

愛知県衛生研究所報

第74号 令和6年3月

目次

調査研究

愛知県における新型コロナウイルス検出状況及び遺伝子解析	1
鈴木雅和、廣瀬絵美、安達啓一、齋藤典子、皆川洋子、新美 瞳、諏訪優希、青山文生、高橋新次、宮本真由歌、谷 郁孝、中村武靖、水谷裕子、瀬戸山由佳、齋藤友睦、佐藤穂奈美、伊藤 雅、安井善宏、松本昌門、佐藤克彦	
2016年から2020年に愛知県内で分離された結核菌のVNTR (Variable Numbers of Tandem Repeats) 法における遺伝子型	9
山田和弘、松田達也、青木美耶子 ¹ 、中根衣久美 ² 、白鳥浩美 ¹ 、齋藤典子、安井善宏	
¹ (現所属)衣浦東部保健所、 ² (現所属)生活衛生課	
愛知県内で漁獲されたしらす加工品に混入したフグ稚魚の種判別および毒性評価	17
山本奈緒、長谷川晶子、安井善宏	
カット野菜の消毒に伴う副生成物に関する検討	25
占部彩花、海野明広、細野加芳、富田浩嗣、棚橋高志	
愛知県における食品の放射性物質検査の状況 (2012年度～2022年度)	32
長瀬智哉、佐藤隆治、新美 瞳、棚橋高志	
他誌掲載論文抄録	40

Report of Aichi Prefectural Institute of Public Health
(Aichi-ken Eisei Kenkyusyoho)

Volume 74, March 2024

Contents

Original Papers

Laboratory diagnosis of SARS-CoV-2 and virus variants detection by SNP assays
and whole genome sequencing in Aichi Prefecture1

Masakazu Suzuki, Emi Hirose, Hirokazu Adachi, Noriko Saito, Hiroko Minagawa,
Hitomi Niimi, Yuki Suwa, Fumio Aoyama, Shinji Takahashi, Mayuka Miyamoto,
Fumitaka Tani, Takeyasu Nakamura, Yuko Mizutani, Yuka Setoyama,
Tomochika Saito, Honami Sato, Miyabi Ito, Yoshihiro Yasui, Masakado Matsumoto,
Katsuhiko Sato

Genotyping of Mycobacterium tuberculosis isolated in Aichi Prefecture
from 2016 to 2020 by variable numbers of tandem repeats method
..... 9

Kazuhiro Yamada, Tatsuya Matsuda, Miyako Aoki¹, Ikumi Nakane²,
Hiromi Shiratori¹, Noriko Saito, Yoshihiro Yasui
¹Present affiliation: Kinuura-Tobu Health Center, ²Present affiliation: Environmental
Health Division, Environmental Health Department, Aichi Prefectural Government

Species Identification and Toxicity Evaluation of Pufferfish Juveniles Contaminating
Whitebait Products caught in Aichi Prefecture, Japan.17

Nao Yamamoto, Akiko Hasegawa, Yoshihiro Yasui

Survey of disinfection by-products of cut vegetables25

Ayaka Urabe, Akihiro Unno, Kaho Hosono, Koji Tomita, Takashi Tanahashi

Analysis of Radioactive Materials in Food in Aichi Prefecture (FY2012~FY2022)
.....32

Tomoya Nagase, Ryuuji Satou, Hitomi Niimi, Takashi Tanahashi

Summaries of papers accepted to other journals40

調 査 研 究

愛知県における新型コロナウイルス検出状況及び 遺伝子解析

鈴木雅和、廣瀬絵美、安達啓一、齋藤典子、皆川洋子、新美 瞳、諏訪優希、
青山文生、高橋新次、宮本真由歌、谷 郁孝、中村武靖、水谷裕子、
瀬戸山由佳、齊藤友睦、佐藤穂奈美、伊藤 雅、安井善宏、松本昌門、佐藤克彦

要 旨

当所では、新型コロナウイルス感染症の検査及び遺伝子解析を2020年1月の県内初発を確認して以来、継続して実施している。2021年1月までは、当所の役割は新型コロナウイルスの検出であったが、2021年2月以降、起源株に比べて感染力や病原性が変化した変異株が蔓延したため、一塩基多型(SNP)変異解析及び全ゲノム解析の実施による変異株の把握が主要な役割となった。第4波ではアルファ株の特徴であるN501Y変異を対象とし、第5波ではデルタ株の特徴であるL452R変異を対象としたSNP変異解析を実施した。第6波では、2種類のオミクロン株を区別するため、L452R及びT547K変異解析を実施した。第7波以降では、L452R変異解析を実施し、既存株と新規株の判別を行った。第5波以降は全ゲノム解析による遺伝子解析も実施し、詳細な系統を把握した。これらSNP変異解析と全ゲノム解析の結果を流行波ごとに比較検討すると、SNP変異解析結果は、全ゲノム解析結果を反映していた。リアルタイムPCR法によるSNP変異解析は全ゲノム解析に比べ早く結果が分かるため、流行初期におけるウイルス株の早期捕捉に非常に有用であった。

キーワード：新型コロナウイルス感染症、SNP変異解析、全ゲノム解析

序 文

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)は、コロナウイルス科オルトコロナウイルス亜科ベータコロナウイルス属に属するプラス鎖の1本鎖RNAをゲノムとして持つウイルスで、ヒトに感染し重篤な呼吸器症状を引き起こす。2019年11月に中華人民共和国湖北省武漢市で初めて発生が確認されて以降、急速に世界的流行を引き起こし、2023年11月現在、WHOに全世界で累計約7.7億人の感染、約7百万人の死亡が報告されている¹⁾。愛知県においても、2020年1月に初発を確認して以降、定点把握に移行した2023年5月7日までに累計2,126,110人の

感染、4,329人の死亡が確認されている²⁾。

当所では、2020年1月から、新規感染者のSARS-CoV-2スクリーニング検査を開始した。そして、2021年12月22日より、新規感染者数の激増が懸念されたため、5保健所管轄地域のSARS-CoV-2スクリーニング検査を県内2つの大学病院へ委託した。また、2021年2月16日には国内でアルファ株の急速な感染拡大が懸念されたため、厚生労働省から自治体に対してアルファ株の特徴であるスパイクタンパク質の変異(N501Y変異)を対象としたスクリーニングの検査数の報告が求められるようになった³⁾。さらに2021年6月4日には、厚生労働省から自

2. 一塩基多型 (SNP) 変異スクリーニング検査

2.1. N501Y 変異解析

2.1.1. 供試検体

2021年第6週から2021年第23週までの陽性検体及び県内医療機関において採取された検体3,040件を用いた。

2.1.2. 方法

2.1.1と同様の方法でウイルスRNAを抽出した後、QuantiTect Probe RT-PCR kit (QIAGEN)、N501Y変異検出マニュアル⁷⁾に示されたプライマー・プローブ及び条件又は、SARS-CoV-2 Direct Detection RT-qPCR Core Kit (Takara Bio) 及びPrimer/Probe N501Y (SARS-CoV-2) (Takara Bio) を用いて、Light Cycler 480 II (Roche) でリアルタイムPCRを行った。

2.2. L452R/L452Q 変異解析

2.2.1. 供試検体

2021年第16週から2023年5月7日までの陽性検体13,641件を用いた。

2.2.2. 方法

2.2.1と同様の方法でウイルスRNAを抽出あるいは、SARS-CoV-2 Direct Detection RT-qPCR Core Kit 付属のSolution Aで95℃5分間の前処理をした後、同試薬及びPrimer/Probe L452R (SARS-CoV-2) (Takara Bio) を用いて、リアルタイムPCRを行った。さらに、1の検査でCt値が概ね30以下であるにもかかわらずL452R変異を判定できなかった検体は、Primer/Probe L452R/L452Q (SARS-CoV-2) (Takara Bio) を用いて再検査を行った。

2.3. T547K 変異解析

2.3.1. 供試検体

2022年第9週から2022年第35週までの陽性検体2,459件を用いた。

2.3.2. 方法

2.2.2と同様の方法及びTakemaeらの設計したプライマー・プローブセット⁸⁾を用いて、表3に示した条件でリアルタイムPCRを行った。

3. 全ゲノム解析

3.1. 供試検体

2021年第28週から2023年5月7日までの陽性検体のうち、Ct値が概ね30以下の検

表3 RT-PCRの反応条件

	サイクル	温度	時間
RT	1	52℃	5分
Denature	1	95℃	5秒
		95℃	5秒
Annealing and Extention	45	60℃	30秒

体4,059件を用いた。

3.1.1. 方法

1.2で得た上清をQIAamp Viral RNA Mini Kit、ReliaPrepTM Viral TNA Miniprep System (Promega、USA)又はQuick-RNA Viral Kit (ZYMO RESEARCH、USA)を用いて、RNAを抽出した。QIAseq FX DNA Library Kit(QIAGEN)を用いて、国立感染症研究所新型コロナウイルスゲノム解読プロトコル⁹⁾に従い、ライブラリーを調製した。その後、次世代シーケンサー (MiSeq (Illumina、USA))によりペアエンドシーケンシングを行い、FASTQデータを得た。FASTQデータは、CLC Genomic Workbench (QIAGEN) 起源株(MN908947.1)にマッピング解析し、全ゲノム配列を得た。得られたデータは、カバレッジの中央値が300以上かつ参照配列に対して98%以上解読できた場合にゲノム配列が取得できたと判断した。得られたゲノム配列データは、Pangolin¹⁰⁾及びNextClade¹¹⁾により解析を行い、PANGO系統 (pango lineage)を取得した。

結果

1. SARS-CoV-2 スクリーニング検査数の推移 (図1)

2020年第5週より始まったスクリーニング検査は、2020年第16週にピーク845件となり、2020年第27週に下げ止まり181件となった(第1波)。以降、(ピーク週・件数、下げ止まり週・件数)で示す。第2波(2020年第32週・2,515件、2020年第41週・383件)、第3波(2020年第50週・557件、2021年第12週・287件)、第4波(2021年第20週・2,391件、2021年第27週・201件)、第5波(2021年第35週3,812件、2021年第49週22件)、第6波(2022年第

4週・3,182件、2022年第25週・2件)。これら検査数のピーク及び下げ止まりの時期は、県下の新規感染者数の増減と相関していた。また、検査の陽性率は、第1～6波のピークでそれぞれ18.3%、11.8%、15.7%、11.0%、16.7%、25.0%であった。

第7波以降、当所の検査は、SARS-CoV-2スクリーニング検査から、変異スクリーニング検査及び全ゲノム解析に変化したため、2023年5月7日までSARS-CoV-2スクリーニング検査数は、0～201件/週で推移した。

2. SNP変異スクリーニング検査

2.1. N501Y変異解析(図2)

図2に週別のN501Y変異解析の結果(変異の占める割合)を示す。2021年第6週から2021年第11週までは、501Y変異をもつ株(501Y)の検出率は、0～2.6%と低い値を示したが、県下の新規感染者数が下げ止まりとなった2021年第12週より増加が始まり、第4波のピークとなった2021年第20週には、501Yの割合が91.5%となり、2021年第23週まで、この高い割合が継続した。

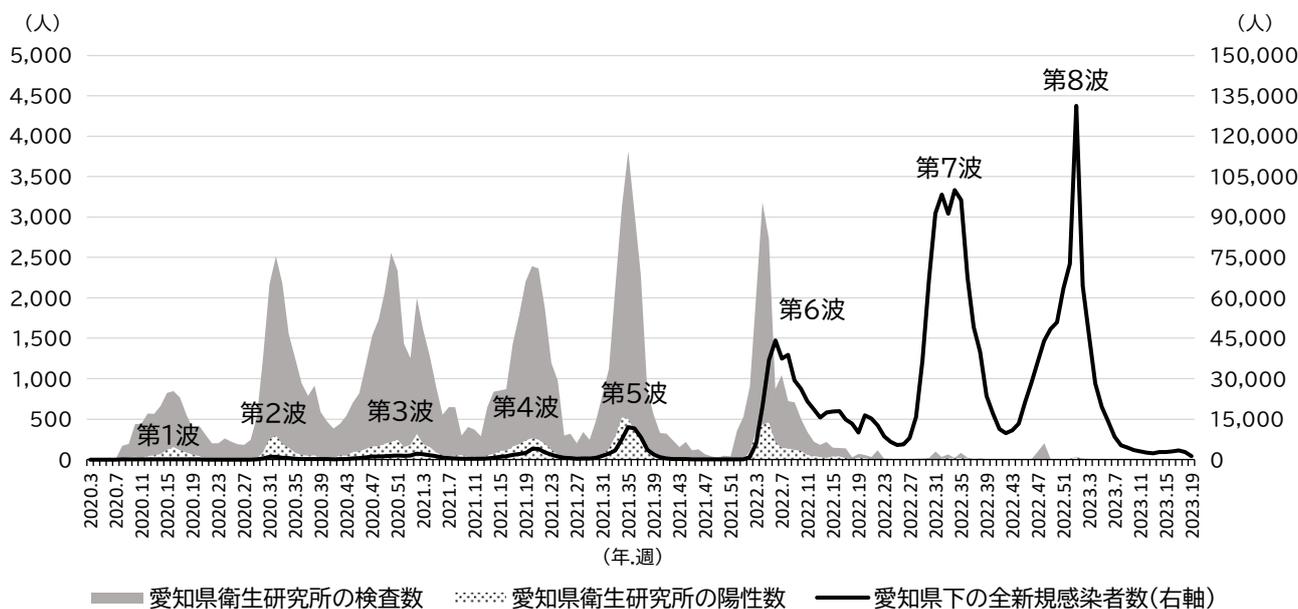


図1 新型コロナウイルス感染症の検査実施状況

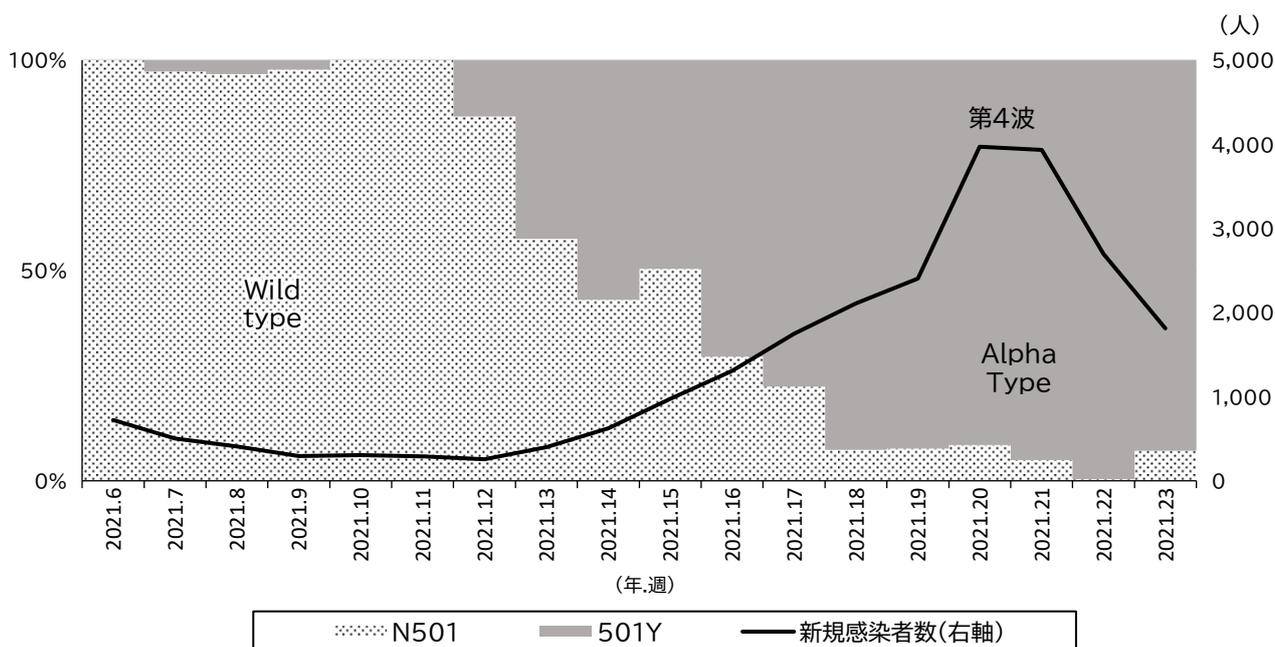


図2 N501Y変異割合の変遷

2.2. L452R/L452Q 変異解析 (図 3)

図 3 に週別の L452R 変異解析の結果を示す。2021 年第 16 週から 2021 年 27 週までは変異株の割合は、0~6.8%と低い値で推移したが、県下の新規感染者数が下げ止まりとなった 2021 年第 27 週を境に増加に転じ、第 5 波のピークとなった 2021 年第 35 週には、452R 変異をもつ株 (452R) の割合が 96.2% となり、2021 年第 38 週には、100% となった。その後も、散発的に変異のない株 (L452) が検出されたものの、第 51 週まで 452R の割合が高い状況が継続した。2021 年第 52 週に県下の新規感染者数が下げ止まりとなると再び L452 が増加に転じ、第 6 波ピークの次週 (2022 年第 6 週) には、L452 の割合が 100% となった。L452 の割合が 100% である状況は、県下の新規感染者数が下げ止まりとなる前週 (2022 年第 25 週) まで継続した。その後は、再び 452R の割合が増加に転じ、散発的に 452Q 変異も持つ株 (452Q) の検出が見られたものの、第 7 波のピークとなった前週 (2022 年第 33 週) には、再び 452R の割合が 100% となった。2022 年第 34 週から 2022 年第 49 週まで 452R の割合は、97~100% で推移したが、第 8 波のピークとなった 3 週間前から、L452 の割合が増加し始め、2023 年第 15 週には、L452 の割合が 100% となった。その後、2023 年 5 月 7 日までに 452R は散発的に検出されるものの、L452 が主流となった。

2.3. T547K 変異解析 (図 3)

図 3 に週別の L452R 及び T547K 変異株検査結果を示す。T547K は、オミクロン株 (BA.1 系統) に特徴的な変異である。2022 年第 9 週から 2022 年第 11 週まで 547K 変異を持つ株 (547K) の割合は、96.2~98.2% であったが、2022 年第 12 週より変異のない株 (T547) の割合が増加し始め、2022 年第 18 週には、T547 の割合が 100% となった。その後、県下の新規感染者数が下げ止まりとなった 2022 年第 25 週まで 547K は散発的に検出されるものの、翌週より検出されなくなった。

2.4. 全ゲノム解析 (図 4)

図 4 に週別の全ゲノム解析による Pango lineage の割合を示す。県下の新規感染者数

が下げ止まりとなった次週 (2021 年第 28 週) では、アルファ株が 91.3%、デルタ株が 8.7% 検出された。その後、デルタ株の割合が増加し、第 5 波のピークとなった 2 週間前 (2021 年第 33 週) には、デルタ株の割合が 100% となった。2021 年第 37 週にアルファ株が 2% 検出されたものの、それ以降検出されることはなく、2021 年第 51 週まで全てデルタ株であった。2021 年第 52 週には、県下で初めてオミクロン株が検出され、第 6 波ピークの次週 (2022 年第 7 週) には全てオミクロン株となった。また、2021 年第 52 週から 2022 年第 6 週 (第 6 波のピーク) までのオミクロン株の内訳は、B.1.1.529 系統 4.2%、BA.1 系統 94.9%、BA.2 系統 1.0% であった。その後、2022 年第 11 週まで、BA.1 系統が 90.2~99.1%、BA.2 系統が 0.9~9.8% の割合で推移したが、2022 年第 12 週以降、BA.2 系統の割合が増加し、2022 年第 18 週には、全て BA.2 系統となった。2022 年第 18 週から 2022 年第 24 週までのオミクロン株の内訳は、BA.1 系統 1.1%、BA.2 系統 98.9% であった。県下の新規感染者数が下げ止まりとなった 2022 年第 25 週には、BA.5 系統が初めて検出され、第 7 波ピークの前週 (2022 年第 33 週) には、BA.5 系統の割合が 100% となった。BA.4 系統は、2022 年第 31 週から 2022 年第 46 週までの間に散発的に検出された。また、2022 年第 46 週から、BA.2 系統が再興し、2023 年 5 月 7 日まで、この間の検出率は、BA.2 系統 22.0%、BA.4 系統 0.2%、BA.5 系統 77.9% であった。

