に参加し、健康危機管理における理化学検査体制の強化を図っている。本報告では、2022年度の実施内容と当センターの結果について報告する。

実施方法

1 実施期間

2022年11月1日～11月17日

2 検体

事務局より送付された液体約40 g

3 実施体制

模擬訓練の進行調整役として訓練責任者を配置し、実施要領に従い演習を行った。

4 シナリオ概要

Aの家族およびAの職場の同僚(大人7名、子供3名)が、A宅にてホームパーティーを行った。調理はA宅のキッチンで行い、使用された食材は、職場の同僚BとCが海釣りで獲った白身魚、DとEが山登りに出掛けて採った山菜、AとFが自宅にストックしていた食材およびスーパーで購入したものである。提供された料理のうち、山菜を使用したグリーンスムージーを喫食した大人5名が、めまい、おう吐、下痢、手足のしびれなどの症状を呈し、医療機関を受診した。病院の医師が食中毒と判断し、保健所に通報したのち、保健所から当センター生活化学科に検査依頼がなされたという設定であった。また、原因物質のために必要と思われる情報については適宜質問し、追加情報を入手した。

5 原因物質の探索および特定

(1) 候補物質の選定

喫食状況、患者症状、発症時間などの健康被害の特徴から、原因物質候補を選定し、その試験法等について情報収集を行った。

表1 LC-MS/MS 分析条件

機器	アジレント・テクノロジー株式会社製 Agilent 1290 Infinity LC + 6460
LC条件	
分析カラム	ZORBAX Eclipse Plus C18, 3.5 μm, 2.1×150 mm(アジレント・テクノロジー株式 会社製)
移動相	A液:0.1% ギ酸 0.25 mMギ酸アンモニウ ム含有水溶液 B液: .1%ギ酸 0.25 mM ギ酸アンモニウム含有メタノール溶液 <グラジエント条件> B 10%(0-5 min) →B 90%(5-10 min) →B 90%(10-15 min) →B 10%(15-20 min)
カラム温度	40
流速	0.4 mL/min
注入量	3 μL
MS/MS条件	
イオン化法	Agilent Jet Stream-ESI (+)
測定モード	MRM
キャピラリー電圧	4000 V
イオン源温度	350
測定イオン	<ジェルピン> 426.2>109.1(定量イオン) 426.2>114.1(定性イオン) <ペラトラミン> 410.2>84.1(定量イオン) 410.2>295.2(定性イオン)

表2 TLC 分析条件

薄層板	HPTLC Silica gel 60 F ₂₅₄ 10 × 10 cm (メルク社)
展開溶媒	クロロホルム/メタノール(4/1/5, v/v/v)
滴下量	STD: 10 μL、サンプル: 図4参照
呈色	紫外線照射(254 nm)

(2) 定性分析

(1)で選定した物質の含有の確認、およびその他の原因となりうる物質の探索を目的として、高速液体クロマトグラフ - タンデム質量分析装置(LC-MS/MS)によるMS2スキャン分析およびMRM分析(表1)、薄

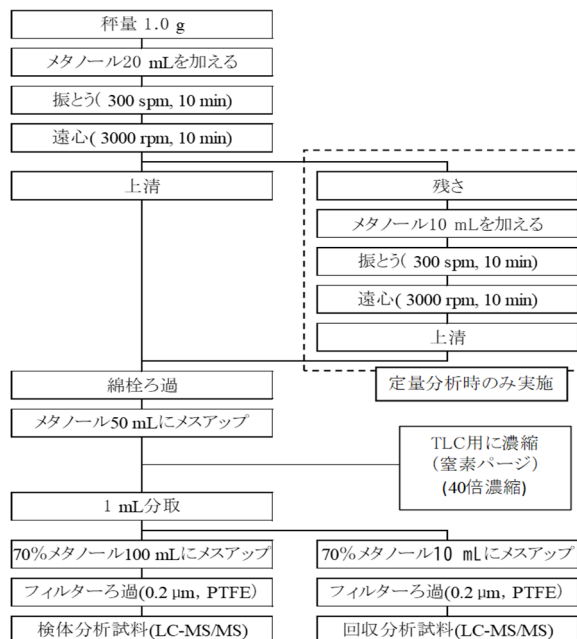


図1 分析試料の調製法

層クロマトグラフィー(TLC)(表2)を実施した。

LC-MS/MSによる分析は山口ら¹⁾、TLCは佐藤ら²⁾に準じて行った。分析試料の調製を図1に示す。候補物質の中で標準品を所有しているものについては、標準液の分析を同時に行った。

