

### 3 他誌掲載論文、学会発表等



1 他誌掲載論文

なし

2 学会発表等

- (1) 面村 仁志、伊藤 裕美、福本 智也：HPLC-ICP-MSによる魚介類中のメチル水銀迅速分析法の検討、第58回全国衛生化学技術協議会年会、WEB開催(2021年)
- (2) 伴創一郎、端谷柚希：京都市における有害大気汚染物質の経年変化、第36回全国環境研協議会東海・近畿・北陸支部研究会、書面開催(2022年1月)
- (3) 伴創一郎、端谷柚希、大見武夫：HPLC法による特定悪臭物質アルデヒド類の分析条件の検討、第36回全国環境研協議会東海・近畿・北陸支部研究会、書面開催(2022年1月)



#### 4 衛生環境研究所セミナー



## 令和3年度 衛研セミナー発表演題

令和3年度の衛研セミナーは、新型コロナウイルス感染症感染拡大を防止するため、イントラネットの共有フォルダ上のファイルを閲覧する方式で行った。

・公開期間 令和4年3月11日から令和4年3月31日まで

	テーマ	所属	発表者
1	HPLC-ICP-MSによる魚介類中のメチル水銀迅速分析法の検討	生活衛生部門	西村 仁志
2	LC/MS/MSによるフグ毒テトロドトキシン分析法の検討について	生活衛生部門	村上 兆司
3	京都市内におけるマダニの生息調査について（続報）	微生物部門	川崎 成人
4	京都市と畜場搬入豚で発見された豚サルモネラ症の検査及び分析	食肉検査部門	森田 鮎子



## HPLC-ICP-MS による魚介類中のメチル水銀迅速分析法の検討

衛生環境研究所 生活衛生部門

○面村 仁志、伊藤 裕美、福本 智也

## 【目的】

魚介類に含まれる水銀については、一部の魚種を除き、暫定的規制値（総水銀 0.4 mg/kg、メチル水銀 0.3 mg/kg）が設定されている<sup>1)</sup>。通知の中で、検査はまず総水銀の検査を行い、その結果が 0.4 mg/kg を超える場合は、さらにメチル水銀の検査を行い、その結果が 0.3 mg/kg を超えたものを暫定的規制値を超えた魚介類と判定するとされているが、両検査とも操作が煩雑で、総水銀では硫酸、メチル水銀ではベンゼンを大量に使用するなど、改良すべき点が多い。

本市では、総水銀についてはマイクロ波分解－還元気化原子吸光分析法により迅速かつ安全な検査<sup>2)</sup>を行っているが、メチル水銀については公定法であるベンゼン抽出－ガスクロマトグラフ－電子捕獲型検出法で行っており、多くのガラス器具の準備や洗浄、抽出時のエマルジョン形成や回収率の低さなどに苦慮している。

今回、新たに導入した高速液体クロマトグラフ－誘導結合プラズマ質量分析装置（HPLC-ICP-MS）（図 1）を用いて、魚介類中のメチル水銀を正確かつ迅速に定量できる方法を検討したところ、若干の知見が得られたので報告する。

## 【方法】

魚介類中のメチル水銀の定量に HPLC-ICP-MS を採用している米国食品医薬品局（FDA）の元素分析マニュアル<sup>3)</sup>を参考にした（図 2、検討①）。また、FDA よりも短時間に抽出できないかも試みた（検討②～④）。

【試料】認証標準物質 NMIJ CRM 7402-a（タラ魚肉粉末、メチル水銀認証値：水銀として 0.58 ±

0.02 mg/kg）および 7 種の魚介類を用いた。

【標準液】ナカライテスク(株)製塩化メチル水銀を 1%L-システイン塩酸塩一水和物水溶液（1%L-Cys）に溶解し、0.06、0.3、0.6、1 および 3 μg Hg/L の検量線用標準液を用時調製した。