2.5. SNP 変異解析結果とゲノム解析結果の比較

第 5 波 (2021 年第 28 週~2021 年第 49 週) では、変異解析で L452 と判定した検体 (76 検体) は全てアルファ株であり、452R と判定した検体 (482 検体) は全てデルタ株であった。第 6 波 (2021 年第 50 週~2022 年第 24 週) では、変異解析で 452R 検体 (74 検体) は全てデルタ株であり、L452 検体 (1,750 検体) は全てオミクロン株であった。また、547K 検体 (240 検体) は全て BA.1 系統、T547 検体 (290 検体) は全て BA.2 系統であった。

第7波(2022年第25週～2022年第42週)では、L452 検体(76 検体)は全て BA.2 系統、452R 検体(924 検体)は、99.2%が BA.5、0.5%が BA.4 系統、0.2%が BA.2 系統であった。452Q 検体(5 検体)は全て BA.2 系統(BA.2.12.1)であった。

第8波(2022年第43週～2023年5月7日)では、L452 検体は(72 検体)は 80.7%が

BA.2.75 系統、19.3%が組換え体であった。452R 検体(519 検体)は、95.6%が BA.5 系統、0.4%が BA.4 系統、3.9%が BA.2.75 系統、組換え体 0.2%であった。全ゲノム解析を実施した検体で、L452R 変異解析で判定できなかった検体は、87.5%が BA.2 系統(BA.2.3.20)で L452M 変異を持つウイルスで 12.5%が組換え体であった。

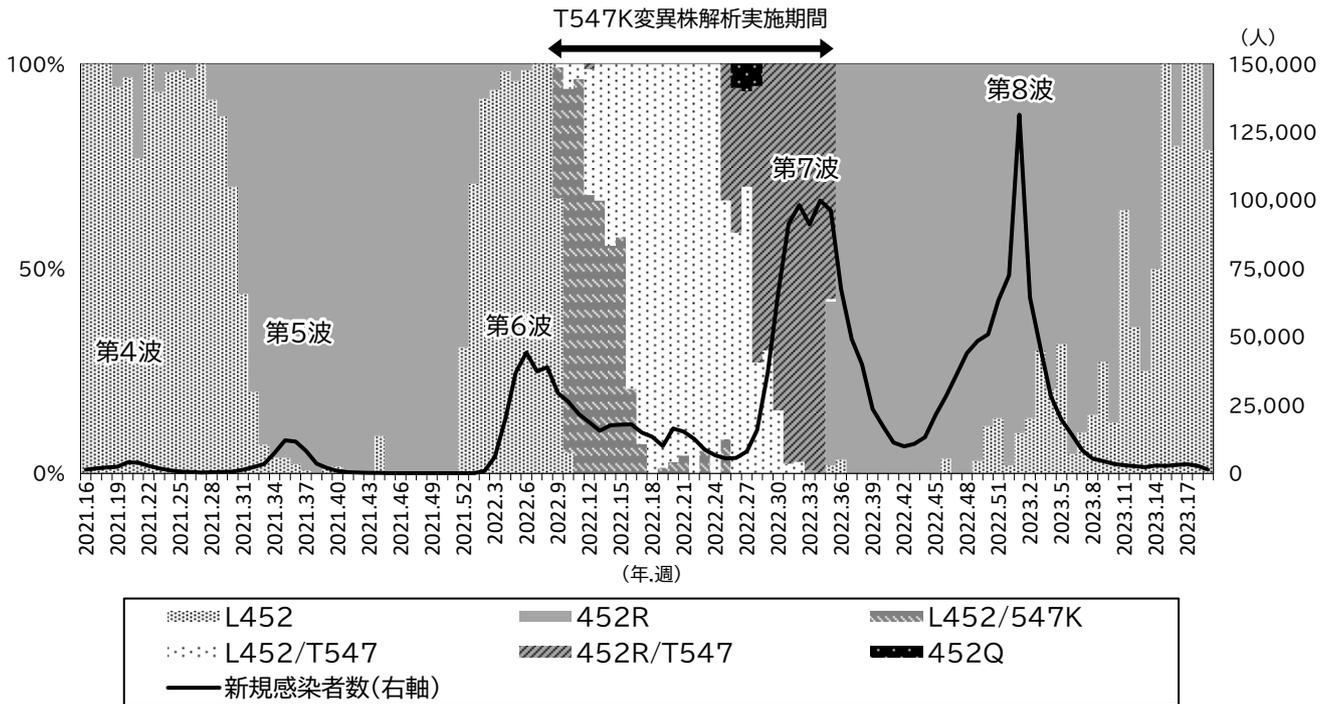


図3 L452R/L452Q・T547K 変異割合の変遷(検体採取週別)

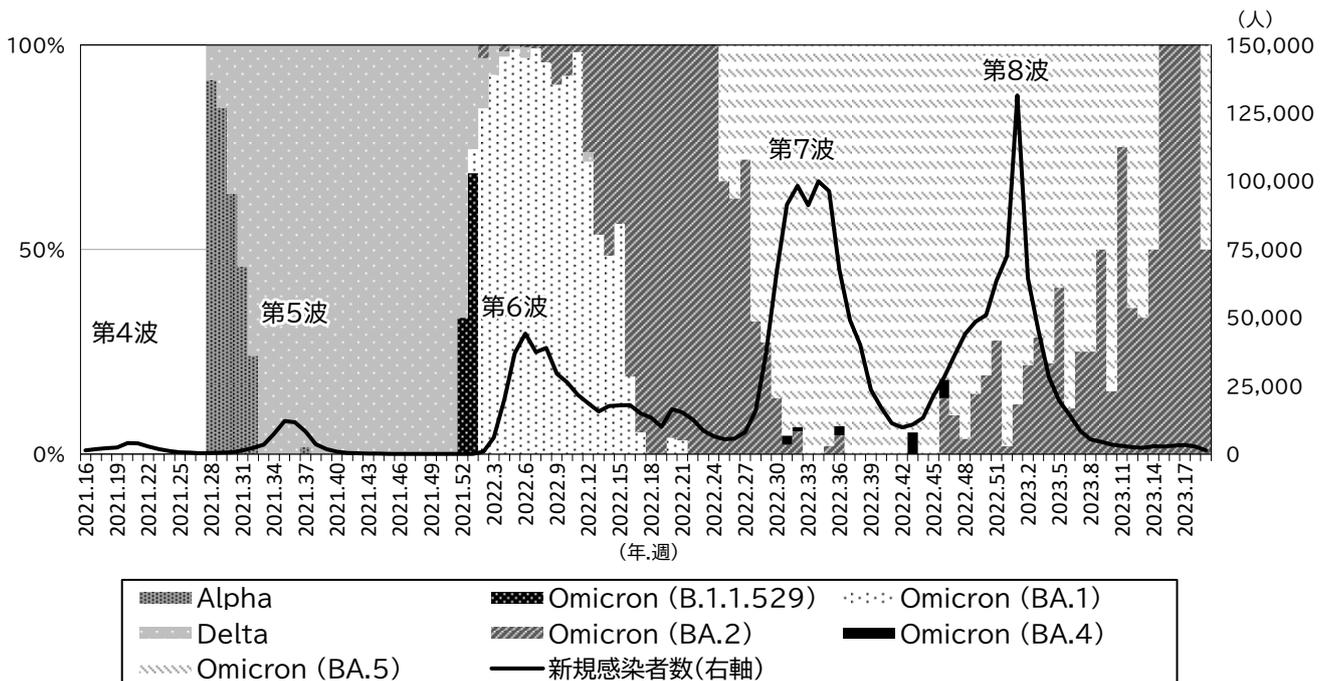


図4 新型コロナウイルス遺伝子型の変遷(検体採取週別)

まとめ

当所の役割は、第3波までは、診断補助目的の SARS-CoV-2 スクリーニング検査であった。しかし、2021年2月頃より国内でアルファ株の急速な拡大が懸念されたため、当所の役割は、診断補助目的から、ウイルス遺伝子解析へと変化し始めた。第4波、第5波及び第7波では、新たな点変異を獲得したウイルス株の増加割合と新規感染者数の増加が呼応しており、SNP 変異解析は流行初期のウイルス株の変化を捕捉するのに有用であった。第6波では、主に2系統のウイルスがゲノム解析で検出されたが、2領域(L452R 及び T547K)で SNP 変異解析を実施したことで流行しているウイルスを早期に捕捉することができた。第8波では、複数の系統のウイルスが検出されたが、L452R 変異の有無により、系統が推測でき、流行しているウイルスを早期に捕捉することができた。

今後も、新型コロナウイルスは新たな変異を獲得し続けると考えられており、感染力や免疫逃避、抗ウイルス剤感受性に影響する変異を早期に捕捉するため継続的なウイルスゲノムの監視が重要と考えられる。

謝辞

新型コロナウイルス検査対応に協力頂いた医療機関及び関係各所の皆様に感謝致します。

参考文献

- 1) World Health Organization. “Weekly epidemiological update on COVID-19 - 11 May 2023”. WHO. 2023. <https://www.who.int/publications/m/item/weekly-epidemiological-update-on-covid-19---11-may-2023>
- 2) 厚生労働省オープンデータ データから

わかる - 新型コロナウイルス感染症情報 - : <https://covid19.mhlw.go.jp/>

- 3) 厚生労働省新型コロナウイルス感染症対策推進本部, 新型コロナウイルス感染症に関する検査数等の報告について(依頼), 令和3年2月16日事務連絡
- 4) 厚生労働省健康局結核感染症課長, 新型コロナウイルス感染症の積極的疫学調査における検体提出等について(要請), 令和3年6月4日一部改正
- 5) 厚生労働省健康局結核感染症課長, 新型コロナウイルス感染症の積極的疫学調査における検体提出等について(要請), 令和3年12月2日一部改正
- 6) 国立感染症研究所: 病原体検出マニュアル 2019-nCoV 検査マニュアル Ver. 2.1
- 7) 国立感染症研究所: リアルタイム one-step RT-PCR 法による SARS-CoV-2 Spike N501Y 変異の検出 (暫定版 v2)
- 8) Takemae N, Doan YH, Momose F, Saito T, Kageyama T: Development of New SNP Genotyping Assays to Discriminate the Omicron Variant of SARS-CoV-2. *Japanese Journal of Infectious Diseases* 75(4): 411-414, 2022
- 9) 国立感染症研究所: 新型コロナウイルスゲノム解析マニュアル Qiagen 社 QiaSEQ FX 編
- 10) O’Toole Á, Scher E, Underwood A, Jackson B, Hill V, McCrone JT, Colquhoun R, Ruis C, Abu-Dahab K, et al: Assignment of epidemiological lineages in an emerging pandemic using the pangolin tool. *Virus Evolution* 7(2):1-9, 2021
- 11) Aksamentov I, Roemer C, Hodcroft EB, Neher RA: Nextclade: clade assignment, mutation calling and quality control for viral genomes. *Journal of Open Source Software* 6(67):3773, 2021

Laboratory diagnosis of SARS-CoV-2 and virus variants detection by SNP assays and whole genome sequencing in Aichi Prefecture

Masakazu Suzuki, Emi Hirose, Hirokazu Adachi, Noriko Saito, Hiroko Minagawa, Hitomi Niimi, Yuki Suwa, Fumio Aoyama, Shinji Takahashi, Mayuka Miyamoto, Fumitaka Tani, Takeyasu Nakamura, Yuko Mizutani, Yuka Setoyama, Tomochika Saito, Honami Sato, Miyabi Ito, Yoshihiro Yasui, Masakado Matsumoto, Katsuhiko Sato

Regarding the coronavirus infectious disease 2019 (COVID-19), we have kept detecting the causative virus (SARS-CoV-2) since the first case in Aichi Prefecture in January 2020. Until January 2021, i.e., before the appearance of the variants which are more infectious and possibly more virulent than the original (index) strain, we had focused on the detection of SARS-CoV-2. The prior mission of our laboratory, however, shifted to the detection of new variants utilizing single nucleotide polymorphism (SNP) assays and whole genome sequencing. During the fourth wave of COVID-19, SNP assay discriminating N501Y mutation of S (spike) protein, which is characteristic of Alpha variants, was performed. Alternatively, SNP assay for L452R mutation to discriminate Delta variants was utilized in the fifth wave. As the emergence of the two Omicron variants in the sixth wave, SNP assays for L452R and T547K were applied to distinguish them. Following the seventh wave, L452R assay was applied to discriminate new Omicron variants from older ones. Moreover, next generation sequencer (NGS) analysis was introduced to obtain the entire genome information of the variants after the fifth wave. Finally, both results of SNP Assays and NGS analysis are compared to determine if SNP assay alone sufficiently detected the emergence of new variants. As a result, the results of both assays were highly consistent in each wave. In addition to the high consistence, SNP Assay had an advantage to obtain the results more rapidly with higher cost-performance than NGS analysis. In conclusion, these SNP assays were particularly useful in monitoring emerging variants, especially during the early stage of each epidemic wave.

Key words : coronavirus infectious disease 2019 (COVID-19), SARS-CoV-2, single nucleotide polymorphism (SNP) assay, whole genome sequencing

調 査 研 究

2016年から2020年に愛知県内で分離された結核菌の VNTR (Variable Numbers of Tandem Repeats) 法における遺伝子型

山田和弘、松田達也、青木美耶子¹、中根衣久美²、白鳥浩美¹、齋藤典子、安井善宏
¹(現所属)衣浦東部保健所、²(現所属)生活衛生課

要 旨

結核菌の分子疫学解析法として国内で汎用されている VNTR (Variable Numbers of Tandem Repeats) 法 JATA12 領域の結果から、愛知県内で分離された結核菌における JATA12 各領域の傾向及び遺伝子型分布状況を調査すると共に遺伝系統の推定を行った。2016年9月から2020年9月の間に当所に搬入された結核菌 1,534 株は JATA12 VNTR で 963 遺伝子型 (Simpson's Diversity Index:0.996) に識別された。推定遺伝系統は北京型が 1,019 株 (66.4%)、非北京型が 462 株 (30.1%)、型別不能が 53 株 (3.5%) であり、北京型株 1,019 株の内訳は祖先型 (ST11/26、ST25/19、ST3 及び STK) が 790 株 (77.5%)、新興型 (Modern) が 229 株 (22.5%) であった。これは、他地域と同様の結果であり、人口や蔓延状況に関わらず、国内で分離される結核菌の遺伝系統は、依然として北京型かつ祖先型が主流であると考えられた。また、同一遺伝子型が 20 株以上検出された 3 遺伝子型 計 131 株について、追加 12 領域の反復数を算出したところ、搬入年度が 3 年度以上離れていたのは 2 遺伝子型 7 株であった。搬入年度が離れているにも関わらず同一遺伝子型になった株は、未知の感染経路探知のため、より詳細な解析を行う必要があるが、JATA12 領域と追加 12 領域の結果から同一遺伝子型株に対する疫学調査の実施は、伝播経路推定に繋がる可能性が示唆された。

キーワード：結核菌、Variable Numbers of Tandem Repeats (VNTR)、SDI、推定遺伝系統

序 文

結核は結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) による感染症であり、世界的に公衆衛生上の重要な問題となっている。日本における結核患者発生報告は近年減少傾向にあるものの、2021年には11,519人の新たな結核患者が報告されており¹⁾、結核患者のさらなる減少を進めるには、分子疫学的手法の積極的な活用が重要である²⁾。結核菌の分子疫学解析法として国内で汎用されているのが、VNTR (Variable Numbers of Tandem

Repeats) 法である。VNTR 法は結核菌 DNA に存在する 50-100 bp を単位として繰り返される「繰り返し配列の数」を菌株間で比較することにより菌株の異同を判定する方法である。結果を数値で表記できるので、他の検査機関や過去のデータと結果を容易に比較でき、データの保存も簡単である。標的となる VNTR 領域は多数存在するが、愛知県では、2016年9月から2020年9月まで「愛知県結核菌の遺伝子型別検査事業」において、JATA12 領域を対象とした VNTR 法

による解析を実施してきた。JATA12 領域は日本を含む東アジアで多く分布している「北京型株」で分解能が高い領域の組み合わせであり、疫学的リンクがある患者間の感染源調査では、概ね菌株の異同を判断できるとされている。その一方、特定の地域で高頻度に出現する VNTR 型に注意が必要となることも知られている³⁾。そこで、愛知県内で分離された結核菌の JATA12 領域の傾向及び遺伝子型分布状況を把握するため、2016 年 9 月から 2020 年 9 月の間に当所へ搬入された株の JATA12 VNTR を解析すると共に、その遺伝子型から遺伝系統を推定した。また、JATA12 領域で同一遺伝子型となった株について、追加 12 領域の反復数を算出し、クラスターの精査を実施したので報告する。

方 法

供試菌株：2016 年 9 月から 2020 年 9 月までに愛知県 12 保健所から搬入された結核菌 1,534 株を用いた。

DNA 抽出法：供試菌を滅菌蒸留水 200 μ L に懸濁し、100 $^{\circ}$ C で 10 分間加熱後、13,000 rpm で 10 分間遠心分離し、その上清を DNA テンプレートとした。

JATA12 VNTR 解析：各領域のプライマーは結核菌 VNTR ハンドブック¹¹⁾に従った。反応液組成は 10 μ L 中に、GC buffer I、0.25 mM dNTP、0.45 μ M プライマー、0.25 U TaKaRa Ex Taq Hot Start Version (TaKaRa Bio、Japan)、DNA テンプレート 2 μ L を含むように調製した。PCR 反応条件は 94 $^{\circ}$ C 5 分の後、94 $^{\circ}$ C 30 秒、63 $^{\circ}$ C 30 秒、72 $^{\circ}$ C 1 分 30 秒を 1 サイクルとし、35 サイクル反応させた。その後、72 $^{\circ}$ C 7 分の最終伸長反応を行い、次の作業まで 15 $^{\circ}$ C で保温した。なお、JATA3 及び JATA5 の 2 領域については、アニーリング温度を 60 $^{\circ}$ C に変更した。得られた PCR 産物を 5 から 20 倍に希釈し、QIAxcel Advanced (QIAxcel DNA High Resolution Kit、QX AlignmentMarker 15 bp/3 kb (QIAGEN、Germany)) を用い、泳動条件 OM1700 にて泳動後、PCR 産物の分子量から各領域の反復数を算出した。なお、PCR 産物が確認できなかった場合

は、「増幅せず」と判定し、QIAxcel Advanced の解像度を超越判定が困難だった場合は、「判定不能 (99)」と判定した。

追加領域 VNTR 解析：JATA12 VNTR 解析において同一遺伝子型が 20 株以上検出された 3 遺伝子型 131 株に対し、JATA15 領域に含まれる 3 領域 (QUB-18、QUB-11a、ETR A)、超多型領域 3 領域 (QUB 3232、VNTR 3820、VNTR 4120) 及び Supply15 領域に含まれる 6 領域の計 12 領域について、追加の解析を実施した。抗酸菌検査ガイド 2020⁴⁾に記載のプライマーを用い、PCR 酵素は Sapphire Amp Fast PCR Master Mix (TaKaRa Bio、Japan) を使用し、瀬戸らの報告に従い PCR を実施した⁶⁾。QUB 18、QUB 3232、VNTR 3820 及び VNTR4120 の 4 領域は得られた増幅産物を 10-20 倍希釈し、Hi-Di ホルムアミド (Thermo Fisher Scientific、USA) (10 μ L/検体) 及び GeneScan1200LIZ (Thermo Fisher Scientific、USA) (0.5 μ L/検体) の混合液に 1.5 μ L 添加し、99 $^{\circ}$ C 5 分加熱後、氷上で 5 分間急冷し、3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific、USA) にてフラグメント解析を実施し、GeneMapper (Thermo Fisher Scientific、USA) で反復数を同定した。上記 4 領域以外の 8 領域は JATA12 VNTR 解析と同様の解析を行い、各領域の反復数を算出した。