(3) 定量分析

(2)の定性分析で確認された物質について、LC-MS/MSを用いたMRM分析(試行回数n=3)を実施した。各分析試料の調製方法を図1に示す。また、分析条件は表1の条件で実施した。

(4) 毒性量の推定、検証

候補物質の毒性量について、定量分析の結果から算出した含有量と毒性に関する文献等の既報の情報と比較検討した。

6 模擬訓練事業結果検討会

模擬訓練後に結果検討会が事務局(福岡県保健環境研究所)にて開催され、他機関との結果比較や演習時の課題等情報の共有を行った。

結果と考察

1 原因物質の探索および特定

(1) 候補物質の選定

原因物質候補として、パイケイソウ類の有毒成分であるジェルピンおよびペラトラミン等のペラトルムアルカロイド、トリカプト類の有毒成分であるアコニチン

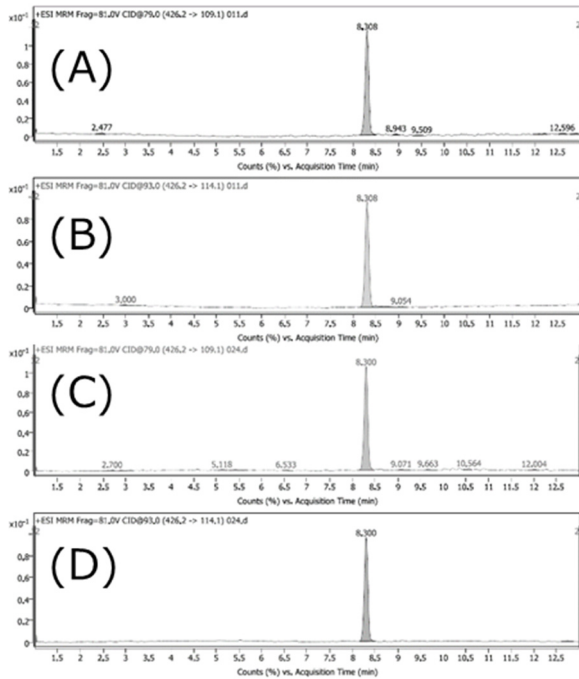


図2 ジェルピンのクロマトグラム
(A)標準液定量イオン (B)標準液確認イオン
(C)試験溶液定量イオン (D)試験溶液確認イオン

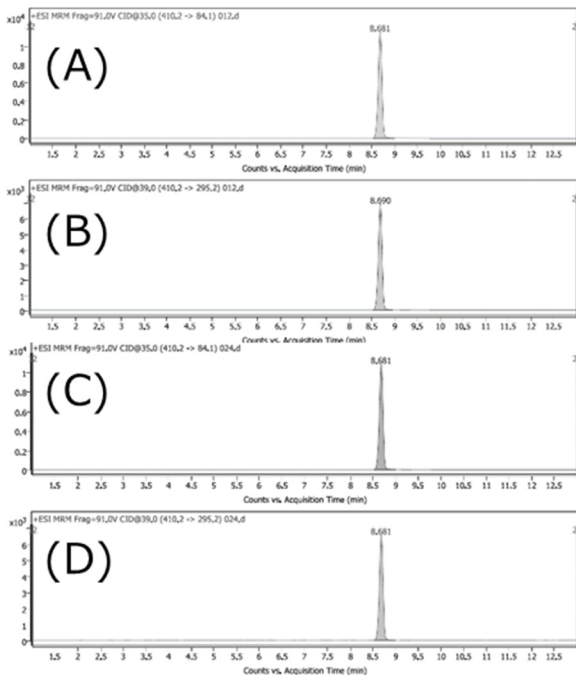


図3 ベラトラミンのクロマトグラム
(A)標準液定量イオン (B)標準液確認イオン
(C)試験溶液定量イオン (D)試験溶液確認イオン

に代表されるアコニチン系アルカロイド、福寿草の有毒成分であるシマリ、アドニキシンおよび野菜の残留農薬が選定された。

(2) 定性分析

LC-MS/MSによるMRM分析の結果、検体分析

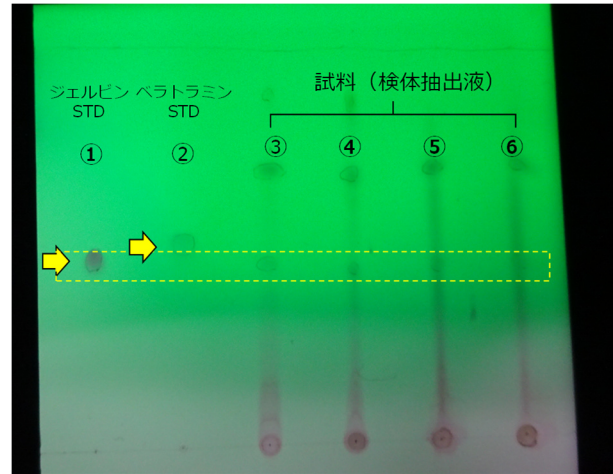


図4 ジェルピンおよびベラトラミンのTLC結果

ジェルピンSTD (100 ppm)、ベラトラミン(100 ppm)、

~ TLC分析試料(滴下量 :20 µL :40 µL :60 µL :80 µL)