【試薬】L-システイン塩酸塩一水和物および L-システインは富士フィルム和光純薬(株)製、酢酸アンモニウムは SIGMA-ALDRICH 製を用いた。

【測定条件】装置測定条件は、表に示すとおり。



図 1 HPLC-ICP-MS

表 装置測定条件

<b>HPLC</b>	
装置	: 島津 LC-20A
カラム	: GL Sciences Inertsil ODS-3 (5 μm、内径 4.6 mm×長さ 150 mm)
カラム温度	: 40°C
移動相	: 0.1%L-システイン+0.1%酢酸アンモニウム
流速	: 1.0 mL/min
注入量	: 50 μL
<b>ICP-MS</b>	
装置	: 島津 ICPMS-2030
高周波出力	: 1.2 kW
サンプリング深さ	: 5.0 mm
プラズマガス流量	: 8.0 L/min
補助ガス流量	: 1.10 mL/min
キャリアガス流量	: 0.70 L/min
試料導入	: 同軸ネブライザー
チャンバー	: サイクロンチャンバー（電子冷却）
プラズマトーチ	: ミニトーチ
セルガス	: He
セルガス流量	: 6.0 mL/min
セル電圧	: -21 V
エネルギーフィルター	: 7.0 V
Hg 質量	: 202

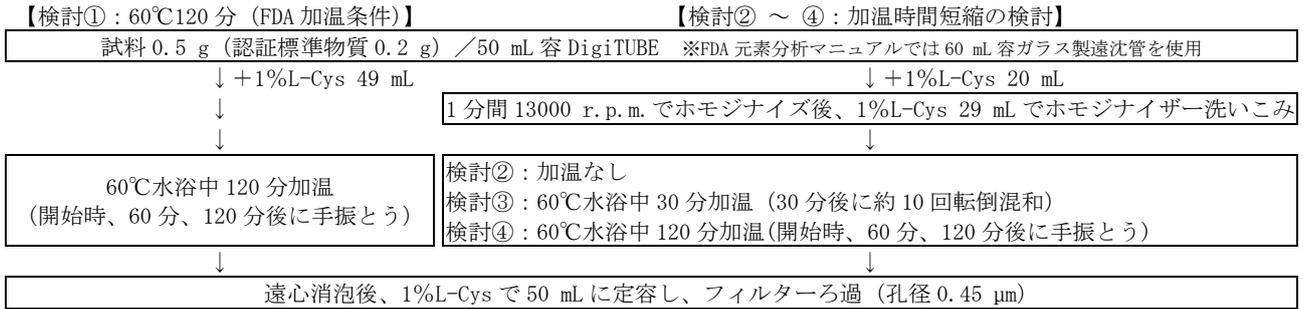


図 2 試験溶液の調製フロー

【結果】および【考察】

基準値の 1/10 に相当する標準液 0.3 μg Hg/L のピーク (図 3) の S/N は 16、連続 6 回測定時のピーク面積の相対標準偏差は 2.2% と感度および精度は良好であった。検量線の直線性も問題なかった ( $R^2 = 0.99974$ )。また、無機水銀、エチル水銀およびフェニル水銀との分離も確認した。