遺伝子系統の推定：JATA12 VNTR 結果を基に、瀬戸らの方法¹³⁾に従い、「結核菌反復配列多型 (VNTR) パターンから遺伝系統を推定するための最大事後確率 (MAP) 推定法マクロプログラム」を用い、遺伝系統型の推定を実施した。

菌株識別能の評価：全ての領域においてリピート数が一致した株を同一遺伝子型と判定し、Simpson's Diversity Index (SDI) を算出した⁸⁾。また JATA12 各領域についても同様に SDI を算出した。

Minimum Spanning Tree (MST) 解析：VNTR 24 領域の結果を基に、MLVA 情報集計・可視化システム MLVA-mate⁹⁾を用いて、搬入年度ごとの遺伝子型の異同を可視化した。

結 果

結核菌 1,534 株は JATA12 VNTR で 963 遺

伝子型 (SDI:0.996) に識別された (表 1)。最も多く検出された遺伝子型は、遺伝子型 1「3-3-3-4-7-3-7-5-5-7-2-5」(72 株、4.7%) であり、搬入年度ごとの検出割合も 2016 年度から 2019 年度まで最も多い遺伝子型であった。次いで、遺伝子型 2「4-1-3-2-7-4-7-4-5-7-8-5」(36 株、2.3%)、遺伝子型 3「4-3-4-3-6-3-7-4-5-7-8-3」(23 株、1.5%) の順に多く検出された。

推定遺伝系統は北京型が 1,019 株(66.4%)、非北京型が 462 株(30.1%)、型別不能が 53 株(3.5%)であった (表 2)。北京型株 1,019 株は更に祖先型 (ST11/26、ST25/19、ST3 及び STK) 790 株 (77.5%)、新興型 (Modern) 229 株 (22.5%) に分類された。祖先型の ST は ST25/19、ST3、STK、ST11/26 の順に分離頻度が高く、2016 年から 2020 年の全ての搬入年度において、分離株の推定遺伝系統の傾向は、ほぼ同様であった。

各領域の識別能を表 3 に示す。JATA5 が型数 13(SDI:0.85) で最も多様度が高く、JATA8 が型数 8 (SDI:0.41) と最も多様度が低い結果となった。各領域で最も多く検出された反復数は、JATA1 が反復数 4(767、50.0%)、JATA2 が反復数 3 (835、54.4%)、JATA3 が反復数 3(791、51.6%)、JATA4 が反復数 3(855、55.7%)、JATA5 が反復数 7 (398、25.9%)、JATA6 が反復数 3 (788、51.4%)、JATA7 が反復数 7(805、52.5%)、JATA8 が反復数 4(1151、75.0%)、JATA9 が反復数 5 (886、57.8%)、JATA10 が反復数 7 (958、62.5%)、JATA11 が反復数 8 (621、40.5%)、JATA12 が反復数 5 (577、37.6%) であり、JATA5、JATA11 及び JATA12 を除く 9 領域で半数以上が同一の反復数となっていた。また、PCR 増幅産物が検出されなかった株が最も多かったのは JATA5 (53 株、3.5%) であり、判定不能株が最も多かったのは JATA11(43 株、2.8%) であった。

表 1 各年度の JATA12 VNTR 検出状況

遺伝子型	JATA12 VNTR	Bj/nBj	Sequence type(ST)	各年度搬入株数					総計
				2016	2017	2018	2019	2020	
1	3-3-3-4-7-3-7-5-5-7-2-5	Bj	ST25/19	19	15	19	14	5	72
2	4-1-3-2-7-4-7-4-5-7-8-5	Bj	ST3	3	7	6	14	6	36
3	4-3-4-3-6-3-7-4-5-7-8-3	Bj	Modern	7	3	7	4	2	23
4	4-1-3-2-6-4-7-4-5-7-8-5	Bj	ST3	4	6	5	4	0	19
5	4-2-4-3-6-1-7-4-5-7-8-3	Bj	Modern	2	6	2	5	1	16
6	4-3-3-3-7-3-7-4-5-7-8-5	Bj	ST25/19	4	4	5	3	0	16
7	4-3-4-3-5-3-7-4-5-7-8-3	Bj	Modern	3	4	4	3	1	15
8	1-4-9-3-9-1-2-4-4-7-7-2	nBj	-	1	5	5	2	0	13
9	3-3-3-4-11-3-7-5-5-7-2-5	Bj	ST25/19	3	3	6	0	1	13
10	4-3-3-3-3-6-4-3-7-7-4	Bj	STK	3	5	3	1	1	13
11	1-4-9-3-8-1-2-4-4-7-7-2	nBj	-	0	3	6	1	1	11
12	4-1-3-2-6-4-7-4-5-4-8-5	Bj	ST3	2	1	1	6	1	11
951 遺伝子型		-	-	246	284	289	335	122	1,276
総計				297	346	358	392	141	1,534

Bj: 北京型、nBj: 非北京型

表 2 JATA12 VNTR 結果から推定される遺伝系統

搬入年度	北京型					小計	非北京型	型別不能	総計
	ST11/26	ST25/19	ST3	STK	Modern				
2016	5	68	49	27	51	200	85	12	297
2017	8	79	63	32	43	225	110	11	346
2018	7	86	60	38	52	243	101	14	358
2019	4	69	79	40	65	257	125	10	392
2020	4	27	35	10	18	94	41	6	141
総計	28	329	286	147	229	1,019	462	53	1,534

表3 JATA12 VNTR 各領域の反復数分布状況及び SDI

	JATA12 VNTR 領域 JATA No.											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
型数	11	11	15	6	13	9	13	8	9	17	13	9
SDI	0.67	0.65	0.68	0.60	0.85	0.67	0.68	0.41	0.60	0.60	0.77	0.72
反復数												
増幅せず	2	2	13	1	53	7	0	0	3	6	6	3
0	3	1	25	0	0	0	1	0	0	0	0	0
1	135	282	140	66	14	157	70	3	4	7	3	9
2	342	147	185	383	153	262	130	145	77	5	187	184
3	255	835	791	855	219	788	19	46	303	8	38	485
4	767	167	245	223	140	274	57	1151	222	49	50	260
5	23	61	22	6	143	31	226	181	886	40	91	577
6	4	7	8	0	272	11	116	5	34	45	102	14
7	1	6	16	0	398	3	805	2	3	958	283	1
8	0	23	13	0	70	1	80	0	2	81	621	1
9	1	0	59	0	45	0	20	1	0	38	89	0
10	0	0	6	0	1	0	8	0	0	104	15	0
11	0	0	2	0	18	0	1	0	0	53	6	0
12	0	0	1	0	0	0	0	0	0	52	0	0
13	0	0	0	0	0	0	1	0	0	29	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	21	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0
判定不能	1	3	8	0	8	0	0	0	0	27	43	0

「増幅せず」及び「判定不能」も1つの型として計数した

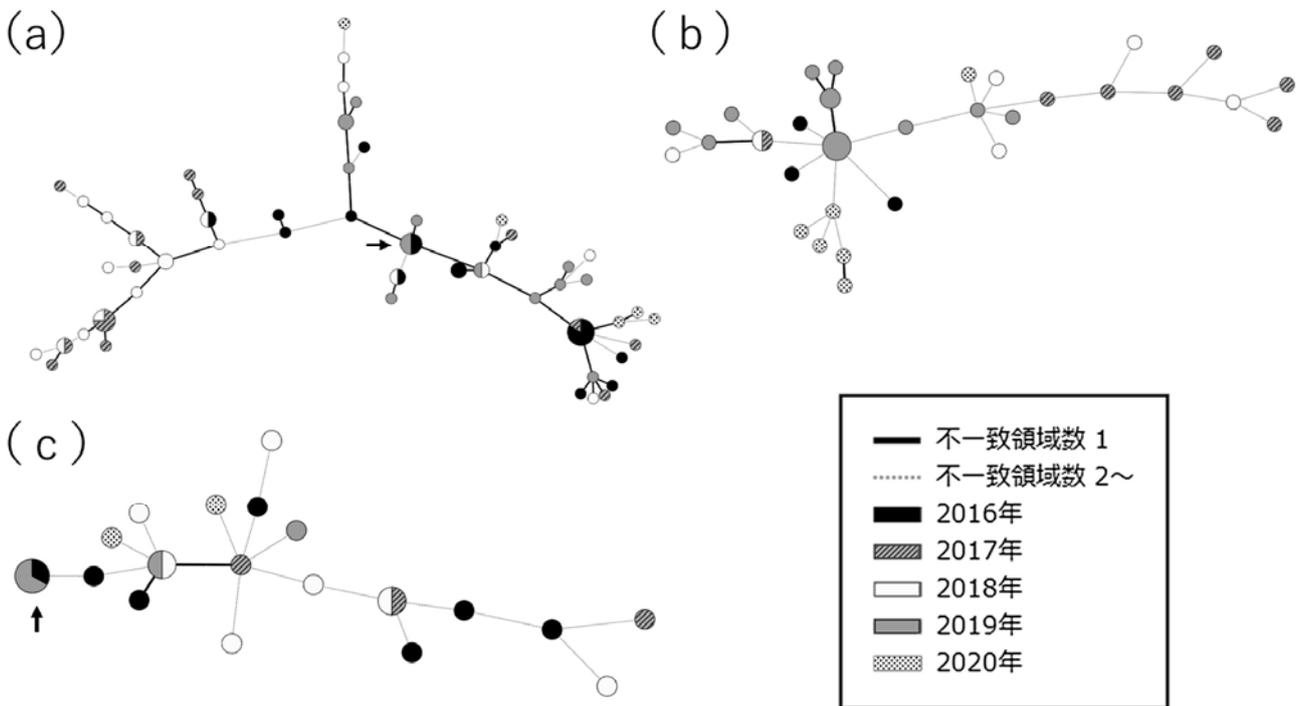


図 JATA24 VNTR を用いた搬入年度別遺伝子型の Minimum Spanning Tree (MST)

実線で結ばれた円は1領域違いを、破線で結ばれた円は2領域以上異なることを表している。また円の大きさは分離株数を、色は搬入年度を示している。(a) 遺伝子型1「3-3-3-4-7-3-7-5-5-7-2-5」、(b) 遺伝子型2「4-1-3-2-7-4-7-4-5-7-8-5」、(c) 遺伝子型3「4-3-4-3-6-3-7-4-5-7-8-3」

JATA12 VNTR で多く検出された 3 遺伝子型 131 株 (表 1) について、詳細な情報を得るために、追加領域解析を実施したところ、遺伝子型 1 72 株は 53 遺伝子型に、遺伝子型 2 36 株は 31 遺伝子型に、遺伝子型 3 23 株は 19 遺伝子型に細分化され、同一遺伝子型は、ほぼ搬入年度内に収まっていた (図)。搬入年度が 3 年度以上離れていたのは、遺伝子型 1 の 1 遺伝子型 (3-3-3-4-7-3-7-5-5-7-2-5-10-8-4-9-12-11-3-3-2-4-4-4) 4 株 (2016 年度 2 株、2019 年度 2 株) (図 (a) 矢印) 及び遺伝子型 3 の 1 遺伝子型 (4-3-4-3-6-3-7-4-5-7-8-3-8-8-4-12-99-14-3-3-2-4-3-4) 3 株 (2016 年度 1 株、2019 年度 2 株) のみであった (図 (c) 矢印)。

考 察

網羅的に収集した菌株の異同判定、つまりサーベイランスの場合には実地疫学による事前情報が無い。JATA12 VNTR では菌株識別能が低く、非常に多くの患者から同一型別株が分離されるため、分析する領域を追加して分解能を高める必要があると考えられていた²⁾。しかし、今回、2016 年 9 月から 2020 年 9 月の間に当所へ搬入された結核菌 1,534 株は JATA12 VNTR で 963 遺伝子型 (SDI 0.996) に識別されたことから、蔓延地域における、JATA12 VNTR はサーベイランスの使用に耐えうる菌株識別能があると考えられた。各領域の多様度は JATA5 及び JATA11 が高く、JATA4、JATA7、JATA9 及び JATA10 が中程度、JATA1、JATA2、JATA3、JATA6、JATA8 及び JATA12 が低いとされている^{18、19)}。しかし、今回中程度の多様度があるとされている領域 (JATA4、JATA9 及び JATA10) の多様度は、多様度が低いとされている領域 (JATA1、JATA2、JATA3、JATA6 及び JATA12) の多様度よりも低かったことから、調査する年代により、菌株識別に有効な領域が変遷していると考えられる。

国内で分離される結核菌株の遺伝子系統は、地域に関わらず約 7~8 割が「北京型結核菌」に属するとされている¹²⁾。また、北京型は祖先型と新興型に分類され、新興型が世界的に蔓延しているのに対し、日本に

おいては祖先型の占める割合が多い¹⁾。国内における最近の報告によると、香川県 (2020-2021 年) では北京型が 67.9% (36 株、祖先型: 80.6% (29 株)、新興型: 19.4% (7 株))、非北京型が 32.1% (17 株)¹⁵⁾、茨城県 (2017-2018 年) では北京型が 60.3% (161 株、祖先型: 69.6% (112 株)、新興型: 30.4% (49 株))、非北京型が 33.3% (89 株)、型別不能が 6.4% (17 株)¹⁶⁾、石川県 (2016-2019 年) では北京型が 73.5% (125 株、祖先型: 83.2% (104 株)、新興型: 16.8% (21 株))、非北京型が 26.5% (45 株)¹⁷⁾ であった。今回の愛知県の結果 (北京型が 66.4% (1,019 株、祖先型: 77.5% (790 株)、新興型: 22.5% (229 株))、非北京型が 30.1% (462 株)、型別不能が 3.5% (53 株)) も他地域と同様の結果であり、人口や蔓延状況に関わらず、国内で分離される結核菌の遺伝系統は、依然として北京型かつ祖先型が主流であると考えられた。

超多型領域 (QUB-18, QUB-3232, VNTR 3820, VNTR 4120) を分析対象に含む 24 領域分析法 (JATA12 領域と追加 12 領域) は、結核の伝播状況をより正確に推定できる⁷⁾。今回も追加領域解析により、JATA12 VNTR で同一遺伝子型となった株が細分化され、ほぼ搬入年度毎に同一遺伝子型が検出された。罹患率が低下し、分析対象数が少なくなった場合には、追加領域解析を含めた型別一致から未知の伝播経路を推定し、実地疫学調査にフィードバックさせる試みも可能になると期待されている¹⁴⁾。今回の結果から、分析対象数に関係なく、同一年度に分離された 24 領域分析同一遺伝子型株における疫学調査の実施により、伝播経路推定につながる可能性が示唆された。また、腸管出血性大腸菌の菌株識別も、同様の分子疫学解析法である Multiple-Locus Variable-number tandem repeat Analysis (MLVA) 法が使用されるが、分離年の違う株は、MLVA 結果が同一の株であっても、一塩基多型 (SNP) が多く存在していることが報告されている¹⁰⁾。そのため、結核菌の場合も同様に、搬入年度が離れているにも関わらず同一遺伝子型になった株は、全ゲノム解析による SNP 解

析等のより詳細な解析を行い、菌株の同一性を考慮していく必要があると考えられる。

結核菌の分子疫学解析をサーベイランスとして実施することで、未知の感染経路の探知につながる可能性が示唆できた。愛知県では、2020年10月以降に搬入された結核菌全株に対して、JATA12領域に今回実施した12領域を加えた24領域を解析対象としたVNTRを実施している。引き続き県内の菌株を解析し、動向を把握していきたい。

参考文献

- 1) 公益財団法人結核予防会結核研究所疫学情報センター：2021年結核年報．2022.
- 2) 加藤誠也，瀧井猛将，大角晃弘，藤山理世，玉井清子，岩本朋忠，村瀬良朗，瀬戸順次，阿彦忠之：結核分子疫学調査の手引き第一版，2017.
- 3) 前田伸司，村瀬良朗，御手洗聡，菅原勇，加藤誠也：国内結核菌型別のための迅速・簡便な反復配列多型(VNTR)分析システム—JATA(12)-VNTR分析法の実際—．結核 83(10):673-678，2008.
- 4) 抗酸菌検査ガイド2020．日本結核・非結核性抗酸菌症学会，南江堂
- 5) 和田崇之，長谷篤：結核菌の縦列反復配列多型(VNTR)解析に基づく分子疫学とその展望—大阪市の例．結核 85(12):845-852，2010.
- 6) Seto J, Wada T, Suzuki Y, Ikeda T, Mizuta K, Mitarai S, Ahiko T: Convenient PCR method for variable-number tandem-repeat typing of *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates. *Journal of Microbiological Methods* 139:12-14, 2017.
- 7) Murase Y, Izumi K, Ohkado A, Aono A, Chikamatsu K, Yamada H, Igarashi Y, Takaki A, Mitarai S: Prediction of local transmission of *Mycobacterium tuberculosis* isolates of a predominantly Beijing lineage by use of a variable-number tandem-repeat typing method incorporating a consensus set of hypervariable loci. *Journal of Clinical Microbiology* 56:e01016-17, 2018.
- 8) Hunter PR, Gaston MA: Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. *Journal of Clinical Microbiology* 26(11):2465-2466, 1988.
- 9) 南須原亮，灘岡陽子，草深明子，石川貴敏，安中めぐみ，三宅啓文，横山敬子，貞升健志：MLVA(VNTR)情報の集計・可視化システムMLVA-mateの開発．東京都健康安全研究センター年報 69:279-284，2018.
- 10) Lee K, Izumiya H, Iyoda S, Ohnishi M: Effective Surveillance Using Multilocus Variable-Number Tandem-Repeat Analysis and Whole-Genome Sequencing for Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157. *Applied and Environmental Microbiology* 85(17): Issue 17 e00728-19, 2019.
- 11) 地研協議会 保健情報疫学部会 マニュアル作成ワーキンググループ編．2012．結核菌 VNTR ハンドブック
- 12) 地方衛生研究所全国協議会ホームページ：地研協議会保健情報疫学部会マニュアル作成ワーキンググループ編：結核菌 VNTR ハンドブック 追補版，2014年3月
- 13) Seto J, Wada T, Iwamoto T, Tamaru A, Maeda S, Yamamoto K, Hase A, Murakami K, Maeda E, Oishi A, Migita Y, Yamamoto T, Ahiko T: Phylogenetic assignment of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing clinical isolates in Japan by maximum a posteriori estimation. *Infection, Genetics and Evolution* 35: 82-88, 2015.
- 14) 瀬戸順次，阿彦忠之，和田崇之，長谷篤，山田敬子：結核低蔓延地域における網羅的な結核菌反復配列多型(VNTR)分析の有用性．結核 88(6):535-542，2013.
- 15) 目黒響子，岩下陽子，関和美，福田千恵美：香川県内で分離された結核菌の分子疫学(VNTR)調査(2020-2021)．香川県環境保健研究センター所報 21:75-78，2022.
- 16) 中本有美，海野友梨，相原義之，木澤千里，山城彩花，小川郁夫，岩間貞樹：茨城県における結核菌分子疫学解析実施報告(平成29年-平成30年)．茨城県衛生研究所年報 57:34-37，2019.