試料からジェルピンおよびベラトラミン標準品と保持時間、複数の測定イオンの強度比が一致するピークを8.3分および8.6分付近に確認した(図2および図3)。

また、TLC分析の結果、検体分析試料からジェルピン標準溶液(100 ppm)と同位置付近(Rf値:約0.48)にスポットが確認された(図4)。一方、ベラトラミン標準溶液(100 ppm)と同位置付近(Rf値:約0.50)にスポットは確認されなかった。その他の候補物質はその他の分析結果から確認できなかった。

これらの結果から、バイケイソウの有毒成分であるジェルピンおよびベラトラミン(ベラトラムアルカロイド)が中毒原因物質である可能性が高いと判断し、この2成分について定量分析を実施した。

(3) ジェルピンおよびベラトラミンの定量分析

LC-MS/MSのMRM分析によって、ジェルピン、ベラトラミンの定量分析(n=3)を実施した。併せて、今回の検体に近い組成の市販のグリーンスムーズを用いて、添加回収試験(n=3、疑似検体中の各成分の濃度が10 µg/gになるように添加)も実施した。

結果、ジェルピンおよびベラトラミンともに、絶対検量線で1~200 ng/mLの範囲で良好な直線性(ジェルピン:決定係数0.9990、ベラトラミン:決定係数0.9993)が得られた(図5)。この検量線を用い算出した検体中のジェルピン濃度および

まとめ

本訓練では、シナリオから原因物質を推定し情報収集、協議を繰り返しながら、複数の分析方法による定性、定量分析するという健康危機管理における検査体制を確認することができた。今後も幅広い視野を持って情報収集力と分析技術の向上に努め検査体制強化を図るとともに、九州ブロックの関係機関と連携・協力体制を維持していきたい。

参考文献

- 1) 山口奈穂, 他: LC/MS/MSによる植物性自然毒の一斉分析法の開発, 熊本県保健環境科学研究所報, **47**, 48-55(2017).
- 2) 佐藤正幸, 他: 有毒植物バイケイソウ調理品中のジェルピン及び11-デオキシジェルピン残留量, 道衛研所報, **62**, 49-54(2012).
- 3) 藤井正文, 他: バイケイソウ中毒の1例, 総合病院医学雑誌, **4**, 40-42 (2016).

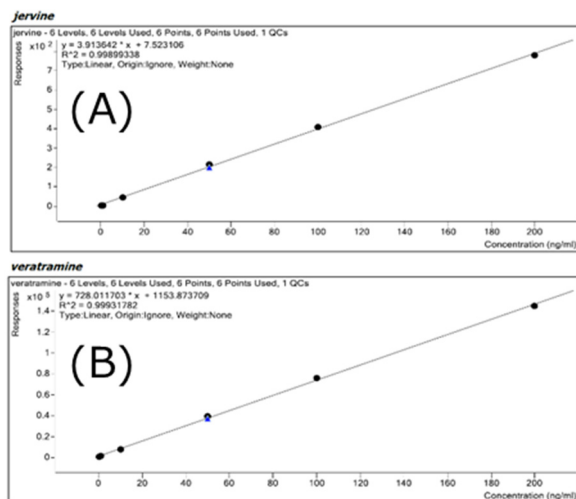


図5 検量線(1-200 ng/mL)
(A)ジェルピン (B)ベラトラミン

ベラトラミン濃度はそれぞれ19.0 $\mu\text{g/g}$ ($n=3$ 平均) 48.5 $\mu\text{g/g}$ ($n=3$)であった。また、同時に実施した添加回収試験はジェルピンで97.2% ($n=3$ 平均)、ベラトラミンで97.1% ($n=3$)と良好であった。