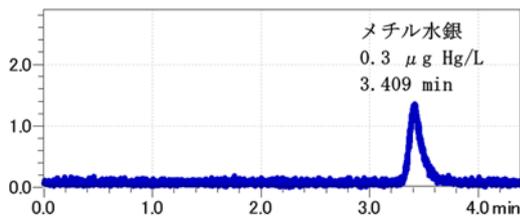


図 3 クロマトグラム

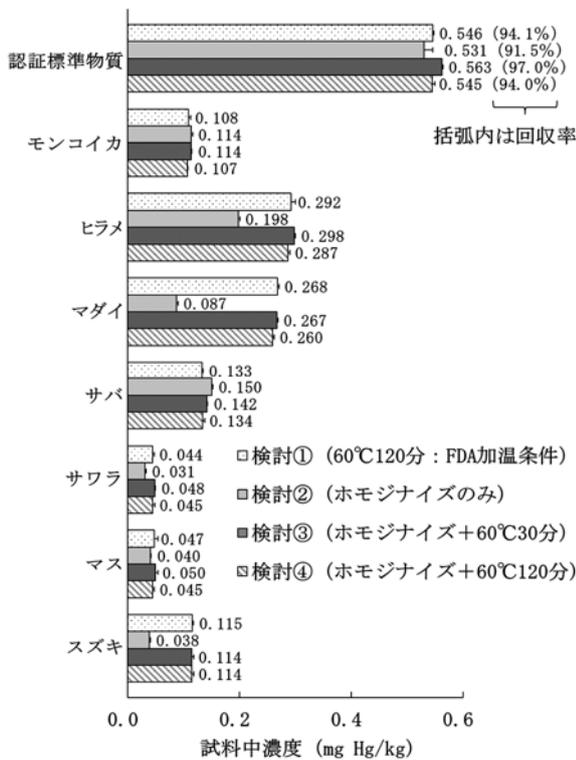


図 4 検討結果 (n = 3)

図 4 に検討結果を示す。FDA の加温条件 (検討①) での認証標準物質の回収率は、94.1% と良好であった。しかし、加温時間が 120 分と長いため、時間短縮を検討した。時間を短縮すると、試料の分散・溶解が不十分となったため、ホモジナイズを実施した。0 分、30 分および 120 分の各加温時間 (検討②～④) における認証標準物質の回収率は、それぞれ 91.5%、97.0% および 94.0% と加温 30 分が最も良い結果であった。7 魚種についても、同様の傾向があった。以上より、ホモジナイズは必要であるが、加温時間 30 分で効率良く抽出できることが示された。

【まとめ】

1%L-Cys による検討③の抽出条件 (ホモジナイズ+60℃水浴中 30 分加温) と HPLC-ICP-MS を組み合わせることで、正確かつ迅速に魚介類中のメチル水銀を定量できることが示唆された。

今後は、公定法との濃度比較や妥当性評価などの検証を行い、収去検査に利用したい。

【参考資料】

- 1) 厚生省環境衛生局長通知：魚介類の水銀の暫定的規制値について、昭和 48 年 7 月 23 日、環乳第 99 号 (1973)
- 2) 並河 幹夫：マイクロウェーブ分解装置を用いた魚中の総水銀分析の妥当性評価、京都市衛生環境研究所年報、No. 83、89-90 (2017)
- 3) Susan C. Hight, John Cheng: HPLC-ICP-MS Determination of Methylmercury and Total Mercury in Seafood, U.S. FDA Elemental Analysis Manual, Section 4.8 (2008)

## LC/MS/MSによるフグ毒テトロドトキシン分析法の検討について

生活衛生部門

○村上 兆司、藤木 学、中山 岳明、山田 早希、福田 光治、福本 智也

## 1 はじめに

我が国では、フグ毒のテトロドトキシン（以下、TTX とする。）による食中毒が毎年10～20件（過去5年実績）の推移で発生している。本食中毒は重篤な症状となることが多く、最悪の場合、死に至ることもあることから、注意を要する食中毒である。

第一市場内検査室では、京都市中央卸売市場第一市場においてフグ加工品を収去し、公定法であるマウス毒性試験法により検査を実施している。しかし、本法はマウスの調達に時間を要するとともに、マウスの厳格な管理も必要なため、食中毒発生時に迅速な検査を実施することが困難である。また、近年の動物愛護の観点から、使用マウス数をいかに減らしていくのかも重要な課題となっており、複数の検査機関でもすでに理化学的検査法の検討がされているところである<sup>1)2)3)</sup>。

今回、当検査室でも理化学的検査法として、高速液体クロマトグラフ質量分析計（以下、LC/MS/MS とする。）による TTX の分析法について検討したので報告する。