- 17) 児玉洋江、小坂 恵、木村恵梨子、塩本高之、北川恵美子、谷村睦美、出雲和彦、金戸恵子：石川県で分離された結核菌株の VNTR 分析を用いた分子疫学的解析. 日本臨床微生物学会雑誌 31(1):27-32, 2021.
- 18) Iwamoto T, Fujiyama R, Yoshida S, Wada T, Shirai C, Kawakami Y. Population structure of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing strains during past decades in Japan. *Journal of Clinical Microbiology* 47:3340-3343, 2009.
- 19) Wang J, Liu Y, Zhang CL, Ji BY, Zhang LZ, Shao YZ, Jiang SL, Suzuki Y, Nakajima C, Fan CL, Ma YP, Tian GW, Hattori T, Ling H: Genotypes and characteristics of clustering and drug susceptibility of *Mycobacterium tuberculosis* isolates collected in Heilongjiang Province, China. *Journal of Clinical Microbiology* 49:1354-1362, 2011.

Genotyping of *Mycobacterium tuberculosis* isolated in Aichi Prefecture from 2016 to 2020 by variable numbers of tandem repeats method

Kazuhiro Yamada, Tatsuya Matsuda, Miyako Aoki¹, Ikumi Nakane²,
Hiromi Shiratori¹, Noriko Saito, Yoshihiro Yasui

¹Present affiliation: Kinuura-Tobu Health Center, ²Present affiliation: Environmental Health Division, Environmental Health Department, Aichi Prefectural Government

We investigated the prevalence of *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) genotypes in Aichi Prefecture from 2016 to 2020, using the variable numbers of tandem repeats method at the JATA 12 loci (JATA12-VNTR). Our analysis revealed that 1534 MTB isolates represented 963 distinct genotypes (Simpson's Diversity Index: 0.996). Notably, the Beijing genotype was predominant, constituting 66.4% (1019/1534). Within the Beijing genotype, 790 isolates belonged to the ancient Beijing subfamily (ST11/26, STK, ST3, and ST25/19), while 229 isolates were classified under the modern Beijing subfamily. These results indicate that the Beijing genotype, especially the ancient Beijing subfamily was the predominant genetic lineages in Aichi Prefecture.

In addition, we applied a further 12 loci VNTR analysis of three genotypes comprising more than 20 isolates with the same JATA12-VNTR genotype detected. A comparison of the year of isolation of these isolates showed that most isolates of the same genotype were classified in the same year of isolation, but seven isolates were more than three years apart. Although more detailed analysis of isolates of the same genotypes with different years of isolation is needed, it is suggested that epidemiological studies on the same genotype of JATA12-VNTR and the additional 12 loci could lead to an estimate of MTB transmission.

Key words : *Mycobacterium tuberculosis*, variable numbers of tandem repeats (VNTR), Simpson's Diversity Index, Predicted genetic lineage

調 査 研 究

愛知県内で漁獲されたしらす加工品に混入したフグ稚魚の 種判別および毒性評価

山本奈緒、長谷川晶子、安井善宏

要 旨

近年、しらす加工品にフグ稚魚が混入し食の安全性が問題となる事案が全国的に発生している。しかし、混入したフグ稚魚の種判別やその毒性についての報告は少なく、愛知県内で漁獲されたものについての調査データはない。しらす加工品の安全性評価の一助とすることを目的に、県内で2020年から2022年に加工されたしらす加工品に混入したフグ稚魚の種判別および毒性調査を行った。実体顕微鏡下での形態分類と16S rRNA 遺伝子、cytochrome *b* 遺伝子および cytochrome *c* 遺伝子の部分塩基配列を解析した結果、試料154個体のうち、シロサバフグ(146個体)、カナフグ(5個体)、クロサバフグ(1個体)、センニンフグ(1個体)、サザナミフグ(1個体)を同定した。LC-MS/MSを用いてシロサバフグ、カナフグ、クロサバフグ、センニンフグ、サザナミフグのテトロドトキシン(TTX)を測定したが、いずれの個体からもTTXの保持時間(10.8分)にピークは認められず、TTXは検出されなかった。

キーワード：しらす加工品、フグ、稚魚、テトロドトキシン、種判別

序 文

しらすはカタクチイワシ、マイワシ、イカナゴ、ウナギなどの稚魚の総称である。イワシ類の稚魚が主体であるしらす加工品は、船びき網漁法で捕獲するため、しらす以外の魚や甲殻類、頭足類およびその幼生が混入することが珍しくない¹⁾。

厚生労働省は昭和58年(最終改正令和3年)通知の「フグの衛生確保について」で、通知で示された可食部位、漁獲海域以外のフグの販売等が認められないとしており²⁾、未処理のフグの販売は食品衛生法第6条第2号違反と判断される。また、全国で豆アジやしらす加工品にフグの稚魚が混入し回収する事例が報告されたことを受け、平成26年に同省は「フグによる食中毒防止の注意

喚起について」の事務連絡を各自治体に発出し、フグ混入事例への対応強化を求めた³⁾。しらす加工品は製造過程でしらす以外の生物を除去する工程はあるものの、しらす加工品等にフグ稚魚が混入した場合は前述の通知により回収することとなり製造・販売業者の負担が大きい。しらす漁獲量が全国2位と上位である愛知県内でも混入事例が複数報告されている。

フグ毒テトロドトキシン(以下 TTX)は主にフグ科魚類が有し、骨格筋や神経の膜電位依存性ナトリウムイオンチャンネルに結合し神経伝達を遮断する神経毒である。フグ毒による中毒症状は短時間でしびれや麻痺症状が現れ、重症の場合は呼吸困難で死亡することがある⁴⁾。フグの毒力はフグの種

類や臓器によって異なるほか、同一種類でも個体によって異なり、季節や漁獲海域によって異なる場合もある。一方、フグの毒力が 10 MU/g 以下の場合、食用に供してもヒトの健康を損なう恐れはないとされている⁵⁾。一般に卵巣、肝臓は毒力が強いとされており、TTX を持つ有毒卵から孵化したフグ稚魚には卵の TTX が保持されているという報告もある⁶⁾。しかし、しらす加工品に混入したフグの稚魚の種判別やその毒性についての報告は少なく、愛知県内で漁獲されたものについて報告された調査データはない。

本研究では、しらす加工品の安全性評価の一助とすることを目的に、県内で漁獲されたしらす加工品に混入したフグ稚魚の種判別および毒性調査を行った。

材料と方法

1. 試料

愛知県内で 2020 年から 2022 年に水揚げ、加工され、しらす加工品に混入したフグの稚魚と推定され愛知県水産試験場より供与されたものを試料とした。同一日に水揚げされたものを 1 つのロットとして、27 ロット (No. 1-27) 154 個体を実験に供した。試料は使用するまで -30℃ で冷凍保存した。

2. 方法

1) 魚種判別

フグ稚魚と推定された試料 154 個体を形態学的に分類した。成書を参考に体色のパターン、背側および腹側の棘の有無や分布、尾鰭の色彩などの特徴を実体顕微鏡下で観察し、属レベルでの分類を行った^{6, 12)}。

次に通知試験法および既報^{7, 9)}に従って 1

個体ずつ DNA を抽出し、PCR (polymerase chain reaction) 法を用いて遺伝子を増幅した。PCR 増幅産物は DNA 直接塩基配列決定法によりフグ稚魚の種判別を行った。すなわち、各個体の筋肉部分を 25 mg 採取し、DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen, Germany) によって DNA を抽出した。フグの稚魚が 25 mg に満たない場合は全量使用した。16S rRNA 遺伝子部分領域、cytochrome *b* (*cyt b*) 遺伝子部分領域および cytochrome *c* (*cyt c*) 遺伝子部分領域を増幅する 3 種類のプライマーを使用し、PCR 反応には TaKaRa Ex Taq (TaKaRa Bio, Japan) を用いた。反応条件は通知試験法および既報から変更し、遺伝子領域ごとに表 1 のように設定した。PCR 反応産物を Wizard SV Gel and PCR Clean-up System (Promega, USA) を用いて精製した後、Big Dye Terminator Kit ver3.1 (Thermo Fisher Scientific, USA) を用いたダイレクトシーケンス法にて塩基配列を決定した。得られた塩基配列を、nucleotide BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) で検索し、通知に従い 99.0% 以上の相同性を有する配列を基に種を決定した。

2) LC-MS/MS による TTX の測定

魚種判別から同一種と判断されたフグ稚魚を試料として食品衛生検査指針理化学編に準じた酢酸加熱法で TTX を抽出した。試料が少量のため、試料重量に合わせ抽出液量を減らした。得られた上清を遠心チューブ型限外ろ過膜 (分画分子量 10,000 Ultrafree-MC, Millipore, USA) に通過させ、TTX 分析用試料として LC-MS/MS 法で行った。標準品は、富士フィルム和光純薬 (株) 製の TTX を使用した。

表 1 PCR 反応条件

反応	16S rRNA	Cytochrome <i>b</i>	Cytochrome <i>c</i>	サイクル数
Initial denaturation	-	94℃ 5分	94℃ 5分	1
PCR 反応	98℃ 10秒	94℃ 30秒	94℃ 30秒	
	55℃ 30秒	50℃ 1分	52℃ 40秒	35
	72℃ 30秒	72℃ 1分	72℃ 1分	
Extension	-	72℃ 10分	72℃ 10分	1

分析装置は LC-MS/MS (ACQUITY UPLC-Class/TQD, Waters, USA)、分析カラムは Atlantis HILIC Silica (3 μ m, 2.1 \times 150 mm, Waters, USA) を使用した。移動相は A: アセトニトリル、B: 0.1% ギ酸水溶液とし、初期値 A=90%、分析開始後 10 分で A=40% リニアグラジエントの測定条件で分析した。移動相の流速は 0.2 mL/min とし、検体を 5 μ L 注入した。TTX の検出はエレクトロスプレーイオン化法ポジティブモード、MRM (Multiple Reaction Monitoring) モードを採用し、プレカーサーイオンとして m/z 320、プロダクトイオンとして m/z 162 を用いた¹⁰⁾。

結果および考察

1) 形態分類による魚種判別

試料として用いたフグ稚魚の水揚げ時期は 5 月から 11 月で、154 個体のうち 140 個体が 30 mm 以下の小型サイズであった。稚魚の体長は平均 17.7 \pm 8.1 mm で、重量は平均 152 \pm 0.2 mg であった。実体顕微鏡下で観察し、属レベルでの分類を行ったところ、153 個体は体側に銀白色の縦帯が見られ、腹側は白色を呈していたことから、サバフグ属と分類した。そのうち 148 個体は体表に小棘が分布していたが、5 個体 (No. 10-1, 13-1, 14-1, 18-1, 26-16) は体表に小棘が見

られなかった。残り 1 個体 (No. 1-1) は体側には銀白色の縦帯が見られず、体表には小棘が見られたため、サバフグ属以外のフグと推測された。尾鰭の色彩は色が退色しているものも多く、色彩で分類するのは困難であった (図 1)。しらす加工品に混入したフグ稚魚は、加熱乾燥の工程を経ていることや、成魚の特徴を有していない場合もあることから、形態分類が困難なことが多く、魚種判別には遺伝子検査が欠かせないと考えられた。

2) 遺伝子解析による魚種判別

抽出した DNA を鋳型として、ミトコンドリア DNA の 16S rRNA, *cyt b* および *cyt c* 遺伝子領域を増幅するプライマーを用いて遺伝子増幅を行い、増幅産物を Nucleotide BLAST で検索した。通知試験法では 16S rRNA および *cyt b* 遺伝子領域のそれぞれに対して 99.0% 以上の塩基配列の相同性を示す魚種をその魚種と判定するとされている⁷⁾。本研究では、通知法で示された 2 領域に、多くの魚種の塩基配列の登録がすすめられている *cyt c* 遺伝子領域を加えた 3 領域の塩基配列を解析し、2 領域で同定できなかった場合、*cyt c* 遺伝子領域を追加判定に用いた。魚種の判定に利用した塩基配列の相同性を表 2-1, 2 に示した。

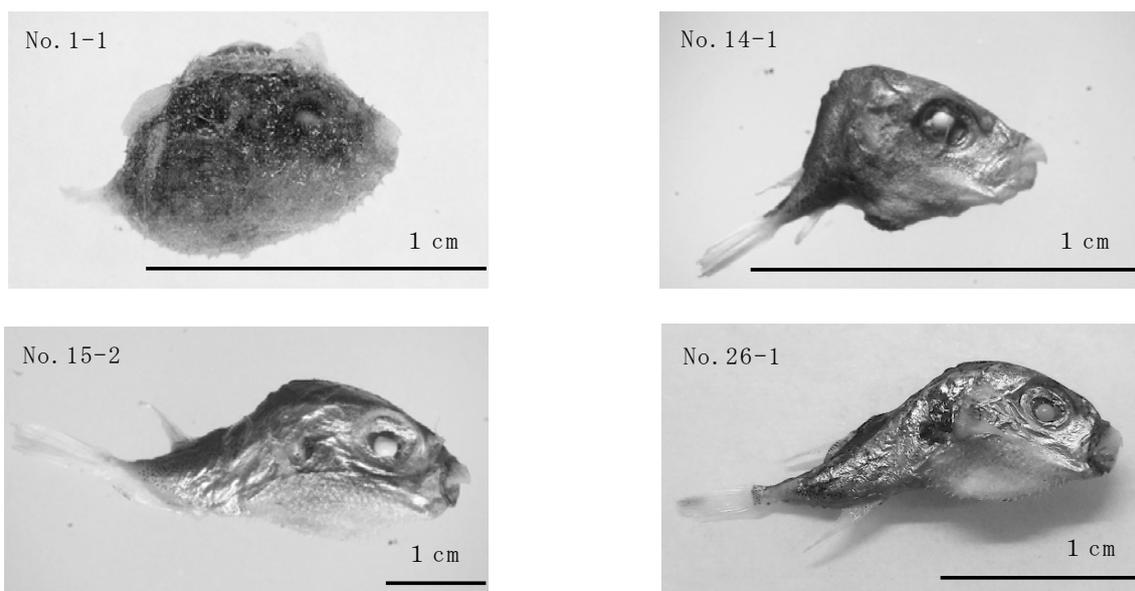


図 1 しらす加工品に混入したフグ稚魚

(No. 1-1: サザナミフグ、No. 14-1: カナフグ、No. 15-2: センニンフグ、No. 26-1: シロサバフグ；それぞれの名称は遺伝子解析に基づく)

表 2-1 遺伝子解析による魚種判別

Lot No.	16S rRNA	Cytochrome <i>b</i>	Cytochrome <i>c</i>	Fish species
	Concordance rate Identity (%)			Scientific name Japanese common name
1-1	572/574 99.7%	431/435 99%	644/648 99.4%	<i>Arothron hispidus</i> サザナミフグ
10-1	570/570 100%	430/435#	646/649#	<i>Lagocephalus inermis</i> カナフグ
13-1		434/435#	648/649#	
14-1	570/570 100%	410/423#	99.7-99.9%	<i>Takifugu vermicularis</i> ナシフグ
18-1		414/423#		
26-16		96.9-97.9%		
5 個体		408/423# 412/423# 96.5-97.4%		
11-1	569/569 100%	435/435 100%	652/652 100%	<i>Lagocephalus cheesemani</i> クロサバフグ
	568/569 99.8%	422/423 99.8%		<i>Takifugu oblongus</i> タキフグ
15-2	572/572 100%	※	652/652 100%	<i>Lagocephalus sceleratus</i> センニンフグ
			649/652 99.5%	<i>Lagocephalus lunaris</i> ドクサバフグ

サンプルと 95.0%以上の塩基配列の相同性を示した魚種のみを記載した。

空欄はサンプルとの相同性が 95.0%未満を示している。

同定した魚種を表中にハイライトで示した。

※：塩基配列の解析ができなかった。

#：相同性が異なる個体がある場合を示す。

表 2-2 遺伝子解析による魚種判別

Lot No.	16S rRNA	Cytochrome <i>b</i>	Cytochrome <i>c</i>	Fish species
	Concordance rate Identity (%)			Scientific name Japanese common name
1-2~ 27-1	542/542# 100%			
	546/546# 100%			
	545/548# 99.4%			
	548/549# 99.8%	415/415	645/647	<i>Lagocephalus spadiceus</i>
	565/568# 99.5%	100%	99.7%	シロサバフグ
	566/569# 99.4%			
146 個体	567/569# 99.7%			
	569/569# 100%			
	566/569 99.5%			<i>Lagocephalus inermis</i> カナフグ
		414/415 99.7%		<i>Takifugu rubripes</i> トラフグ
	556/569 97%	402/402 100%	645/647 99.7%	<i>Lagocephalus cheesemani</i> クロサバフグ

cyt b および *cyt c* 遺伝子領域の塩基配列は 4 個体のみ解析した。

サンプルと 95.0%以上の塩基配列の相同性を示した魚種のみを記載した。

空欄はサンプルとの相同性が 95.0%未満を示している。

同定した魚種を表中にハイライトで示した。

#：相同性が異なる個体がある場合を示す。

形態分類でサバフグ属以外のフグと推察した No.1-1 は、16S rRNA 遺伝子領域、*cyt b* 遺伝子領域のいずれの領域でもサザナミフグ (Accession No. AB742006, Accession No. AP019603) と 99.0% 以上の塩基配列の相同性を示し、他のフグ種では同等の相同性が認められなかったため(データ非表示)、サザナミフグ *Arothron hispidus* と判別した。

サバフグ属と分類し、体表に小棘が見られなかった 5 個体 (No. 10-1, 13-1, 14-1, 18-1, 26-16) は 16S rRNA 遺伝子領域でカナフグ (Accession No. KT718800)、ナシフグ (Accession No. KT718812) およびクマサカフグ (Accession No. KT718801) の塩基配列と 99.0% 以上の相同性を示した。*cyt b* 遺伝子領域ではカナフグ (Accession No. KT933000) と 99.0% 以上の相同性を示し、ナシフグ (Accession No. KT696365)、クマサカフグ (Accession No. KT696356) とは 99.0% 以下の相同性だった。しかし、カナフグとの比較において 99.0% 以下の塩基配列の相同性を示す個体もみられたため、*cyt c* 遺伝子領域の塩基配列を比較した。カナフグ (Accession No. KP266776) と 99.0% 以上の相同性を示し、他は 99.0% 未満であったため、カナフグ *Lagocephalus inermis* と判別した。

サバフグ属と分類し、体表に小棘が見られた 148 個体中 2 個体 (No. 11-1 と No. 15-2) は他の 146 個体と 16S rRNA の相同性が異なっていたため別に示す。No. 11-1 は 16S rRNA および *cyt b* 遺伝子領域で、クロサバフグ (2 領域ともに Accession No. MT903226) と 100% 一致したが、第 2 候補のタキフグ (Accession No. KT718808, Accession No. KT696361) と 1 塩基しか異なっていなかったため、*cyt c* 遺伝子領域の塩基配列を比較した。クロサバフグ (Accession No. OQ700360) と 99.0% 以上の相同性を示したため、クロサバフグ *Lagocephalus cheesemanii* と判別した。No. 15-2 は 16S rRNA 遺伝子領域でセンニンフグ (Accession No. MH550879) と 100% 一致したが、*cyt b* 遺伝子領域では塩基配列の解析ができず、判定基準を満たさなかった。そこで、*cyt c* 遺伝子領域の塩基配列

を解析した結果、センニンフグ (Accession No. MH550879) と 100% 一致した。第 2 候補のドクサバフグ (Accession No. KF489625) とは 3 塩基異なること、16S rRNA および *cyt b* 遺伝子領域で 99.0% 以上の相同性を示す魚種がないことから、センニンフグ *Lagocephalus sceleratus* と判別した。