(4) 毒性量の推定、検証

定量分析の結果およびグリーンスムージーの喫食量から、患者のジェルピンおよびベラトラミンの総摂取量はおよそ12 mgであったと算出した。過去の報告³⁾において、ベラトラムアルカロイドの致死量は20 mgと推定されている。よって、今回、ベラトラムアルカロイドの内、ジェルピンおよびベラトラミンだけの摂取量推定であるが、患者は少なくともベラトラムアルカロイド致死量の半分相当を摂取していると考えられることから、本事例は、ベラトラムアルカロイド摂取により中毒症状を引き起こした可能性は非常に高いと判断された。

2. 模擬訓練事業結果検討会

結果検討会での報告によると、食中毒の原因はバイケイソウに含まれるジェルピンおよびベラトラミンであり、検体中濃度はそれぞれ20 $\mu\text{g/g}$ 、50 $\mu\text{g/g}$ であった。当センターの結果が原因物質を両者と判断しており、定量の真度がそれぞれ95.0%、97.0%であったことから、定性、定量いずれにおいても当センターの試験法が妥当であることを確認できた。

長崎県における食物アレルギーに関する実態調査(2022年度)

松永 尚子, 谷口 香織, 辻村 和也

Survey on Food Allergy in Nagasaki Prefecture (2022)

Naoko MATSUNAGA, Kaori TANIGUCHI and Kazunari TSUJIMURA

キーワード: 食物アレルギー、魚介類アレルギー、魚介類アレルゲン、パルプアルブミン、EPA、DHA

Key words: Food Allergy, Seafood Allergy, Fish allergen, Parvalbumin, EPA, DHA

はじめに

我が国では、国民の約2人に1人が何らかのアレルギー疾患を有していると言われている。国は、アレルギー疾患対策を重要課題として位置づけ、患者を含む国民全体が安心して生活できる社会熟成のために2030年に向けた「免疫アレルギー疾患研究10か年戦略¹⁾」を策定しており、この中で「気管支喘息」、「アトピー性皮膚炎」、「アレルギー性鼻炎」、「花粉症」、「食物アレルギー」などの免疫疾患を対象としている。特に、「食物アレルギー」の症状は、皮膚・粘膜症状が中心であるが重篤な場合はアナフィラキシーショックによる全身症状もあるため問題は深刻である。

当センター生活化学科が2008年度に小学校とその家族に対して実施した「長崎県における食品とアレルギーに関する実態調査」アンケートでは「魚介類アレルギー」が全体の約4割を占めるという知見を得ている。また、2022年3月、消費者庁がまとめた「令和3年度食物アレルギーに関連する食品表示に関する調査研究事業報告書²⁾」によると、成人(18歳以上)の年齢別原因食物の第1位は、魚介類(24.6%: 内訳: 甲殻類16.9%、魚類7.7%)が最も高い発症数であった。本県の漁業生産量は全国2位、漁獲できる魚種は全国1位を誇り水産加工品も多く流通している。このような状況をふまえ、2022年度の県民の食物アレルギーの実態把握をWEBアンケート³⁾により実施し2008年度との比較検証を行った。また、県内流通水産加工品について食の安全確保と健康づくりと両方の観点から魚介類アレルゲンであるパルプアルブミン(PA)の含有量と抗アレルギー効果が期待

される⁴⁾成分である脂肪酸のエイコサペンタエン酸(EPA)とドコサヘキサエン酸(DHA)の含有量について調理や加工による変化を調査し、低アレルゲン化食品の模索を行った。本報告ではその検証結果について報告する。

実施内容

- 1 「令和4年度長崎県における食物アレルギーに関する実態調査」アンケート
- 2 低アレルゲン化食品の模索
 - (1) 魚介類アレルゲンタンパクPAの分析
 - (2) EPAおよびDHAの分析

調査方法

- 1 アンケートの調査対象・調査期間

2022年8月25日から同年9月4日までの期間に、「ながさきWEB県政アンケート」のモニター登録者338名を対象にWEBアンケート方式により実施し、2008年度のアンケート調査結果と比較検証した。
- 2 試料

長崎県内流通のアジ、サバ、イワシとそれらを材料とする水産加工食品(アジ: アジ天およびかまぼこ、サバ: イワシ: 缶詰)。また、各鮮魚を圧力鍋およびオートクレーブで20分処理したものを試料として使用した。
- 3 試薬および分析機器
 - (1) 魚介類アレルゲンPAの定量(ELISA法)

PAの定量は、Eurofins社製 SENSISpec ELISA Fish Testsを使用し、機器は、マイクロプレートリーダーiMark(バイオ・ラッド ラボラトリーズ 株式会社製)を用いて測定した。