## 2 方法

## (1) 試料

トラフグの筋肉

## (2) 試薬等

TTX 標準品：和光純薬工業（株）製生化学用

蒸留水：ナカライテスク（株）製 HPLC 用

メタノール：ナカライテスク（株）製 HPLC 用

アセトニトリル：ナカライテスク（株）製 HPLC 用

酢酸：ナカライテスク（株）製特級

ギ酸：富士フィルム和光純薬（株）製 LC/MS 用

ODS ミニカラム：Agilent Technologies 社製 Bond Elut C18(500mg)

メンブレンフィルター：アドバンテック（株）製 DISMIC-13CP (PORE SIZE：0.45 μm)

HPLC 用カラム：Waters 社製 Atlantis HILIC Silica 3 μm (2.1×150mm)

TTX 標準品は、標準品 1mg を蒸留水 1mL で溶解したものを標準原液（1000 μg/mL）とし、適宜 2% 酢酸で希釈して使用した。

## (3) 装置

高速液体クロマトグラフ：島津製作所（株）製 LC-30AD

質量分析計：島津製作所（株）製 LCMS-8030

## (4) 測定条件

## ア LC 条件

移動相：0.1%ギ酸水溶液 (A 液) 及び 0.1%ギ酸含有アセトニトリル (B 液)

グラジエント条件：0min(A:B=5:95)→0.01min(A:B=40:60)→20min(A:B=40:60)

流速：0.2 mL/min

カラム温度：40 °C

注入量：10 µL

## イ MS 条件

ネブライザーガス流量：3.0L/min

ドラインガス流量：15 L/min

ヒートブロック温度：400 °C

DL 温度：250 °C

イオン化法：エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法 (ポジティブモード)

定量イオン：プリカーサーイオン  $m/z$ :319.90、プロダクトイオン  $m/z$ :162.10

コリジョンエネルギー：40eV

## (5) 測定溶液の調製

測定溶液の調製のフローを図 1 に示した。

抽出工程として、ポリプロピレン製遠沈管に試料 5.0 g を秤量し、2%酢酸溶液 10 mL を加え、1 分間ホモジナイズを行い、沸騰水浴中で時々攪拌しながら 10 分間加熱した。15 分間の室温放冷後、4,200rpm で 10 分間遠心分離し、上清を 5 A ろ紙を用いて吸引ろ過した。残渣に 2%酢酸溶液 10 mL を加え、30 秒間のホモジナイズ後、再度同様の条件で遠心分離及び吸引ろ過を行い、先のろ液と合わせて 2%酢酸溶液で 25mL に定容した。このうち、1mL を分取し、2%酢酸溶液で 10 倍希釈したものを抽出液とした。

精製工程として、抽出液 5mL を予めメタノール 10mL、蒸留水 10mL でコンディショニングした Bond Elut C18 500mg に負荷し、はじめの 2mL を捨て、残り 3mL を採取した。これに 13,000rpm で 3 分間遠心分離し、得られた溶液を DISMIC-13CP (PORE SIZE : 0.45 µm) に通じ、測定溶液とした。

## (6) 検量線

検量線は、ブランク検体から得られた測定溶液を用いて、TTX 0.01、0.02、0.04、0.06 及び 0.1 µg/mL の 5 点でマトリックス検量線を作製した。