サバフグ属と分類した残る 146 個体 (No. 1-2 ~ 27-1) は 16S rRNA 遺伝子領域でシロサバフグ (Accession No. OM899632) の塩基配列と 99.4~100% の相同性を示し、4 個体のみ解析した *cyt b* 遺伝子領域では、シロサバフグ (Accession No. AP009538) の塩基配列と 100% 一致した。16S rRNA および *cyt b* 遺伝子領域の両領域共に 99.0% 以上の相同性を示す他のフグ種はみられなかったことから、146 個体全てをシロサバフグ *Lagocephalus spadiceus* と判別した。

試料としたフグ稚魚 154 個体のうち、シロサバフグ (146 個体)、カナフグ (5 個体)、クロサバフグ (1 個体)、センニンフグ (1 個体)、サザナミフグ (1 個体) の 5 種類のフグ稚魚が同定された。日本近海産のシロサバフグは無毒(毒性値 10 MU/g 未満)とされており^{5,13)}、愛知県内で漁獲されたしらすに混入したフグ稚魚は 94% がシロサバフグであったため、これらが混入したしらすを食べた場合の健康被害は極めて低いと考えられる。

cyt c 遺伝子領域の塩基配列は、全世界の生物種を塩基配列の解析によってデータベース化する DNA barcoding 法という計画で利用され、より多くの魚種の塩基配列の登録がすすめられており、同領域がフグの魚種判別に適用可能であるとする報告がある⁹⁾。本研究においても 16S rRNA および *cyt b* の 2 遺伝子領域では判別できず、*cyt c* 遺伝子領域の塩基配列を用いて判別可能になった個体がみられたことから、通知の方法では種判別できないフグ種が存在し、3 遺伝子領域を組み合わせて解析することで、より高精度な魚種判別が可能になると考えられた。

また、*cyt b* および *cyt c* 遺伝子領域は通知法および既報の PCR 温度条件ではフグ種

以外の魚種(カタクチイワシ)が検出されたため、表1の温度条件を検討することでフグ種を選択的に増幅することができた。試料としたフグ稚魚は大量のカタクチイワシに混入しているものであるため、しらすを加工品にする際の製造過程でカタクチイワシのDNAが混入したことにより、通知法の条件では塩基配列を解析できなかった可能性が考えられた。

3) LC-MS/MS による TTX の検出

魚種判別を行ったフグ稚魚のうち、サザナミフグ(1個体1検体)、カナフグ(2個体1検体)、クロサバフグ(1個体1検体)、センニンフグ(1個体1検体)、シロサバフグ(5個体5検体)の試料について LC-MS/MS を用いて TTX 分析を行った。シロサバフグは 30 mm 以上の個体を抽出し測定した。いずれの試料からも TTX の保持時間(10.8分)にピークは認められず、TTX は検出されなかった。代表例として、TTX 標準品とセンニンフグのマスキングクロマトグラムを示した(図2)。

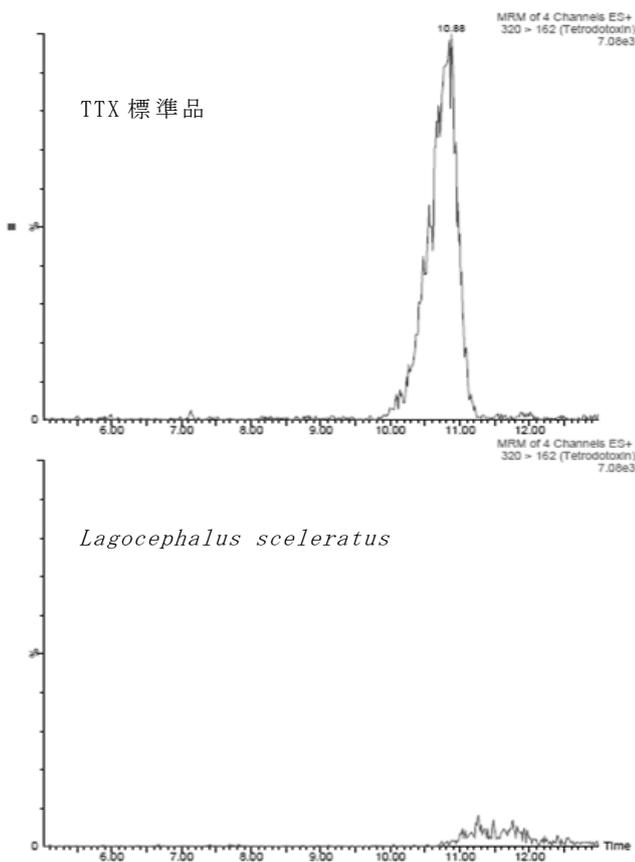


図2 テトロドトキシン標準品とセンニンフグの LC-MS/MS クロマトグラム

今回魚種判別し TTX を測定したフグ稚魚のうち、シロサバフグ、クロサバフグ、カナフグは食用フグとされている。センニンフグの筋肉および皮膚は弱毒(10-99 MU/g)、サザナミフグの筋肉は弱毒、皮膚は強毒レベル(100-999 MU/g)の毒性を持つことが報告されている、いわゆる「毒フグ」とされる食用不可のフグである^{11, 14)}。本研究では愛知県内で漁獲されたフグ稚魚から TTX は検出されなかったが、今後しらす加工品の安全性を評価するためには、TTX の毒性値と共に、混入したフグ稚魚の割合およびしらすの摂食量について検討する必要がある。

まとめ

現在は、しらすにフグ稚魚が混入した場合、食品衛生法に基づき、回収措置がとられることが多く、製造・販売業者の負担が大きい。報告数は少ないもののフグ稚魚が混入したしらすを食べた場合の健康への影響は極めて低いとする報告があり¹⁾、本研究においても同様の結果であった。しかしながら、有毒の卵巣から孵化した稚魚は TTX を保有する報告もあることから⁶⁾、今後もフグ稚魚の魚種判別および毒性評価の継続的な調査を行う必要がある。本研究がしらす加工品に混入したフグ稚魚に関する安全性評価の一助となり、今後フグ稚魚の毒性評価データが蓄積され、健康被害が低いと判断された折には販売規制の緩和につながることを期待する。

謝辞

本研究を実施するにあたり、ご指導およびご協力いただきました、愛知県水産試験場の皆様に深謝いたします。試料をご恵与いただきました、かじや水産およびテルニ商店の皆様に深謝いたします。また、LC-MS/MS をご貸与いただき、TTX 分析についてご教授くださいました衛生化学部棚橋高志部長はじめ職員の皆様に深謝いたします。

参考文献

- 1) 桐明 絢, 太田 晶, 岡山桜子, 松浦啓一, 石崎松一郎, 長島裕二: しらす加工

- 品に混入したフグ稚魚の種判別と毒性.
食品衛生学雑誌 57(1):13-18, 2016.
- 2)厚生労働省：昭和 58 年 12 月 2 日環乳第 59 号 厚生省環境衛生局乳肉衛生課長通知 (2023 年 11 月 30 日現在) : <https://www.mhlw.go.jp/content/11130500/000786717.pdf>
- 3)厚生労働省：平成 26 年 9 月 8 日事務連絡 (2023 年 11 月 30 日現在) : <https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-11130500-Shokuhinanzentbu/0000057173.pdf>
- 4)新・海洋動物の毒(塩見一雄, 長島裕二編): 1-16, 2013, 成山堂書店、東京.
- 5)山口県衛生部環境衛生課監修: ふぐ(改訂版). 山口県食品衛生協会、1986.
- 6)Nagashima Y, Matakai I, Toyoda M, Nakajima H, Tsumoto K, Shimakura K, Shiomi K: Changes in Tetrodotoxin Content of the Puffer Fish *Takifugu rubripes* during Seed Production from Fertilized Eggs to juveniles. *Food hygiene and safety science* 51(1):48-51, 2010.
- 7)厚生労働省：平成 20 年 4 月 25 日食安輸発第 0425005 号(2023 年 11 月 30 日現在): <https://www.mhlw.go.jp/topics/yunyu/hassyutu/dl/374.pdf>
- 8)厚生労働省監修: 食品衛生検査指針理化学編. 661-666, 2005, 日本食品衛生協会、東京.
- 9)村上太郎, 昌山 敦, 紀 雅美, 山野哲夫, 清水 充: 遺伝子解析による魚種鑑別法のフグ中毒への応用. *食品衛生学雑誌* 52(6):348-353, 2011.
- 10)長谷川晶子, 中村瑞那, 奥村正直, 秦 眞美, 山下照夫, 皆川洋子: 培養細胞を用いたテトロドトキシン検査法の検討. *愛知県衛生研究所報* 64:23-31, 2014.
- 11)フグの分類と毒性(原田禎顕, 阿部宗明編): 1994, 恒星社厚生閣、東京.
- 12)日本産稚魚図鑑(沖山宗雄編): 979-989, 2014, 東京大学出版、東京.
- 13)谷山茂人, 柴野啓輔, ニーライミトナ, 篠原 充, 高谷智裕, 荒川 修: 萩市近海産シロサバフグ肝臓の毒性. *長崎大学水産学部研究報告* 91:1-3, 2010.

Species Identification and Toxicity Evaluation of Pufferfish Juveniles Contaminating Whitebait Products caught in Aichi Prefecture, Japan.

Nao Yamamoto, Akiko Hasegawa, Yoshihiro Yasui

In recent years, there have been incidents nationwide of processed whitebait products being contaminated with pufferfish juveniles, which has become a food safety concern. However, there are few reports on the species identification and toxicity of pufferfish juveniles, and there is no survey data on pufferfish juveniles caught in Aichi Prefecture, Japan. In order to evaluate the food safety of whitebait products contaminated with pufferfish juveniles, we determined the species and toxicity of pufferfish juveniles contaminating whitebait products processed between 2020 and 2022 in the prefecture.

Morphological classification using a stereomicroscope and partial sequence analysis of the 16S rRNA gene, the cytochrome *b* gene or cytochrome *c* gene identified 154 pufferfish samples, including 146 *Lagocephalus spadiceus*, 5 *Lagocephalus inermis*, 1 *Lagocephalus cheesemaniae*, 1 *Lagocephalus sceleratus*, and 1 *Arothron hispidus*.

We measured Tetrodotoxin (TTX) in the identified pufferfish juveniles using liquid chromatography-tandem mass, but no peak was observed at the TTX retention time (10.8 min) from any of the specimens.

Keywords: whitebait products, pufferfish, juvenile, tetrodotoxin, species identification

調 査 研 究

カット野菜の消毒に伴う副生成物に関する検討

占部彩花、海野明広、細野加芳、富田浩嗣、棚橋高志

要 旨

近年カット野菜の消費が拡大している。カット野菜は一般的に加工の工程で次亜塩素酸ナトリウムによる消毒が行われるが、副生成物として発がん性が疑われるトリハロメタンの発生が懸念される。実際に高濃度のクロロホルムが残留したカット野菜が流通していたとの報告があるため、県内に流通するカット野菜のトリハロメタン汚染状況について調査を行った。カットキャベツ9検体及び刻みねぎ8検体について実態調査を行った結果、刻みねぎ1検体よりトリハロメタンの一種であるクロロホルムが検出されたが、1日当たりの許容摂取量未満であったため、健康への影響は低いと考えられた。次に、カット野菜の塩素消毒の過程でトリハロメタンが生成するか調べたところ、クロロホルムのみが検出された。そこで、クロロホルムが残留したカット野菜を摂取することによる健康被害が懸念されることから、家庭でも可能なクロロホルムの除去方法を検討した。水道水による流水または浸漬洗浄を行ったところ、両者ともクロロホルム含有量は洗浄に使用した水道水と同程度まで減少した。また、浸漬洗浄は流水と比較してクロロホルム除去量が有意に高かった。以上より、カット野菜中のクロロホルムの除去方法として、水道水による浸漬洗浄が有用だと考えられた。

キーワード：カット野菜、トリハロメタン、クロロホルム、ヘッドスペース-ガスクロマトグラフ質量分析計 (HS-GC/MS)

序 文

新型コロナウイルス感染拡大に伴う家庭内調理の需要増加から、スーパーやコンビニなどで気軽に購入できるカット野菜の消費が拡大している¹⁾。

カット野菜は一般的に加工の工程において次亜塩素酸ナトリウムによる消毒が行われている^{2,3)}が、次亜塩素酸ナトリウムは有機物と反応し、トリハロメタンを生成することが知られている⁴⁾。

トリハロメタンはメタンの3つの水素原子がハロゲン原子で置換された化合物であり、発がん性が疑われている⁵⁻⁸⁾。次亜塩素酸ナトリウムで消毒を行う水道水において

は、トリハロメタンのうち、クロロホルム、ブromジクロロメタン、ジブromクロロメタン、ブromホルム及びその総量である総トリハロメタンが水質基準として設定されている⁹⁾。一方、食品中のトリハロメタンに関する基準は設定されていないが、市販のカット野菜で高濃度のクロロホルムが検出されたとの報告¹⁰⁾がある。

そこで、本研究ではトリハロメタンのうちクロロホルム、ブromジクロロメタン、ジブromクロロメタン、ブromホルムを調査対象とし、県内に流通するカット野菜の汚染状況について実態調査を行うとともに、カット野菜の塩素消毒の過程でトリハロメ

タンが生成するか調べ、加えて家庭でも可能なカット野菜中のクロロホルム除去方法について検討を行ったので報告する。

方 法

1. 試料

試料は、実態調査用としてカットキャベツ 9 検体及び刻みねぎ 8 検体を、カット野菜の塩素消毒過程におけるトリハロメタンの生成に関する調査用としてキャベツ 1 検体及び長ねぎ 1 検体を愛知県内の小売店で購入して用いた。

2. 試薬及び標準品

(1) 試薬及び標準品

メタノール、塩化ナトリウムは富士フィルム和光純薬（株）の製品を用いた。試薬のグレードは、メタノールはトリハロメタン測定用、塩化ナトリウムは特級を使用した。

次亜塩素酸ナトリウム溶液は（株）オーヤラックスのピューラックス（食品添加物用、次亜塩素酸ナトリウム 6%）を使用した。

クロロホルム、ブロモジクロロメタン、ジブロモクロロメタン、ブロモホルムを含む揮発性有機化合物 25 種混合標準液（1 mg/mL メタノール溶液）、フルオロベンゼン標準原液は関東化学（株）の水質試験用を用いた。

試験溶液の調製に用いる水はダノンジャパン（株）の evian を使用した。

(2) 混合標準溶液及び内部標準液の調製

混合標準液（1 mg/mL）をメタノールで 10 倍希釈し、混合標準溶液（100 mg/L）とした。また、フルオロベンゼン標準原液（1 mg/mL）をメタノールで 20 倍希釈し、内部標準液（50 mg/L）とした。

3. 装置及び測定条件

トリハロメタンのうち、水質基準に設定されているクロロホルム、ブロモジクロロメタン、ジブロモクロロメタン、ブロモホルムについて測定を行った。分析に使用したヘッドスペース-ガスクロマトグラフ質量分析計（HS-GC/MS）及び測定条件は表 1 に示した。振とう機は YS-8D（（株）ヤヨイ）を用いた。

4. 検量線

混合標準溶液をメタノールで希釈し、内部標準液を 10 倍希釈となるよう加え、0.8、2、4、8、20、40 mg/L（各内部標準 5 mg/L）の標準溶液を作製した。また、混合標準液をメタノールで希釈し、内部標準液を 10 倍希釈となるよう加え、100 mg/L（内部標準 5 mg/L）の標準溶液を作製した。塩化ナトリウム 3 g を加えた 20 mL のヘッドスペースバイアルに水 10 mL を加え、各濃度の標準溶液を 5 μ L ずつ加えたのち、直ちに密封した。これを 5 分間振とうして、0.0004、0.001、0.002、0.004、0.010、0.020、0.050 mg/L（各内部標準 0.0025 mg/L）の検量線用標準溶液と

表 1 装置及び測定条件

装置：	HS-GC/MS (Agilent5977B、アジレント・テクノロジー(株)社製)
カラム：	InertCap AQUATIC-2 (60 m×0.25 mm、1.4 μ m、ジーエルサイエンス(株)社製)
昇温条件：	40°C→15°C/min→240°C (4 min)
キャリアガス：	ヘリウム (純度 99.999v/v%以上)
キャリアガス流量：	コンスタントフロー 1.2 mL/min
オープン温度：	60°C
平衡化時間：	30 min
注入口温度：	200°C
イオン化法：	電子イオン化法 (70 eV)
測定法：	選択イオン検出(SIM)法
スプリット比：	10 : 1
モニターイオン：	クロロホルム (定量イオン : m/z 83、確認イオン : m/z 85) ジブロモクロロメタン (定量イオン : m/z 129、確認イオン : m/z 127) ブロモジクロロメタン (定量イオン : m/z 83、確認イオン : m/z 85) ブロモホルム (定量イオン : m/z 173、確認イオン : m/z 171) フルオロベンゼン (定量イオン : m/z 96、確認イオン : m/z 70)

した。各検量線用標準溶液を HS-GC/MS で測定し、得られた標準物質と内部標準物質のピーク面積比を用いて内部標準法により検量線を作製した。定量下限値は 0.001 mg/L とした。これを試料中濃度に換算すると 5 ng/g になる。

5. 野菜の消毒処理

次亜塩素酸ナトリウム溶液を水で 100 mg/L、200 mg/L に希釈し、次亜塩素酸ナトリウム水溶液とした。キャベツとねぎの表面を水で洗ったのち、1 mm 間隔に細切し、50 mL ビーカーに 2.0 g ずつ秤量した。これに水または次亜塩素酸ナトリウム水溶液 (100 mg/L、200 mg/L) をそれぞれ 20 mL 加えた。室温で 10 分間静置後、水切りネットで水を切ったものを試料とした。

6. 野菜消毒処理後の水道水洗浄

消毒処理を行ったねぎ検体について、流水または浸漬の 2 条件で水道水による洗浄を行った。流水では、水切りネット上に試料を移し、水道水を上から 30 秒間あるいは 5 分間流した。浸漬では、試料を新しい 50 mL ビーカーに移し、水道水を 40 mL ずつ加えた。30 秒間あるいは 5 分間静置後、水切りネットで水を切ったものを試料とした。

7. 試験溶液の調製

実態調査用のカットキャベツと刻みねぎは購入時の状態で試料とした。試料を 2.0 g 秤量し、塩化ナトリウム 3 g を加えた 20 mL のヘッドスペースバイアルに移した。さらに水 10 mL を加え、内部標準液をメタノールで 10 倍希釈した内部標準溶液 (5 mg/L) を 5 μ L

加えたのち、直ちに密封した。これを 5 分間振とうして試験溶液とした。

8. クロロホルム除去量の算出

水道水 1 mL あたりのクロロホルム除去量は式 1 を用いて計算した。

9. 統計処理

次亜塩素酸ナトリウム消毒処理に伴うクロロホルム含有量の比較は Welch の t 検定で行った。また、クロロホルム除去方法の比較は二元配置分散分析で行い、有意差が確認できた場合は次いで Tukey の多重比較検定を行った。

結果及び考察

1. 実態調査

4 種のトリハロメタンについて、既報¹¹⁾に準じて測定し、標準溶液及び試験溶液の測定に妨害がないことを確認した。またトリハロメタン 4 種の直線性は、相関係数が 0.9999 以上と良好であった (データ非表示)。このことから、本法を用いて実態調査を行った。