(2) EPA、DHAの分析

DHA、EPAの分析の誘導体化のために脂肪酸メチル化キット(ナカライテスク株式会社製)を使用した。また水素炎イオン化型検出器付ガスクロマトグラフ(GC-FID)としてGC 2010システム(株式会社島津製作所製)を使用し、分析カラムとしてRtx-2330(60 m×0.25 mm ID、0.2 μm、Restek社製)を用いた。EPAおよびDHA標準溶液は、スペルコ37種FAMEミックス(スペルコ社製)を使用した。

4 前処理方法

PAの定量は、試料をホモジナイザーで均一化した後、1 gを採取しEurofins社製 SENSISpec ELISA Fish Testsの試験方法に従い行った。

DHA、EPA分析は、試料をホモジナイザーで均一化した後、200 mgを採取し抽出液(ノルマルヘキサン)2 mLを加えてガラス棒で押しつぶした後攪拌し、上清0.5 mLを採取後、窒素パーズで溶媒を除去し脂肪酸メチル化キットによりメチル化処理後、GC-FID用の測定試料とした。

調査結果および考察

1 「令和4年度長崎県における食物アレルギーに関する実態調査」アンケート

(1) 回答状況

回答者は312名、回答率92.3%であり、全て20代以上であった。回答者の男女比は、男性45%、女性55%であった(図1)。年齢構成比率は図2のとおりである。2008年度調査では、全回答者数は7,681名、その内20代以上は3,843名であり、その年齢構成比率は20代(3.9%, n=151)、30代(39.8%, n=1,531)、40代(38.2%, n=1,467)、50代(5.5%, n=213)、60代以上

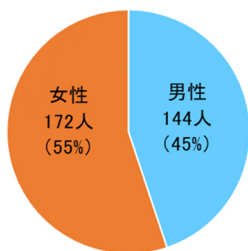


図1 回答者の性別

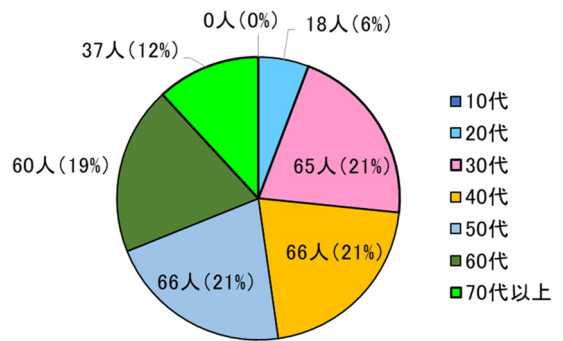


図2 年齢構成比率

(12.5%, n=481)である。

(2) 各年代におけるアレルギー有症率(食物アレルギーを含む)

現在または過去にアレルギー症状(目のかゆみ、涙、鼻水、鼻づまり、くしゃみ、咳、かゆみ、湿疹、蕁麻疹、頭痛など)を起こしたことがあるかについて調べた結果、2022年度は全体の42%、2008年度は全体の41%でありほぼ同じであった。2022年度の調査では、20代は61%と最も高く、若い世代ほど有症率

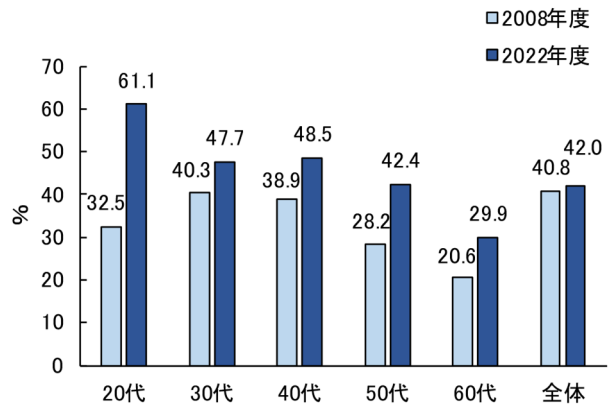


図3 各年代におけるアレルギー有症率

が高い傾向にあった(図3)。

(3) 各年代における食物アレルギー有症率

2022年度の全体の食物アレルギー有症率は14%であり、各世代で10%台の発症率であった。2008年度は食物アレルギー有症率は全体の9%であった。2022年度の食物アレルギー有症率は、2008年度と比較して各世代で、増加傾向にあった(図4)。

表 2 魚介類アレルギー初発時の症状

症状(重複回答あり)	回答者
かゆみ(目を除く)、湿疹、じんましんなどの皮膚症状	14名
目のかゆみ、涙、鼻水、鼻づまり、くしゃみなどの目鼻症状	1名
ぜんそく、せきなどの呼吸器症状	1名
頭痛、発熱、血圧低下、ショック症状などの全身症状	0名
その他(のどの違和感・息苦しさ、下痢・嘔吐・頭痛、唇が腫れた、腹部の鈍痛・不快感)	4名
無回答	2名