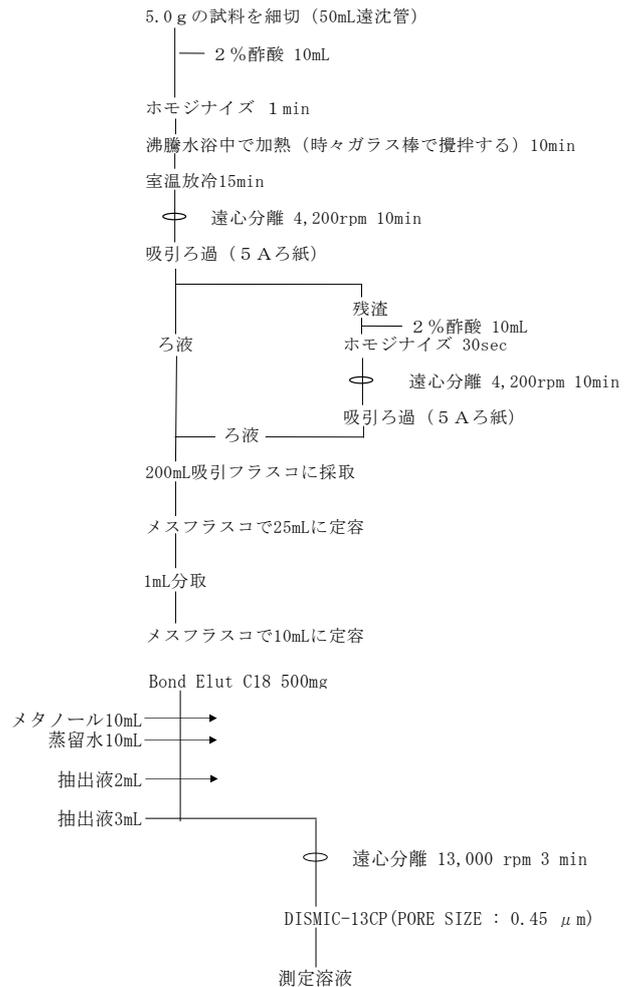


図 1 測定溶液調製のフロー

## (7) 妥当性評価の方法

1日1回(2併行)、5日間の添加回収試験を実施し、妥当性評価を行った。TTX標準添加量は、無毒量として $2.0\mu\text{g/g}$ の濃度となるように調製した。

これにより得られたデータを基に、厚生労働省通知「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」(以下、「ガイドライン」という。)<sup>4)</sup>の基準を参考にして妥当性評価を行った。

## 3 結果

## (1) クロマトグラム及び検量線

妥当性評価時の検量線作製で得られたクロマトグラム(TTX $0.1\mu\text{g/mL}$ )及び検量線(TTX $0.01\sim 0.1\mu\text{g/mL}$ )を一部抜粋して図2及び図3で示した。

クロマトグラフに妨害ピークは見られず、シャープなピークが確認できた。また、検量線においては、寄与率 $R^2=0.9875\sim 0.9919$ の範囲で一定の直線性がある検量線が得られた。