カット野菜の中でも購入量が増加していた¹⁾キャベツとねぎに着目し、県内に流通するカット野菜 17 検体 (カットキャベツ 9 検体及び刻みねぎ 8 検体) 中のトリハロメタン濃度について調査を行った。その結果、刻みねぎ 1 検体よりクロロホルムが 21.0 ng/g 検出された (表 2)。ブロモジクロロメタン、ジブロモクロロメタン、ブロモホルムはすべての検体において検出されなかった。ねぎの 1 人当たり年間購入量¹²⁾を考慮し、ク

$$\text{クロロホルム除去量 (ng/mL)} = \frac{(\text{洗浄前試料中濃度} - \text{洗浄後試料中濃度}) (\text{ng/g}) \times 2 \text{ g}}{\text{洗浄に使用した水道水量 (mL)}}$$

式 1 クロロホルム除去量算出方法

表 2 トリハロメタン汚染状況の調査結果

食品名	検体数	検出量 (ng/g)			
		クロロホルム	ジブロモクロロメタン	ブロモジクロロメタン	ブロモホルム
カットキャベツ	9	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.
刻みねぎ	8	21.0 (1 検体)	N. D.	N. D.	N. D.
計	17				

N. D. : 定量下限値未満

クロホルムが検出された刻みねぎから摂取される1日あたりのクロホルム量を換算すると0.091 µgとなる。体重50 kg成人の1日当たりのクロホルム許容摂取量⁵⁾は 6.5×10^2 µgであるため、本検体を日常的に摂取しても健康への影響は低いと考えられた。

2. カット野菜の塩素消毒過程におけるトリハロメタン生成に関する調査

今回の実態調査で検出されたクロホルム量は、1日当たりクロホルム許容摂取量未満であった。しかし、市販のカット野菜からこの10倍以上のクロホルムが検出された報告¹⁰⁾があるため、カット野菜の塩素消毒過程でトリハロメタンが生成するかどうか調べた。対象は実態調査と同様キャベツと長ねぎとした。カット野菜工場では

通常大量調理施設衛生管理マニュアル³⁾を参考に消毒が行われている。当マニュアルに従い、細切した試料に100あるいは200 mg/Lの次亜塩素酸ナトリウム溶液を加え、室温で10分間静置した。その結果、クロホルムが100 mg/Lの次亜塩素酸ナトリウム溶液で消毒処理したキャベツから15.3 ng/g、ねぎから68.5 ng/g、また、200 mg/Lの次亜塩素酸ナトリウムで消毒処理したキャベツから26.2 ng/g、ねぎから98.2 ng/g検出され、消毒に使用した次亜塩素酸ナトリウム溶液の濃度依存的に有意に増加した(図1A、1B、 $p < 0.05$)。また、ねぎに含まれるクロホルム量はキャベツと比較して有意に高かった(図1C、 $p < 0.05$)。ねぎはキャベツより入り組んだ構造をしているため、細切前の洗浄で汚れが落ちきっておらず、有機物

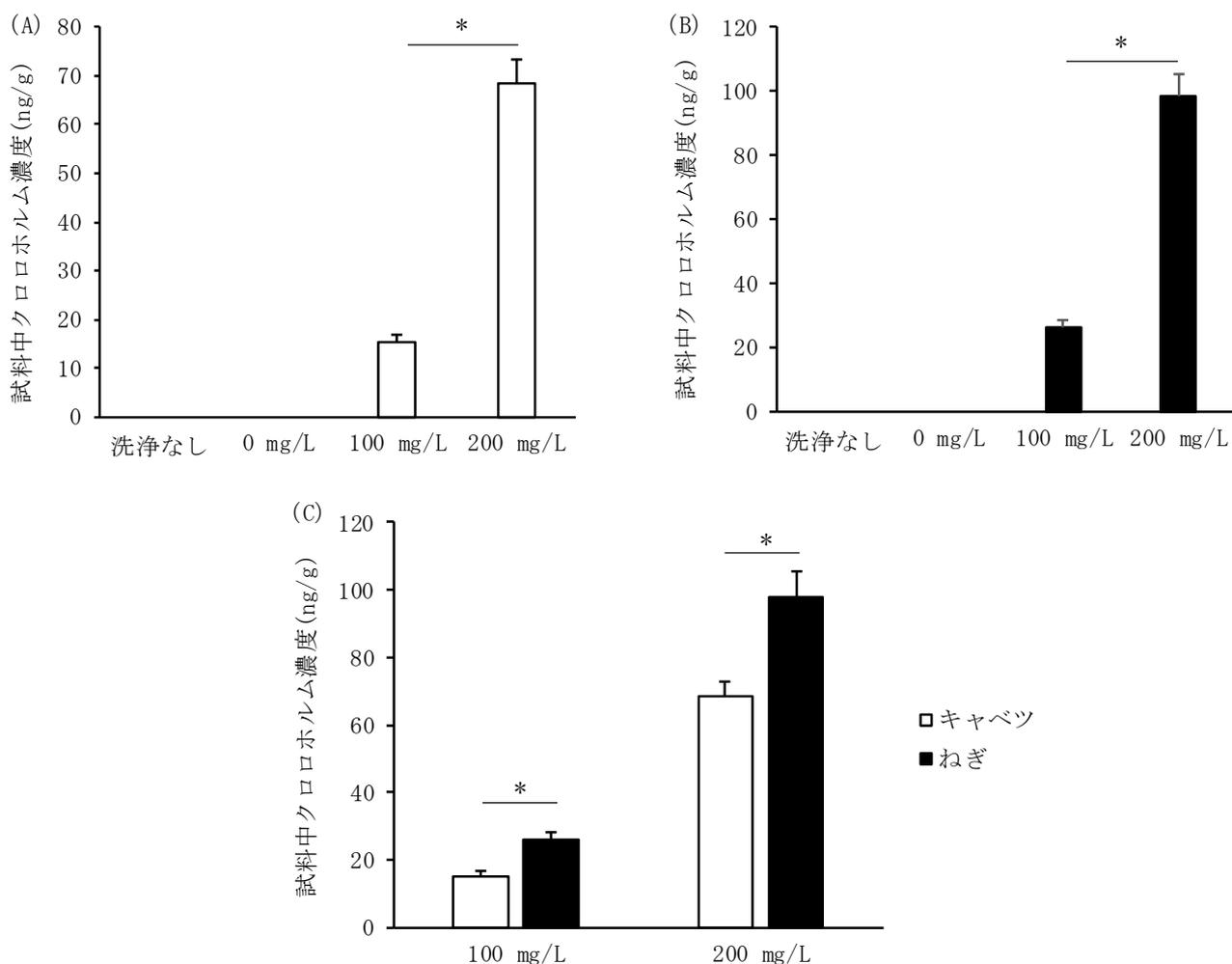


図1 次亜塩素酸ナトリウム溶液濃度とクロホルム含有量 (A) キャベツ、(B) ねぎ、(C) キャベツとねぎの比較 平均±標準偏差を示した (各n=3、* $P < 0.05$)。

が残留していた可能性が考えられる。

一方、ジブロモクロロメタン、ブロモジクロロメタン、ブロモホルムは検出されなかった。この結果はクロロホルムのみ検出された今回の実態調査及び過去の報告¹⁰⁾と一致した。これら3種の臭素化合物は、臭素が塩素によって酸化されたのち有機物と反応して生成する⁴⁾が、キャベツとねぎは反応する臭素の含有量が少ないため検出されなかったと考えられた。

3. 家庭で行いやすいクロロホルム除去方法の検討

通常カット野菜は塩素消毒後洗浄を行う³⁾ため、流通時にはクロロホルム含有量が減少していると考えられる。しかし、クロロホルムが残留したカット野菜を家庭で摂取することによる健康被害が懸念されるため、家庭で行いやすいクロロホルム除去方法の検討を行った。検討には最も高濃度のクロロホルムが検出された、200 mg/Lの次亜塩素酸ナトリウム溶液で消毒処理したねぎを使用した。また、家庭で行いやすい除去方法として水道水による洗浄を選択し、流水

または浸漬の洗浄方法と30秒間・5分間の洗浄時間を組み合わせた4条件で除去効果の比較を行った。その結果、水道水洗浄前のねぎには130 ng/gのクロロホルムが含まれていたが、流水30秒で63.8 ng/g、流水5分で60.4 ng/g、浸漬30秒で54.8 ng/g、浸漬5分で58.3 ng/gとなり(図2)、洗浄に用いた水道水中のクロロホルム量と同程度にまで低減することができた(データ非表示)。

水道水洗浄後のクロロホルム量について、4条件間に有意差は認められなかった(図2)。一方、それぞれの条件における水道水1 mLあたりのクロロホルム除去量を比較すると、洗浄時間の違いによる有意差は認められなかったが、洗浄方法については流水より浸漬洗浄の方が除去量は有意に高かった(図3)。少なくとも30秒間浸漬して洗浄することで、節水しながら効率的にトリハロメタンを除去できると考えられた。浄水器等でトリハロメタン量を低減した水で洗浄すると、試料に含まれるクロロホルムをさらに除去できる可能性があると考えられた。

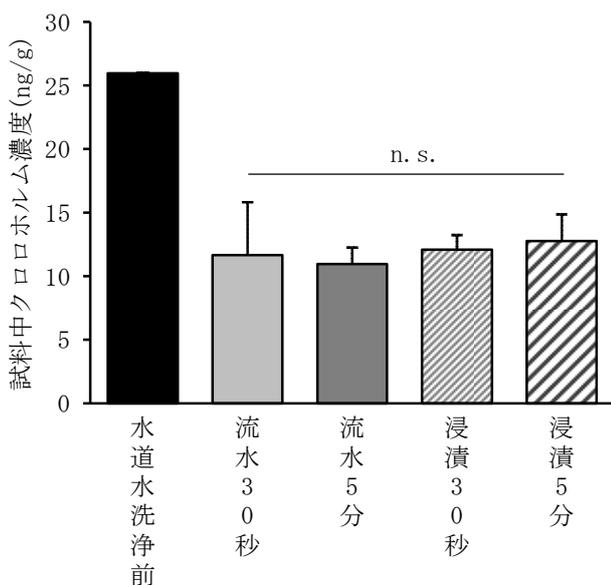


図2 ネギの次亜塩素酸ナトリウム消毒後の水道水洗浄に伴うクロロホルム含有量の変化

平均±標準偏差を示した(水道水洗浄前はn=1、水道水洗浄後の4条件は各n=3、n.s.:有意差なし)。

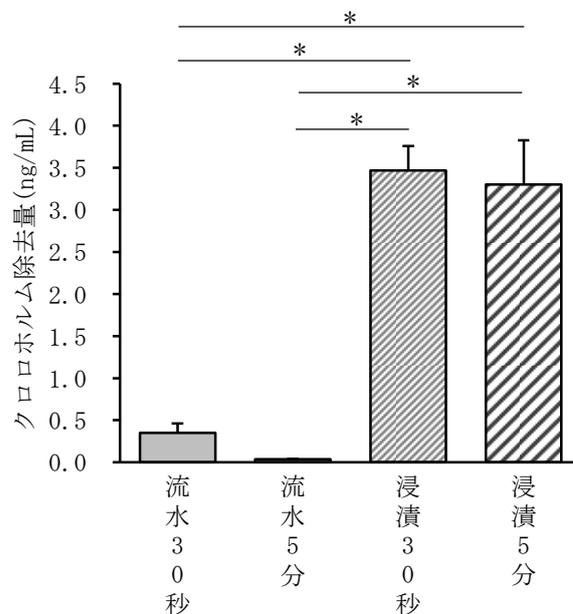


図3 条件別クロロホルム除去量

平均±標準偏差を示した(n=3、*P<0.05)。

まとめ

本研究では、カット野菜における消毒副生成物の汚染状況とその除去方法について調査を実施した。

県内に流通するカットキャベツ 9 検体と刻みねぎ 8 検体について消毒副生成物トリハロメタンの汚染状況を調査したところ、刻みねぎ 1 検体よりクロロホルムが検出された。検出されたクロロホルムは 1 日当たりの許容摂取量より少ないため、カット野菜を介した消毒副生成物による健康への影響は少ないと考えられた。また、カット野菜の消毒処理過程でトリハロメタンが生成するか調査したところ、クロロホルムが検出された。家庭でも可能なクロロホルム除去方法として水道水による流水・浸漬洗浄を行った結果、両者ともクロロホルム含有量は洗浄に使用した水道水と同程度まで減少した。加えて、浸漬洗浄は流水と比較してクロロホルム除去量が有意に高かった。以上より、カット野菜に含まれるクロロホルムの除去方法として水道水による浸漬洗浄が有用であると考えられた。

本研究の一部は、公益財団法人大同生命厚生事業団地域保健福祉研究助成により実施した。

参考文献

- 1) 農畜産業振興機構：新型コロナウイルス禍における野菜消費の変化．野菜情報 2021 年 6 月号 46-53, 2021.
- 2) 農産物のカット・ペースト（低温管理）手引書作成協議会：小規模な農産物の

- カット・ペースト(低温管理)製造事業者における HACCP の考え方を取り入れた衛生管理のための手引書 version 1.0, 2020.
- 3) 大量調理施設衛生管理マニュアル：平成 9 年 3 月 24 日付け衛食第 85 号別添
- 4) 丹保憲仁：水道とトリハロメタン．83-137, 1983, 技報堂、東京.
- 5) 清涼飲料水評価書 クロロホルム：平成 21 年 8 月 20 日付府食第 790 号別添
- 6) 清涼飲料水評価書 ブロモジクロロメタン：平成 21 年 8 月 20 日付府食第 791 号別添
- 7) 清涼飲料水評価書 ジブロモクロロメタン：平成 21 年 8 月 20 日付府食第 792 号別添
- 8) 清涼飲料水評価書 ブロモホルム：平成 21 年 8 月 20 日付府食第 793 号別添
- 9) 厚生労働省令“水質基準に関する省令”平成 15 年 5 月 30 日第 101 号
- 10) 日高利夫, 桐ヶ谷忠司, 上條昌彌, 木川寛, 河村太郎：ヘッドスペース法を用いる野菜中の残留塩素及び低沸点有機化合物の同時定量．食品衛生学雑誌 32(4): 308-314, 1991.
- 11) Kubota H, Sato K, Sasaki N, Kawamura Y, Ozeki Y, Akiyama H: Formation of volatile halogenated compounds in fresh-cut with sodium hypochlorite. Japanese Society of Food Chemistry 19(2):94-103, 2012.
- 12) 農畜産業振興機構野菜振興部：指定野菜の生産・流通・消費動向；<https://www.alic.go.jp/content/001224876.pdf>

Survey of disinfection by-products of cut vegetables

Ayaka Urabe, Akihiro Unno, Kaho Hosono, Koji Tomita, Takashi Tanahashi

Consumption of cut vegetables has been increasing in recent years. Cut vegetables are generally disinfected with sodium hypochlorite in the process, but there is concern that trihalomethanes, suggested as carcinogens, is formed as by-products. In fact, there was a report that high concentrations of chloroform were remained in some cut vegetables. Therefore, we investigated the contamination of trihalomethanes about 9 cut cabbages and 8 chopped green onions distributed in Aichi prefecture. As a result of the factual investigation, chloroform, one type of trihalomethanes, was detected in 1 chopped green onion. However, the health effects were considered low because the amount of detected chloroform was less than the allowable daily intake from tap water. In addition, we investigated whether trihalomethanes are formed by chlorine disinfection of cut vegetables, and only chloroform was detected. To avoid eating cut vegetables remaining chloroform, we examined useful methods of removing chloroform that can do at home. We compared running water washing with immersion washing using tap water, and the amount of chloroform was reduced to the same level as that contained in the tap water used for washing in both cases. Moreover, immersion washing was more effective than running water washing in removing chloroform. From the above data, it was concluded that immersion washing with tap water is a useful method for removing chloroform in cut vegetables.

Key words : Cut vegetables, Trihalomethane, Chloroform, HS-GC/MS

調 査 研 究

愛知県における食品の放射性物質検査の状況 (2012年度～2022年度)

長瀬智哉、佐藤隆治、新美 瞳、棚橋高志

要 旨

2011年に発生した東京電力福島第一原子力発電所事故により、放射性物質による食品汚染が発生し様々な食品から放射性物質が検出される事態となった。厚生労働省はただちに暫定規制値を設定して食品中の放射性物質に関する規制を開始し、その後、2012年4月1日には、新たな放射性物質の基準値を設定した。今回、食品の安全性確保のための基礎資料に資することを目的として、新基準が適用された2012年度から2022年度までに当所で実施した食品中の放射性セシウム（Cs）の検出状況等を解析した。調査期間中総計871件の放射性Cs検査を実施した結果、5.5%の検体からは定量下限値を超える放射性Csを検出したが、基準値を超える検体はなかった。放射性Csは主に水産物、農産物から検出されており、特にシラウオ、ワカサギ、シイタケは高い確率で検出されていた。また放射性¹³⁴Csは年々顕著に減少し、¹³⁴Cs/¹³⁷Csの比も低下していた。食品中の放射性Cs濃度は減少傾向にあるが、依然として検出される検体もあることから今後も放射性Csの動向に注視していく必要がある。

キーワード：食品、放射性セシウム

序 文

2011年3月11日の東日本大震災に伴って発生した東京電力福島第一原子力発電所事故（以下「福島第一原発事故」という。）により、種々の放射性物質が東日本を中心に広く拡散した。これにより環境だけでなく農畜水産物をはじめ様々な食品も汚染され、放射性物質が検出される事態となった。厚生労働省はただちに原子力委員会の示した指標値を食品中の放射性物質に関する暫定規制値として設定し規制を開始した。その後、2012年4月1日には、より一層、食品の安全と安心を確保するため長期的な観点から新たな放射性物質の基準値を設定した。新基準（表1）は、食品の国際規格を策

定しているコーデックス委員会が指標としている年間線量1mSvを踏まえ、測定が容易な放射性Csの濃度として設定された。放射性Cs以外の放射性核種についても移行経路や産物、年齢区分に応じた放射性Csの寄与率を算出し、放射性Csとそれ以外の核種から受ける被ばく線量が合計して1mSvを超えないように放射性Cs濃度基準値が設定された¹⁾。

表1 食品中の放射性セシウムの基準値
(2012年4月1日～)

食品群	基準値 (Bq/kg)
飲料水	10
牛乳	50
一般食品	100
乳児用食品	50

今回、事故発生から10年以上が経過したことを踏まえ、放射性物質に対する食品の安全性確保のための基礎資料に資することを目的として、新基準が適用された2012年度から2022年度までに当所で実施した食品中の放射性Csの検出状況等を解析した。

方 法

試料及び測定方法

厚生労働省より通知された検査計画²⁾、³⁾に定められた17都県産の農畜水産物及び加工食品のうち、県内流通品を収去計画に沿って保健所等が収去し、当所に搬入された検体を試料とした。検査方法は、2012年3月15日食安発0315第4号厚生労働省通知「食品中の放射性物質の試験法について」及び同第7号「食品中の放射性物質の試験法の取扱いについて」に基づき、検体の可食部を細切して測定容器に空隙を生じないように均一に詰め、ゲルマニウム半導体検出器（GC2018、キャンベラ社製）及び波高分析装置（DSA1000、キャンベラ社製）を用いて放射性Cs濃度を算出した。¹³⁴Csは604.66 keV、¹³⁷Csは661.64 keVの γ 線をそれぞれ測定に用い、それぞれの核種についてクーパーの方法⁴⁾により定量下限値を求めた。測定時間は検体量により適宜設定した。

結果及び考察

1. 放射性Cs検査件数の年次推移

2012年度から2022年度に実施した放射性Cs検査の内訳を表2に示した。総計は871件だった。2012年度は117件実施し、2013年以降は年間90件程で推移していたが、2020年度以降は新型コロナウイルス感染症による業務縮小の影響を受け、検査は年間50件程度に減少した。2019年度までは、年間の検査数は農産物30件程度、水産物20件程度で、その他に穀類、牛乳、飲料水、畜産物、乳児用食品などの検査も行っていたが、2020年度は農産物と水産物のみ実施した。