(8) 魚介類アレルギー発症回数

2022年度の魚介類アレルギー有症者(22名)の発症回数は表3に示す。

表 3 魚介類におけるアレルギー症状の発症回数

アレルギー症状の発症回数	回答者
1回のみ	8名
2回以上5回未満	9名
5回以上	5名

(9) 魚介類アレルギー症状初発時の調理法と魚介類を食べても症状を起こさなくなった調理法

魚介類アレルギー有症者(22名)の、「魚介類アレルギー症状が初めて起きた時の魚介類調理法」と「魚介類アレルギー有症者が魚介類をたべてもアレルギー症状を起こさなくなった調理法」について表4に示す。

表 4 「魚介類アレルギー症状初発時の調理法」と「魚介類を食べてもアレルギー症状を起こさなくなった調理法」

アレルギー魚介類	該当人数(人)								
	さしみ(生のまま)	茹でる(ポイル)	焼魚	煮魚	天ぷら等揚げ物	蒸し魚	魚類ねり製品	わからない	その他
甲殻類(エビ・カニ)	3/1	4/5	1/3	1/0	1/0	0/1	-	2/4	1/0
貝類(牡蠣・ホタテ・アサリ)	2/0	1/0	-	-	0/1	-	-	1/3	-
イカ・タコ	-	1/1	-	-	-	-	-	-	-
サバ	-	-	-	0/1	-	-	1/0	2/1	0/1

人数表示: *アレルギー症状初発の調理法 / *食べてもアレルギー症状を起こさなくなった調理法

(10) その他の食物アレルギー発症者数(図7)

果物アレルギーの原因食材(2022年度)は、キウイが最も多く、次いでパイナップル、メロンが同数であり、2008年度と同じ傾向を示した。野菜アレルギー(2022年度)はヤマイモが2例、次いで、トマト、ホウレンソウ、キュウリ、カボチャ、ナスが1例であった。2008年度はヤマイモ、トマト、タケノコの順であった。肉類アレルギーは、2022年度、2008年度ともに、豚肉、牛肉、鶏肉が同程度の発症頻度であった。穀類アレルギーは、2022年度はそばが3例、次いでとうもろこしと小麦が1例であった。2008年度はそばが最も多く、次いで、小麦、大豆、落花生であった。

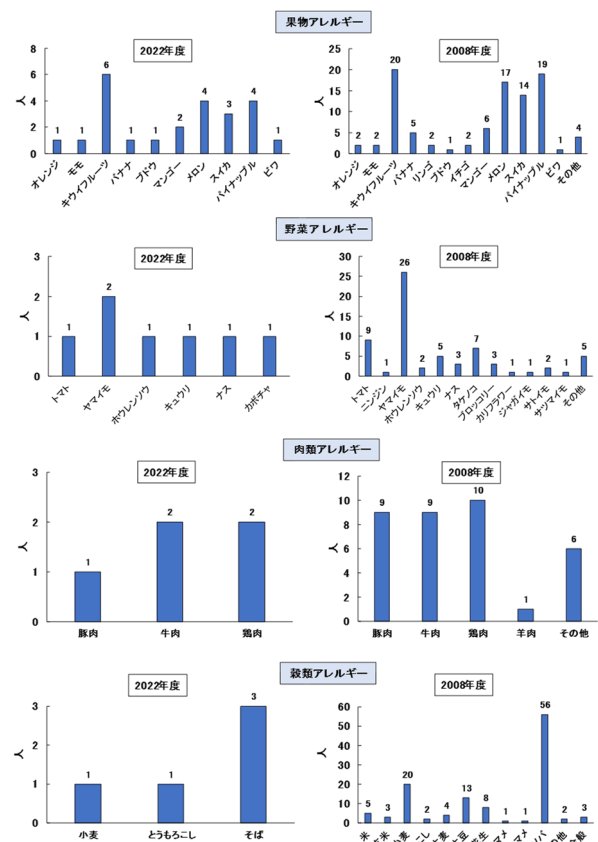


図 7 その他の食物アレルギー発症者数

2 低アレルゲン化食品の模索

魚介類アレルギーの主要アレルゲンであるパルプアルブミン(PA)量を測定した。魚種は、本県の漁業主要魚種で全国でも漁獲量の多い「アジ」「サバ」「イワシ」の3種について検討した。PAの特徴として水溶性で熱安定性が非常に高い性質をもっており⁵⁾、焼き魚のような加熱調理でもアレルゲン性が失われな