2. 測定条件

全検体の測定条件を表3に示した。測定

時の検体の密度は平均で0.84 g/cm³であり、乾燥シイタケやキャベツ等の野菜を含む農産物は密度が小さい傾向がみられた。測定時間は水産物、農産物で長時間を要する傾向があり、密度と測定時間には負の相関がみられた。放射性¹³⁴Csと放射性¹³⁷Csの定量下限値の平均値は、どの食品群でもほぼ2.5 Bq/kg以下であった。

3. 放射性Cs陽性検体の状況

定量下限値以上の放射性Csが検出された場合を陽性として、食品群別に陽性件数と陽性率の年次推移を表4に示した。2012年度から2022年度までに検査を行った全871件のうち、陽性は48件(5.5%)、陰性は823件であった。この期間に基準値(表1)を超える検体はなかった。2012年度から2019年度までは、陽性件数は4~8件程度(陽性率4.4%~8.9%)でほぼ横ばいであったが、2020年度以降は検査数減少とともに陽性検体はみられなかった。食品群別では農産物4.5%(14件/310件中)、水産物15.3%(33件/216件中)、穀類1.2%(1件/82件中)で、水産物と農産物で多く検出されていた。水産物の検出割合は2012年度から2019年度の期間では10%から25%で推移していた。なお、厚生労働省の発表による全国状況⁵⁾では、2020年度以降、本県同様、検査数が大きく減少しているが、2020年度以降も基準値を超える検体が報告されている。ただし、これには市場流通前の検体も含まれていることに注意を要する。

農産物、水産物及び穀類の品目別の陽性件数を年次別に表5に示した。シイタケ、ワカサギ、シラウオからはほぼ毎年検出されていた。シラウオは12検体全てが陽性であり検出率は100%だった。ワカサギ、シイタケも高い割合で検出されていた。

放射性Csが検出された農水産物の生産地を品目別に表6に示した。生産地は茨城県、宮城県、長野県、静岡県など8県であった。水産物ではワカサギ、シラウオの産地として茨城県が多く、農産物ではシイタケの産地として長野県、静岡県が多く挙げられた。

表2 放射性 Cs 検査件数の年次推移

年度	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	総計(件)
<飲料水>	11	5	5	5	5	5	5	5		5	2	53
<牛乳>	13	10	9	10	10	10	10	5			1	78
<一般食品>	84	68	71	70	70	70	70	65	45	45	38	696
農産物	30	30	30	30	30	30	30	30	25	25	20	310
水産物	26	20	20	20	20	20	20	20	20	15	15	216
畜産物	11	3	5	5	5	5	5	5				44
穀類	10	10	10	10	10	10	10	5		5	2	82
その他	7	5	6	5	5	5	5	5			1	44
<乳児用食品>	9	5	5	5	5	5	5	5				44
検査数 総計	117	88	90	90	90	90	90	80	45	50	41	871

表3 測定条件

	検査数	密度 (g/cm ³):平均	測定時間 (秒):平均	¹³⁴ Cs 定量下限値 (Bq/kg):平均	¹³⁷ Cs 定量下限値 (Bq/kg):平均
<飲料水>	53	1.01	1902	0.79	0.87
<牛乳>	78	0.96	1914	2.15	2.27
<一般食品>					
農産物	310	0.64	3679	2.13	2.28
水産物	216	0.96	4274	2.24	2.37
畜産物	44	1.00	2203	2.11	2.22
穀類	82	0.91	2979	1.96	2.11
その他	44	0.99	1924	2.15	2.18
<乳児用食品>	44	0.87	3535	2.40	2.53
総計	871	0.84	3324	2.07	2.21

表4 放射性 Cs 陽性件数・食品群別陽性率の年次推移及び全国の状況

年度	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	総計
全体												
検査数	117	88	90	90	90	90	90	80	45	50	41	871
うち陰性数	111	81	85	82	86	83	84	75	45	50	41	823
うち陽性数	6	7	5	8	4	7	6	5	0	0	0	48
陽性率(%)	5.1	8.0	5.6	8.9	4.4	7.8	6.7	6.3	0.0	0.0	0.0	5.5
農産物												
検査数	30	30	30	30	30	30	30	30	25	25	20	310
うち陽性数	2	1	1	3	1	2	1	3	0	0	0	14
陽性率(%)	6.7	3.3	3.3	10.0	3.3	6.7	3.3	10.0	0.0	0.0	0.0	4.5
水産物												
検査数	26	20	20	20	20	20	20	20	20	15	15	216
うち陽性数	4	5	4	5	3	5	5	2	0	0	0	33
陽性率(%)	15.4	25.0	20.0	25.0	15.0	25.0	25.0	10.0	0.0	0.0	0.0	15.3
穀類												
検査数	10	10	10	10	10	10	10	5	0	5	2	82
うち陽性数	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
陽性率(%)	0.0	10.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.2
<全国>												
検査総数	278,275	335,860	314,216	340,311	322,563	306,623	299,424	284,931	54,412	41,361	36,309	2,614,285
基準値超過	2,372	1,025	565	291	461	200	313	166	127	157	135	5,812
基準値超過率(%)	0.85	0.31	0.18	0.09	0.14	0.07	0.10	0.06	0.23	0.38	0.37	0.22

表5 品目別放射性 Cs 陽性検体の年次推移

年度	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	陽性合計 (件)	陰性 (件)	総計 (件)	陽性率 (%)
<農産物>	2	1	1	3	1	2	1	3	0	0	0	14	296	310	4.5
シイタケ	1	1	1	1	1	2	1	3				11	10	21	52.4
サツマイモ	1			1								2	5	7	28.6
マイタケ				1								1	18	19	5.3
<水産物>	4	5	4	5	3	5	5	2	0	0	0	33	183	216	15.3
ワカサギ		2	3	2	2	3	2					14	1	15	93.3
シラウオ		1	1	3	1	2	2	2				12		12	100
カレイ	2	2										4	16	20	20.0
アイナメ							1					1	15	16	6.3
サバ	1											1	12	13	7.7
チダイ	1											1	5	6	16.7
<穀類>	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	81	82	1.2
大豆		1										1	5	6	16.7
総計	6	7	5	8	4	7	6	5	0	0	0	48			

表6 品目別放射性 Cs 陽性検体の生産地

	茨城県	宮城県	長野県	静岡県	岩手県	新潟県	神奈川県	千葉県	総計(件)
<農産物>	2		6	4	1	1			14
シイタケ			6	4	1				11
サツマイモ	2								2
マイタケ						1			1
<水産物>	26	5					1	1	33
ワカサギ	14								14
シラウオ	11	1							12
カレイ		4							4
アイナメ	1								1
サバ							1		1
チダイ								1	1
<穀類>		1							1
大豆		1							1
総計	28	6	6	4	1	1	1	1	48

4. 放射性 Cs 濃度の状況

放射性 ^{134}Cs 濃度と放射性 ^{137}Cs 濃度の合計値の年次推移を図1に示した。放射性 Cs 濃度合計値は2013年度から2018年度にかけて、検査数が横ばいにも関わらず減少傾向がみられたが、2020年度以降検査数がおよそ半減するとともに放射性 Cs は検出されなかった。2020年度以降も計画に沿って検出頻度の高いキノコ類等は搬入されていたため、検査数の減少が不検出の要因の一つと考えられる。

放射性 Cs 濃度合計値の品目別年次推移を表7に示した。農産物では2012年度の70.4 Bq/kg をピークに減少し、水産物では2013年

度の74.1 Bq/kg をピークに減少傾向がみられた。放射性 Cs 濃度合計値の総計では、ワカサギが最も多く217.0 Bq/kg、次いでシイタケが154.6 Bq/kg、シラウオが101.2 Bq/kgであった。ワカサギのような淡水魚は海水魚より放射性 Cs の濃縮係数比が数倍から数十倍高い⁶⁾とされており、それを裏付ける結果と考えられる。また農産物ではシイタケの放射性 Cs 濃度が高い傾向にあり、2019年度においても32.1 Bq/kg 検出されていた。

表8に年度毎に検出された放射性 ^{134}Cs 濃度と放射性 ^{137}Cs 濃度をそれぞれ合計した値と $^{134}\text{Cs}/^{137}\text{Cs}$ の推移を示した。放射性 ^{134}Cs と放射性 ^{137}Cs はともに減少傾向にあり、

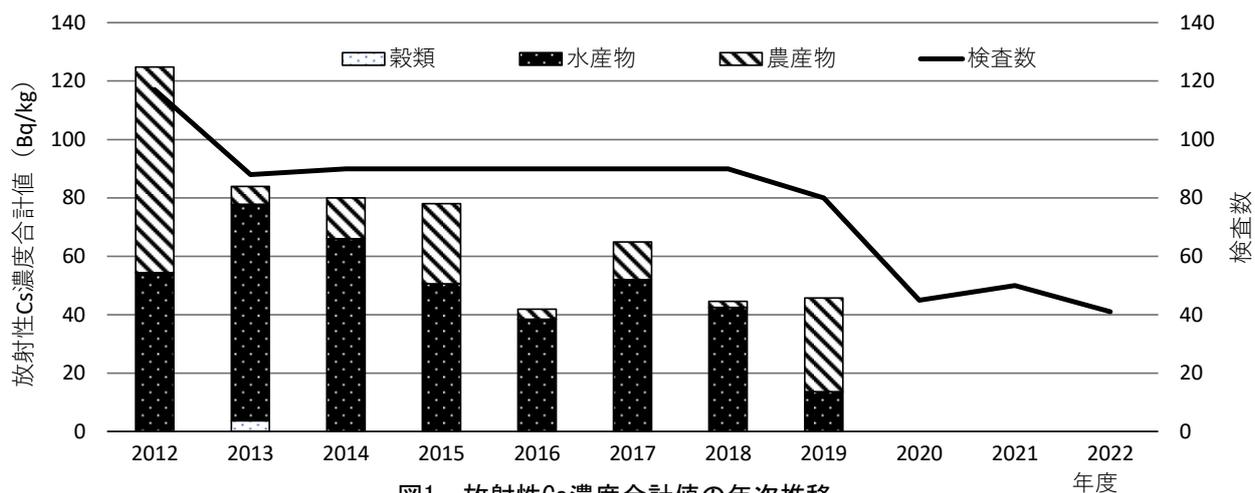


図1 放射性Cs濃度合計値の年次推移

表7 品目別放射性Cs濃度合計値 (Bq/kg) の年次推移

年度	検体数	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	総計(Bq/kg)
<農産物>合計										
		70.4	6.1	14.0	27.4	3.4	12.9	2.1	32.1	168.4
	シイタケ n=11	66.0	6.1	14.0	18.0	3.4	12.9	2.1	32.1	154.6
	サツマイモ n=2	4.4			3.9					8.3
	マイタケ n=1				5.5					5.5
<水産物>合計										
		54.4	74.1	66.0	50.6	38.5	52.0	42.5	13.6	391.7
	ワカサギ n=14		50.0	50.0	25.0	32.0	40.2	19.8		217.0
	シラウオ n=12		11.0	16.0	25.6	6.5	11.8	16.7	13.6	101.2
	カレイ n=4	33.0	13.1							46.1
	サバ n=1	17.0								17.0
	アイナメ n=1							6.0		6.0
	チダイ n=1	4.4								4.4

表8 放射性¹³⁴Csと放射性¹³⁷Csの各濃度合計値及び¹³⁴Cs/¹³⁷Csの年次推移

年度	¹³⁴ Cs (Bq/kg)	¹³⁷ Cs (Bq/kg)	¹³⁴ Cs/ ¹³⁷ Cs
2012	39.6	85.6	0.46
2013	26.1	58.3	0.45
2014	17.8	60.2	0.30
2015	12.5	64.8	0.19
2016	5.0	37.0	0.14
2017	1.5	62.2	0.02
2018	0.0	44.4	0.00
2019	2.0	43.3	0.05
総計	104.5	455.8	0.23

表9 キノコ類からの放射性Cs検出状況(2012年度～2022年度)

	陰性	陽性	総計(件)
ブナシメジ	23		23
シイタケ	10	11	21
マイタケ	18	1	19
エリンギ	17		17
シメジ	17		17
エノキダケ	4		4
ヒラタケ	4		4
ナメコ	2		2
キノコ類総計	95	12	107

表10 シイタケ栽培方法別放射性Cs検出状況とその濃度

		陰性	陽性	総計(件)	放射性Cs合計値の濃度範囲
菌床	乾燥	0	0	0	6.1 Bq/kg
	生	5	1	6	
原木	乾燥	5	10	15	0.9～66.0 Bq/kg
	生	0	0	0	
総計(件)		10	11	21	

2017年度以降、放射性¹³⁴Csはほとんど検出されていない。これは放射性Csの物理的半減期が放射性¹³⁷Csの約30年に比べ放射性¹³⁴Csは約2年と短いことを反映していると考えられる。また放射性¹³⁴Csと放射性¹³⁷Csの比は2012年度の0.46から2019年度は0.05へ減少していた。放射性¹³⁴Csと放射性¹³⁷Csの放射能濃度の比(¹³⁴Cs/¹³⁷Cs)は原子炉内の構造や運転経歴等によって決定される⁷⁾ことから放射性Csの起源の推定などに利用することができ、福島第一原発事故で漏洩した放射性¹³⁴Cs/¹³⁷Cs比は事故発生時ほぼ1であったとされている⁸⁾。事故後、比は時間経過とともに半減期に従って変化するが、水環境における放射性物質のモニタリング結果⁹⁾から推計すると、公共用水域(底質)の¹³⁴Cs/¹³⁷Csの比は2013年0.53、2019年0.08と今回の値と同程度であった。これらのことから、本調査の検体の放射性Csは福島第一原発事故由来が主であり、新たな汚染はなく経過していることが示唆される。

5. キノコ類からの放射性Cs検出状況

キノコ類は放射性Csの移行係数が高い¹⁰⁾¹¹⁾ことが報告されており、放射性Csが検出されやすい農産物の一つである。表9にキノコ類からの放射性Cs検出状況を示した。調査期間に、キノコ類として、ブナシメジ、シイタケ、マイタケ、エリンギ、シメジ等合計107検体を検査したところ、放射性Csを検出したのはシイタケ11件とマイタケ1件であった。シイタケの栽培方法と放射性Cs検出状況を表10に示した。陽性検体11件のうち、原木栽培が10件、菌床栽培が1件とほとんどが原木栽培であった。また、10件が乾燥シイタケ、1件が生シイタケで、今回の調査期間の検体で最も放射性Cs合計値が高かったのは原木乾燥シイタケ(2012年度、静岡県産)の66.0 Bq/kgであった。

まとめ

食品中の放射性Csの検査において、調査期間中総計871件の検査を実施した結果、5.5%の検体から定量下限値を超える放射

性Csを検出したが、基準値を超える検体はなかった。放射性Csは主に水産物、農産物から検出されており、特にシラウオ、ワカサギ、シイタケからは高い割合で検出されていた。また食品中の放射性Cs濃度は年々減少傾向にあり、特に物理的半減期の短い放射性¹³⁴Csは顕著に減少し、放射性¹³⁴Csと放射性¹³⁷Csの比は半減期に依存して低下しており、これは福島第一原発事故後新たな汚染がなく経過したためと考えられる。

食品の放射性物質による汚染は主に放射性Csによるものであり、放射性¹³⁷Csの物理的半減期が約30年であることから、この影響は今後も永く続くと考えられる。これまでの調査において、依然として放射性Csが検出される食品もあることから、食の安全を確保するために今後も放射性Csの動向に注視していく必要があると考えられる。

参考文献

- 1)厚生労働省:食品中の放射性物質の対策と現状について(2023年12月11日現在):<https://www.mhlw.go.jp/content/000982235.pdf>
- 2)厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課事務連絡:“農畜水産物等の放射性物質検査について”,平成23年4月4日(2011)
- 3)厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知:“農畜水産物等の放射性物質検査について”,平成24年3月12日,食安発0312第7号(2012)
- 4)原子力規制委員会:放射能測定法シリーズ No.7 ゲルマニウム半導体検出器によるγ線スペクトロメトリー. 101-114, 2020.
- 5)厚生労働省:令和5年度月別検査結果(2023年12月31日現在):<https://www.mhlw.go.jp/content/11135000/001190370.pdf>
- 6)財団法人原子力環境整備センター:原子力環境整備センター環境パラメータシリーズ 3 淡水から生物への放射性物質の移行. 31-45, 1992.
- 7)Ezure H: Calculation of atom ratios of ¹³⁴Cs/¹³⁷Cs, ¹⁵⁴Eu/¹³⁷Cs and Pu/U, burnup

- and most probable production amount of plutonium in fuel assemblies of JPDR-1. Journal of nuclear science and technology 27(6):562-571, 1990.
- 8) 亭島博彦、江里口知巳、柳田圭悟、堀口文男：東京湾における放射性セシウムの現状解析. Journal of Advanced Marine Science and Technology Society 19(2): 1-11, 2014.
- 9) 環境省：令和 3 年度水環境における放射性物質のモニタリング結果 令和 4 年 12 月：<https://www.env.go.jp/content/000176952.pdf>
- 10) 三宅定明、日笠 司、浦辺研一、原口雅人、大村外志隆：栽培キノコ及び培地中における放射性セシウム濃度. RADIOISOTOPES 57(12):753-757, 2008.
- 11) 齋藤雅典、山田明義、松田陽介、大和政秀：菌類による放射性セシウムの吸収・蓄積. 化学と生物 50(10):748-751, 2012.

Analysis of Radioactive Materials in Food in Aichi Prefecture (FY2012 – FY2022)

Tomoya Nagase, Ryuuji Satou, Hitomi Niimi, Takashi Tanahashi

The accident at Fukushima Daiichi Nuclear Power Station in 2011 resulted in food contamination by radioactive materials, and radioactive substances were detected in various foods. The Ministry of Health, Labour and Welfare (MHLW) established provisional regulatory values and began regulating radioactive substances in food, and subsequently established new regulatory values for radioactive substances on April 1, 2012. In this study, we analyzed the detection status of radioactive substances (radioactive cesium, hereinafter referred to as radioactive Cs) in food conducted at our laboratory from FY2012 to FY2022, when the new regulatory values were applied, with the aim of contributing to basic data for ensuring food safety. As a result, a total of 871 tests were conducted during the study period, and the detection rate of samples exceeding the lower limit of quantification was 5.5%, but there were no detections above regulatory values. Radioactive Cs were mainly detected in fishery and agricultural products, with a particularly high probability of whitebait, smelt, and shiitake mushrooms. In addition, the ratio of ^{134}Cs decreased markedly in both annual transitions, and the ratio of $^{134}\text{Cs}/^{137}\text{Cs}$ decreased. Although the concentration of Cs in foods is decreasing on an annual basis, it is necessary to keep observation on the situation as some samples are still detected.

Key words: food, Radioactive cesium(Cs)

他誌掲載論文抄録

A modified high-resolution melting-based assay (HRM) to identify the SARS-CoV-2 N501Y variant

Aoki A¹, Adachi H, Mori Y¹, Ito M, Sato K, Kinoshita M, Kuriki M, Okuda K, Sakakibara T, Okamoto Y¹, Jinno H¹

¹Faculty of Pharmacy, Meijo University

Journal of virological methods 314:114678. doi:10.1016/j.jviromet.2023.114678(2023)

High-resolution melting (HRM) analysis is a PCR-based method that can be used as a screening assay to identify SARS-CoV-2 variants. However, conventional HRM assays hardly detect slight melting temperature differences at the A-T to T-A transversion. As the N501Y substitution results from A-T to T-A transversion in A23063, few or no studies have shown that a conventional HRM assay can identify N501Y variants. This study successfully developed an HRM assay for identifying the N501Y mutation. Two HRM assays were used in the N501 site because the discrimination results were affected by the virus copy numbers. One is a conventional HRM assay (detectable

at 103-106 copies/mL) and the other is a modified HRM assay by adding the wild-type fragment (detectable at 105-1010 copies/mL). Using viral RNAs from cultured variants (Alpha, Beta, and Gamma), a modified HRM assay correctly identified three N501Y variants because of high-copy-number RNAs in those viral samples. The sensitivity and specificity of the N501Y assay were 93.3% and 100%, respectively, based on 209 clinical samples (105 for N501; 104 for N501Y). These results suggest that our HRM-based assay is a powerful tool for rapidly identifying various SARS-CoV-2 variants.

Establishment of measles virus receptor-expressing Vero cells lacking functional poliovirus receptors

Someya K^{1,2}, Okemoto-Nakamura Y³, Kurata T⁴, Kanbayashi D⁴, Saito N, Itamochi M⁵, Otsuki N^{1,2}, Hanada K⁶, Takeda M^{1,2}

¹Department of Virology III, National Institute of Infectious Diseases, ²Global Specialized Laboratory for Measles and Rubella, The World Health Organization, ³Department of Biochemistry and Cell Biology, National Institute of Infectious Diseases, ⁴Osaka Institute of Public Health, ⁵Toyama Institute of Health, ⁶Department of Quality Assurance and Radiological Protection, National Institute of Infectious Diseases

Microbiology and Immunology 67(3):166-170. doi:10.1111/1348-0421.13047(2023)

Global efforts are underway to eliminate measles and rubella, and active viral surveillance is the key to achieving this goal. In addition, the World Health Organization announced guidelines for handling materials potentially infectious for poliovirus (PV) to minimize the risk of PV reintroduction and to achieve PV

eradication. To support global efforts, we established new PV-non-susceptible cell lines that are useful for the isolation of measles virus (MeV) and rubella virus (RuV) (Vero ΔPVR1/2 hSLAM+). In the cell lines, MeV and RuV replicated efficiently, with no concern regarding PV replication.

国内外感染症のトピックス(ワクチン予防可能感染症を主体に)

皆川洋子

岡崎医報 67(5):13, 2023

2022年11月17日に岡崎市医師会で開催された予防接種協力医講演会研修会において、まず期間限定で第5期定期予防接種実施中の風しん(及び麻しん)、2021年に国として低まん延状態を初めて達成した結核について述べた後、コロナ禍において患者報告数が増えている梅毒及びダニ媒介感染症(ツツガムシ病、日本紅斑熱、重症熱性血小板減少症候群)、南半球や欧米の状況から日

本でも冬の流行の可能性を考慮すべき呼吸器感染症(COVID-19、季節性インフルエンザ、RSウイルス感染症)のトピックスを紹介した。さらに同年夏から秋にかけて流行がみられた手足口病・ヘルパンギーナ、海外渡航制限緩和に伴い患者数増加が懸念される蚊媒介感染症(デング熱、チクングニア熱、ジカウイルス感染症)の状況を紹介した講演の概要を記した。

麻疹・風疹同時検査が可能なマルチプレックス real-time RT-PCR 法の評価

駒林賢一¹、青木洋子¹、佐藤重紀²、齋藤典子、諏訪優希、板持雅恵³、改田祐子⁴、上林大起⁴、倉田貴子⁴、上田 豊⁵、眞榮城徳之⁶、森 嘉生⁷、永井美智⁷、大槻紀之⁷、梁 明秀⁷
¹山形県衛生研究所、²千葉県衛生研究所、³富山県衛生研究所、⁴大阪健康安全基盤研究所、⁵鳥取県衛生環境研究所、⁶沖縄県衛生環境研究所、⁷国立感染症研究所ウイルス第三部
 病原微生物検出情報 44(4):50-51, 2023

麻疹および風疹は症状の類似した発熱発疹性の感染症であり、検査による鑑別が求められる。今回、両者の同時検出法を開発し、国立感染症研究所・病原体検出マニュアル<麻疹・風疹同時検査法>第1版で公開した。

麻疹風疹レファレンスセンター7施設において過去の行政検査の残臨床検体を用い、同時検出法の性能評価を行ったところ、各

ウイルス遺伝子を正確に検出できた。各単独検出法と同時検出法のCt値を比較したところ、麻疹ウイルス遺伝子検出では両法のCt値は同等であった。風疹ウイルス遺伝子検出では単独検出法より同時検出法においてCt値が 0.61 ± 0.53 (平均±標準偏差)大きくなったが、判定への影響は非常に限定的であり、十分に実用に耐えるものと考えられた。

同時検出法は、これまでの各単独検出法から既存の試薬や機器を大きく変更することなく導入が可能で、性能も各単独検出法とおおむね遜色ないことが示された。本法

は簡便かつ効率的に麻疹および風疹検査を実施できることから、麻疹・風疹の病原体サーベイランスへの応用が期待される。

水中の新型コロナウイルス調査（NIJIs）プロジェクトとポリオ環境水サーベイランスについて

吉田 弘¹、喜多村晃一¹、坂 恭平²、北川和寛³、藤沼裕希⁴、小川泰卓⁵、長島真美⁶、小澤広規⁷、葛口 剛⁸、愛知県衛生研究所、板持雅恵⁹、千葉翔子¹⁰、藤本泰之¹¹、木田浩司¹²、濱崎光宏¹³、岩手県環境保健研究センター

¹ 国立感染症研究所ウイルス第二部、² 青森県環境保健センター、³ 福島県衛生研究所、⁴ 千葉県衛生研究所、⁵ 埼玉県衛生研究所、⁶ 東京都健康安全研究センター、⁷ 横浜市衛生研究所、⁸ 岐阜県保健環境研究所、⁹ 富山県衛生研究所、¹⁰ 奈良県保健研究センター、¹¹ 和歌山県環境衛生研究センター、¹² 岡山県環境保健センター、¹³ 福岡県保健環境研究所
病原微生物検出情報 44(7):103-105, 2023

NIJIs (New Integrated Japanese Sewage Investigation for COVID-19) プロジェクトは、2020年7月に命名された下水中の新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) 調査プロジェクトの略称である。わが国では、ポリオ環境水サーベイランス (感染症流行予測調査事業) による下水中のポリオウイルス調査を地方衛生研究所 (地衛研) が行ってきた。既存の地衛研ネットワークを活用しつつ、大学、国土交通省 (国交省) 国土技術政策総合研究所、地衛研、国立感染症研究所 (感染研) で構成された研究班が 2020

年8月に立ち上がり、下水中の SARS-CoV-2 調査に取り組むこととなった。以来、地衛研の入れ替わりがあったものの、12 地衛研と、独自に下水中のウイルス調査研究を実施していた 2 地衛研を加え、延べ 14 施設が下水中の SARS-CoV-2 監視体制を構築すべく研究を実施してきた。研究班では、下水中の SARS-CoV-2 ゲノム検出に関する基盤的技術開発のほか、ポリオ環境水サーベイランスを活用した手法の検討、調査実施時の課題の整理を行った。

近年 (2018-2022 年度) のポリオの予防接種状況および抗体保有状況—感染症流行予測調査より

ポリオ感受性調査実施都道府県 (廣瀬絵美、安井善宏他)、有田峰太郎¹、菊池風花²、林 愛²、新井 智²、神谷 元²、鈴木 基²

¹ 国立感染症研究所 ウイルス第二部、² 国立感染症研究所 感染症疫学センター
病原微生物検出情報 44(8):120-122, 2023

感染症流行予測調査におけるポリオ感受性調査は、ポリオに対する感受性を把握し、効果的な予防接種施策を図るための資料にすることを目的として、乳幼児から高

齢者まで幅広い年齢層における抗体保有状況ならびに予防接種状況の調査を行っている。そこで、不活化ポリオワクチン (IPV) 導入後の 2018~2022 年度に実施されたポリオ

感受性調査の結果ならびに調査対象者の予防接種歴を用いて、近年の推移について検討を行った。

その結果、ワクチン接種率は5歳未満のすべての年齢で95%以上であった。また、2018年度調査以降ではほとんどの調査対

象者がIPV接種歴を持っており、2020年度以降の経口生ポリオワクチン(OPV)接種者は確認されなかった。抗体保有率は多少のばらつきはあるもののすべての型に対して高い値を示し、OPV接種者と比較して1,2,3型間の抗体保有率の差はほぼみられなかった。

麻疹の抗体保有状況－2022年度感染症流行予測調査（暫定結果）

大槻紀之¹、菊池風花²、林 愛²、新井 智²、神谷 元²、鈴木 基²、麻疹感受性調査実施都道府県（愛知県衛生研究所他）

¹ 国立感染症研究所ウイルス第三部、² 国立感染症研究所感染症疫学センター
病原微生物検出情報 44(9):140-142, 2023

2022年度感染症流行予測調査より、麻疹の抗体保有状況をまとめた。乳児の抗体価は母親からの移行抗体の影響を受ける。個人差はあるものの、おおむね6か月以降に漸減し始め、1歳時にはほぼ消失するとされているため、1歳に到達した直後の小児へのワクチン接種を推奨している。また、2020年度以降の新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の流行で定期接種(1歳の第1期と小学校入学前1年間の第2期の2回接種)の一時的な接種控えが発生し、厚生労働省ならびに日本小児科学会では予防接種を遅らせ

ないように積極的な勧奨を行った。しかし、今回の結果では1歳児や10代の抗体保有率の低さが目立つ結果となっていた。COVID-19流行に伴い制限されていた海外との往来が緩和され、麻疹感染者の海外からの流入に起因する集団発生を抑え込むため、高い予防接種率とすべての年齢層の95%以上の抗体保有率の維持が重要である。引き続き、抗体保有状況調査は今後の麻疹対策および麻疹排除の維持を継続していくうえで重要である。

2022/23シーズンのインフルエンザ分離株の解析

岸田典子¹、中村一哉¹、藤崎誠一郎¹、高下恵美¹、佐藤 彩¹、秋元未来¹、三浦秀佳¹、森田博子¹、永田志保¹、白倉雅之¹、菅原裕美¹、渡邊真治¹、長谷川秀樹¹、インフルエンザ株サーベイランスグループ（安達啓一、中村範子他）

¹ 国立感染症研究所インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター
病原微生物検出情報 44(11):171-176, 2023

2022/23インフルエンザシーズンは、世界的に新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)の流行前のような規模の流行となった。流行の様相は各国様々で、北米は流行の立ち上がり早く2022年12月中にピークに達しその後減少した。一方、欧州では立ち上がりは

例年並みであったが、2023年5月近くまで流行が確認された。A型・B型ウイルスともに検出され、A型の検出数がB型のそれよりも多かった。A型は、前半はA(H3N2)が、後半はA(H1N1)pdm09がより多く検出された。B型はすべてがVictoria系統であった。

日本においては、SARS-CoV-2 流行前の規模より小さかったが、2019/20 シーズン以来の3シーズンぶりの流行となった。A (H1N1)

pdm09、A (H3N2)、B/Victoria 系統のすべてが検出されたが、A (H3N2) が流行の主流(約94%)であった。

2022 年度感染症流行予測調査におけるインフルエンザ予防接種状況および抗体保有状況 (2023 年 4 月現在)

2022 年度インフルエンザ感受性調査・予防接種歴調査実施都道府県 (安達啓一、齋藤典子他)、渡邊真治¹、長谷川秀樹¹、菊池風花²、林 愛²、北本理恵²、新井 智²、神谷 元²、鈴木 基²

¹ 国立感染症研究所インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター、² 国立感染症研究所感染症疫学センター

病原微生物検出情報 44(11):176-179, 2023

接種歴調査の結果では、2~12 歳の接種割合が他の年齢群に比べて高く、かつ 2 回接種の割合が高かった。一方、13~64 歳の 1 回以上接種割合は 36.1%、65 歳以上では 44.7%であった。インフルエンザ抗体保有割合は、A(H1N1)pdm09 亜型では 10~14 歳、A (H3N2) 亜型では 40~44 歳、B 型 (山形系統) では 30~34 歳および 55~59 歳、B 型 (Victoria 系統) では 55~59 歳でピークを

示した。一方で、0~4 歳群における抗体保有割合はすべての亜型に対して 10-20%前後で推移し、また、65 歳以上でも約 30%以下と低い傾向であった。また、B 型 (Victoria 系統) においては、50~59 歳群に 20%台の保有割合が認められたが、40~45 歳群以下では 10%以下の保有割合で抗体保有割合の低下が顕著であった。

手足口病病原体検査マニュアル 令和 5 年 6 月 Ver. 2

北川和寛¹、佐野貴子²、皆川洋子、伊藤 雅、中田恵子³、河瀬 曜⁴、山下育孝⁴、四宮博人⁴、芦塚由紀⁵、小林孝行⁵、濱崎光宏⁵、水田克巳⁶、篠田大輔⁷、塚越博之⁷、猿木信裕⁷、小室慶子⁸、蕪木康郎⁹、長島真美¹⁰、岡本玲子¹¹、調 恒明¹¹、上野 (菊池) みなみ¹²、喜多村晃一¹²、西村順裕¹²、有田峰太郎¹²、藤本嗣人¹²

¹ 福島県衛生研究所、² 神奈川県衛生研究所、³ 大阪府立公衆衛生研究所、⁴ 愛媛県立衛生環境研究所、⁵ 福岡県保健環境研究所、⁶ 山形県衛生研究所、⁷ 群馬県衛生環境研究所、⁸ 茨城県衛生研究所、⁹ さいたま市健康科学研究センター、¹⁰ 東京都健康安全研究センター、¹¹ 山口県環境保健センター、¹² 国立感染症研究所

病原体検出マニュアル; <https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/HFMdis20230704.pdf>

感染症法において五類定点把握及び病原体検索対象となっている手足口病の病原体マニュアルについて、主に遺伝子検出と塩基配列解析に基づく同定・型別・分子疫学

解析法に関する記載が更新され、国立感染症研究所ホームページにアップロードされた。

インフルエンザ診断マニュアル（第5版）

国立感染症研究所インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター、国立感染症研究所感染症危機管理研究センター、地方衛生研究所（安達啓一他）

病原体検出マニュアル; <https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/influenza20230829.pdf>

感染症法において五類定点把握及び病原体検索対象となっているインフルエンザの病原体マニュアルについて、主にプライマー・プローブ情報の整理、使用機器の見

直し、及び軽微な文言の追加・修正が行われ、国立感染症研究所ホームページにアップロードされた。

Changes in zinc and manganese concentrations in cisplatin-induced acute kidney injury

Yamamoto Y¹, Hotta Y^{1,2}, Tomita N¹, Naiki-Ito A³, Kitagawa A¹, Kuboshiki U¹, Hagita T¹, Noda M¹, Sanagawa A^{1,2}, Kataoka T⁴, Kondo M², Furukawa-Hibi Y^{1,2,4}, Takahashi S³, Kimura K^{1,2,4}

¹Department of Hospital Pharmacy, Nagoya City University Graduate School of Pharmaceutical Sciences, ²Department of Pharmacy, Nagoya City University Hospital, ³Department of Experimental Pathology and Tumor Biology, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, ⁴Department of Clinical Pharmaceutics, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences

Biochemistry and Biophysics Reports 33:101422. doi:10.1016/j.bbrep.2023.101422(2023)

Cisplatin (CDDP) is a widely used anticancer drug, but acute kidney injury (AKI) is one of the most important dose-limiting factors. Trace metal elements are present in various concentrations in the body and play an important role in maintaining normal vital functions. However, the relationship between CDDP-induced AKI and trace metal elements is unknown. In this study, we cultured human renal proximal tubular epithelial cells in the presence of CDDP (0, 12.5, 25, 50 μ M) and analyzed the concentration of trace elements in medium after 24 h. We found that CDDP significantly increased the concentrations of zinc (Zn) and manganese (Mn) in medium and significantly decreased them in lysate.

Therefore, we examined the effects of CDDP (3 mg/kg, i.p.) administration on serum and urinary Zn and Mn concentrations in rats. The results showed that urinary excretion of Zn and Mn increased in CDDP-treated rats 5 days after administration. Also, 5 days after administration, pyknosis, nuclear loss, loss of the brush border membrane, and DNA fragmentation were observed, and serum creatinine and blood urea nitrogen levels were found to be significantly increased. These data suggested that 24-h excretion of Zn and Mn might reflect on CDDP induced nephropathy. Monitoring urinary Zn and Mn excretion may be beneficial in detecting AKI, but further studies are needed for clinical application.

The relationship between changes in serum element concentrations and pathological condition and disease status in Japanese multiple myeloma patients: A pilot study and literature review

Yamamoto Y¹, Kondo M^{2,3}, Hotta Y^{1,3,4}, Tashiro Y⁴, Sanagawa A^{1,3,4}, Kataoka T^{3,5}, Furukawa-Hibi Y^{3,4}, Ri M⁶, Komatsu H⁶, Iida S⁶, Kimura K^{1,3,4}

¹Department of Hospital Pharmacy, Nagoya City University Graduate School of Pharmaceutical Sciences, ²Department of Pharmacy, Nagoya City University Hospital East Medical Center, ³Department of Clinical Pharmaceutics, Nagoya City University Graduate School of Medical Sciences, ⁴Department of Pharmacy, Nagoya City University Hospital, ⁵Department of Pharmacology, Graduate School of Pharmaceutical Sciences Chiba Institute of Science, ⁶Department of Hematology and Oncology, Nagoya City University Graduate School of Medical Science

Asian Pacific Journal of Cancer Prevention 24(7):2493-2503. doi:10.31557/APJCP.2023.24.7.2493(2023)

Multiple myeloma (MM) is a rare cancer, and information on its pathological condition and serum element levels is lacking. In this pilot study, we examined serum element concentrations in Japanese patients with MM by a comprehensive multi-element analysis. This is a case-control study of 12 Japanese patients diagnosed with MM at the Nagoya City University Hospital between 2008 and 2013. Blood samples were taken, at the initial diagnosis and at relapse. The serum concentrations of 12 elements were analyzed by inductively coupled plasma mass spectrometry and compared between MM patients and non-MM volunteers. We also analyzed the correlation between serum element concentrations and laboratory values related to disease

status and tumor volume of MM. We found that serum chromium (Cr), copper (Cu), molybdenum (Mo), and barium (Ba) concentrations were significantly increased in MM patients. Ba was significantly increased in MM patients, suggesting an association with bone lesions. There was no consistent trend between these elements and existing indices related to MM tumor volume and disease status. Although this is a pilot study, serum Cr, Cu, Mo, and Ba concentrations were found to be significantly elevated in MM patients. Further studies with large sample sizes are needed, since the changes in serum concentrations of these elements may reflect the pathological condition of MM.

愛知県衛生研究所報

第 74 号

令和 6(2024)年 3 月 発行

〒462-8576

名古屋市北区辻町字流 7 番 6

愛知県衛生研究所

電話：052-910-5618（代表）

FAX：052-913-3641

e-mail: eiseiken@pref.aichi.lg.jp

愛知県衛生研究所ウェブサイト：<https://www.pref.aichi.jp/eiseiken>

電話（ダイヤルイン）

総務課	052-910-5618
企画情報部	
健康科学情報室	052-910-5619
生物学部	052-910-5654
ウイルス研究室	052-910-5674
細菌研究室	052-910-5669
医動物研究室	052-910-5654
衛生化学部	052-910-5638
医薬食品研究室	052-910-5639
生活科学研究室	052-910-5643

Published by

AICHI PREFECTURAL INSTITUTE OF PUBLIC HEALTH
7-6 Nagare, Tsuji-cho, Kita-ku, Nagoya, 462-8576 Japan
(この刊行物は再生紙を使用しています)