い特徴がある。本研究において、水産加工食品、調理加工による比較検証を行った。

(1) 魚類アレルギータンパクPAの分析

(a) 生魚、水産加工食品中のPA含量

生魚中のPA含量は、アジ、イワシ、サバの順で多く(図8)、文献⁵⁾のとおりであった。加工食品のPA量について図9に示す。アジの加工食品である「アジ天」と「あじかまぼこ」中のPA含量を測定したところ、PA量の低減が見られた。一方、サバの缶詰、イワシの缶詰において、顕著なPA量の減少が見られた。缶詰を製造する場合、高温高压(約120°C以上)の長時間(2時間以上)で調理されており、既報⁵⁾と同様にPAの分解もしくは変性によりPA量が低減したと考えられる。また、サバの缶詰において、身より出汁

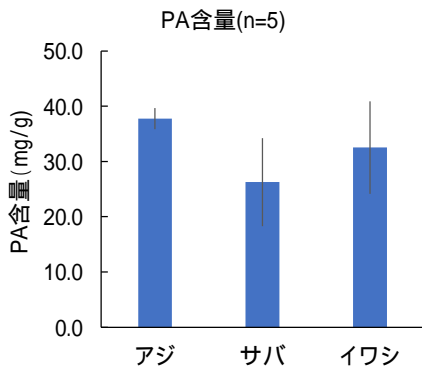


図8 生魚中のPA含量 (n=5)

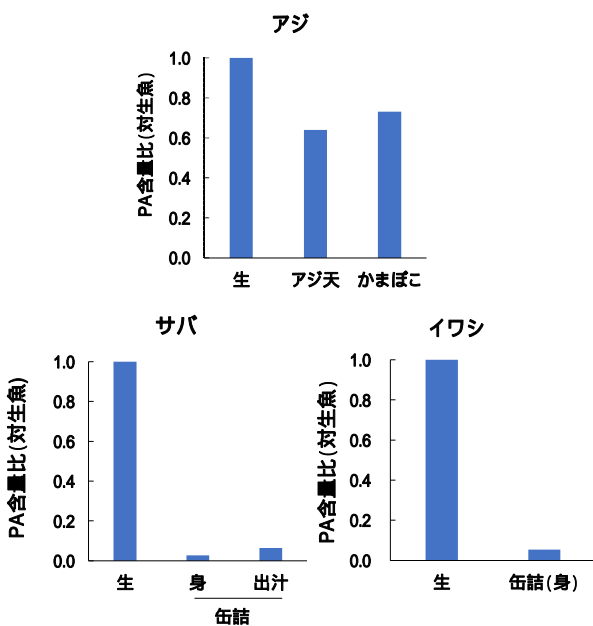


図9 生魚、加工食品中のPA含量比(対生魚)

に約2.4倍のPA量が多く含まれていた。この理由としてPAは水溶性のタンパク質であることから加工中に調味液中に溶出したと考えられる。

(b) 調理加工によるPA含量変化

缶詰(高温高压の加工食品)により、PAの低減が確認されたことから、家庭で用いられる電気圧力鍋(最高温度:88°C、総調理時間20分間、最高圧力1.8気圧)を用いてPA含量を検証した。比較として、オートクレーブ(121°C、2気圧、20分間)を使用した。結果を図10に示す。PA含量の低減化率は、アジは電気圧力鍋で72%、オートクレーブで53%、サバは電気圧力鍋で50%、オートクレーブで17%、イワシは電気圧力鍋で42%、オートクレーブは19%であり、高温高压処理によりPAの低減化が確認できた。通常の加熱では変化しないPAであっても、家庭で使用できる電気圧力鍋による高温高压の調理加工で魚類アレルギーのPA量が半減でき、低アレルギー化の調理法の一つとなり得る基礎的知見が得られた。

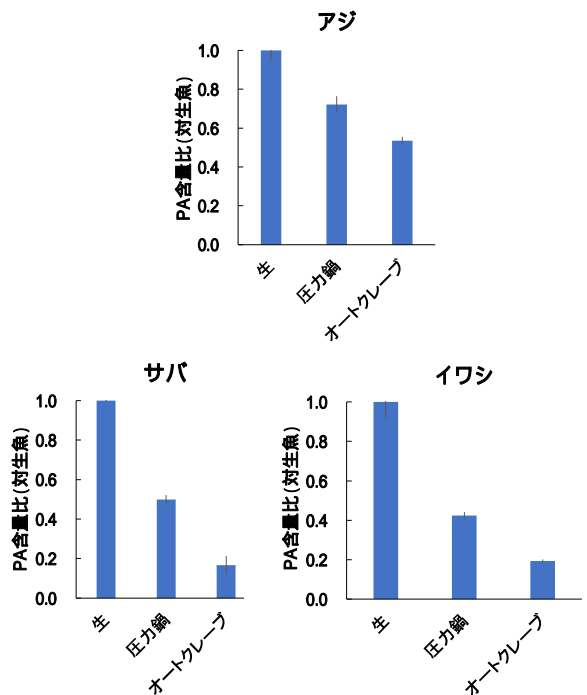


図10 調理加工(加熱、圧力)によるPA含量

(2) EPA、DHAの分析

魚介類は、良質なタンパク質源であり、身体に良いとされる機能性成分であるEPA、DHAなどの不飽和脂肪酸、カルシウムなどのミネラルの供給源でもある。高温高压による調理加工でPA含量の低減化が

確認できたサバ、イワシについてEPA、DHA含量についても比較した。サバ、イワシの生、缶詰加工食品について、生魚を1とした場合のEPA、DHAの比率を図11に示す。サバの缶詰で、生魚と比較してEPA量は約7倍、DHA量は約3倍であった。イワシはほぼ同等であった。本分析結果より、缶詰加工食品において、EPA、DHAは失われず保持されていることが明らかとなった。

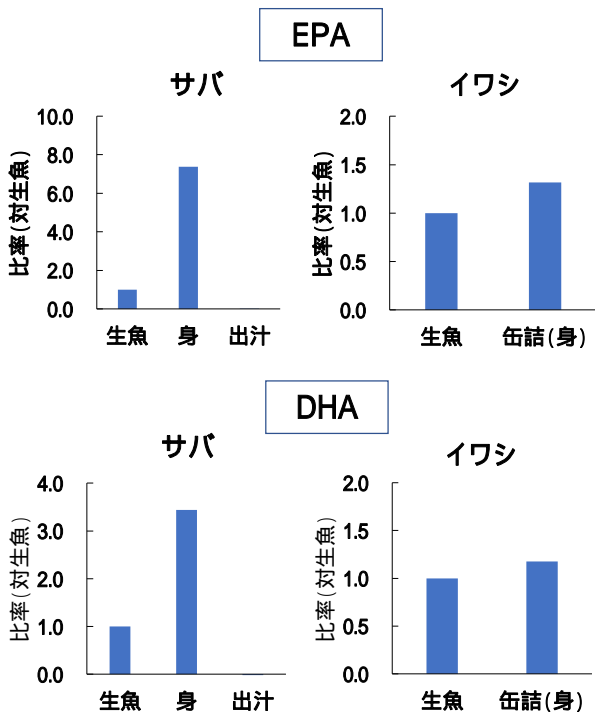


図 11 高温高圧調理加工による EPA、DHA 含量変化 (n=3)

まとめ

食物アレルギーの実態調査により、何らかのアレルギー症状を有する人は2008年度と同程度で全体の約4割を占めた。食物アレルギー有症者は全体の14%と2008年度(9%)よりも増加し、いずれの世代も増加傾向であった。長崎県の成人の食物アレルギーの原因食品の第1位は、2008年度と同様「魚介類アレルギー」であり、「魚介類」は今後継続して注視すべきアレルゲンであることが示唆された。水産加工食品中の魚類アレルゲン(PA)量とEPA・DHA含有量について調理や加工による変化を比較検証し、家庭でもできる電気圧力鍋など高温高圧による調理加工が魚類アレルゲンPAの低減化に有効であることが確認され、低アレルゲン加工食品に向け

た基礎的知見となった。

謝辞

「令和4年度長崎県における食物アレルギーに関する実態調査」を実施するにあたりご助言とご指導いただきました長崎大学水産学部の濱田友貴先生に深く感謝いたします。

参考文献

- 1) 厚生労働省. 免疫アレルギー疾患研究10か年戦略2030～「見える化」による安心社会の熟成～, (2019)
- 2) 消費者庁. 令和3年度食物アレルギーに関連する食品表示に関する調査研究事業報告書, (2022)
- 3) 長崎県: ながさきWEB県政アンケート(2022), <https://www.pref.nagasaki.jp/bunrui/kenseijoho/goiken-gosodanmadoguchi/kocho/ankeeto/index.html> (2023.5.8アクセス)
- 4) 塩見一雄: 「魚介類とアレルギー」pp.171-175, 成山堂書店(2003)
- 5) 塩見一雄, 他: 「魚介類アレルゲンの科学」日本水産学会監修. 水産学シリーズ164, 恒星社厚生閣 (2010)