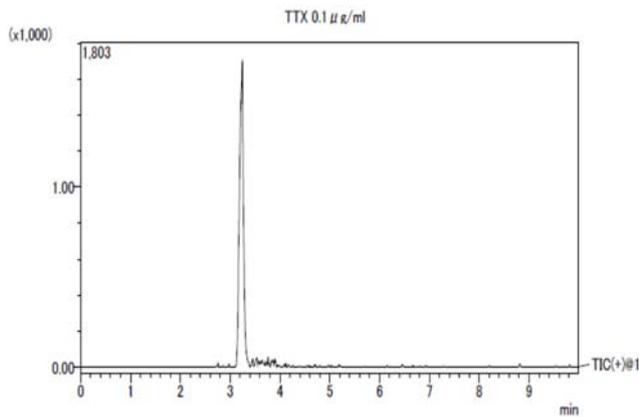


図2 クロマトグラム

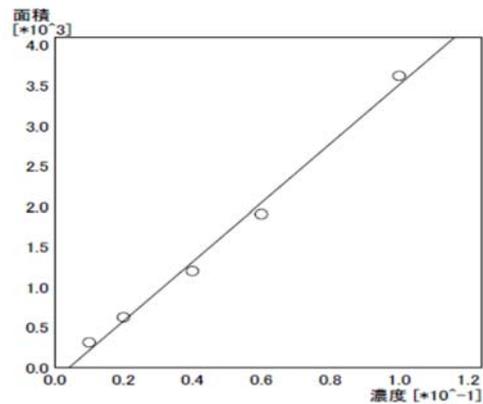


図3 検量線

## (2) 妥当性評価結果

妥当性評価結果及びガイドラインの基準は表1に示した。

真度、併行精度及び室内精度の全てにおいて、ガイドラインにある基準を満たす値が得られた。

表1 妥当性評価結果

	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
妥当性評価結果 (0.04ppm)	76.04	5.06	9.33
ガイドライン基準 (0.01< ~ ≤0.1ppm)	70 ~ 120	15>	20>

#### 4 考察

検討時当初は、公定法であるマウス毒性試験に基づき、抽出溶媒に 0.1%酢酸溶液を用いた抽出工程に ODS ミニカラム等での精製工程を組み合わせた方法を試みたが、真度が著しく低くなってしまった。その理由として、TTX の抽出不足及び試料由来のマトリックス成分による MS でのイオン化抑制が示唆されたため、次の改良を加えた。

第一に、TTX の抽出効率を上げるため、ホモジナイズの回数を 2 回に増やした。第二に、高い回収率（真度）が得られた報告があったため、抽出溶媒を 2%酢酸溶液に変更した<sup>5)</sup>。第三に、マトリックス成分によるイオン化抑制の影響を緩和するため、抽出液の希釈を行った。第四に、検量線としてマトリックスの影響を反映させるため、マトリックス検量線を採用した。

その結果、妥当性評価において真度、併行精度及び室内精度ともに参考としたガイドラインの基準を満たしたため、一定の再現性が認められたものと考えられる。

#### 5 まとめ

LC/MS/MS による TTX 分析法の検討及び妥当性評価を実施した結果、参考ガイドラインの基準を全て満たすことができた。本法は、マウス毒性試験を行う前の予備試験として、予め毒力を把握することでマウスの使用数を減らすことに寄与できるものと思われる。

今後は、別種類のフグを用いた再現性等の追加検討を行うとともに、本法の抽出液の希釈倍率、抽出液溶媒の種類や測定条件の見直しを行うことにより更なる改善をしていきたいと考えている。

#### 6 参考文献

- 1) 下堂菌栄子ほか；フグ中毒事例における LC/MS/MS によるテトロドトキシン分析、鹿児島県環境保健センター所報 第 11 号、2010
- 2) 立野幸治ほか；LC-MS/MS によるふぐ組織中のテトロドトキシン試験法の検討、山口県環境保健センター所報 第 53 号、2010
- 3) 浦山豊弘ほか；LC/MS/MS を用いた自然毒の迅速分析法の検討、岡山県環境保健センター年報 37、2013
- 4) 厚生労働省医薬食品局；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
- 5) 赤木浩一、畑野和広；LC/MS/MS によるフグ組織及びヒト血清・尿中のテトロドトキシンの分析、食衛誌、47 46~50、2006

## 京都市内におけるマダニの生息調査について (続報)

微生物部門

○川崎 成人、橋本 貴弘<sup>1</sup>、力身 覚、仲井まなみ  
(1 現 生活衛生部門)

## 1 目的

マダニは、クモ綱ダニ目に属する節足動物である。山林の下草や地表に生息しており、哺乳類や鳥類、爬虫類等さまざまな動物を吸血する。マダニは、吸血による刺咬被害だけでなく、吸血の際に病原体を媒介するベクターとして注目されている。国内では、ダニ媒介性感染症として、従来からリケッチャ感染症の日本紅斑熱やツツガムシ病、ボレリアによるライム病、ウイルス感染症のダニ媒介性脳炎及び重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) 等が知られてきた。SFTSについては平成25年1月に感染した患者が国内で初めて報告されてから現在では西日本を中心として令和3年7月時点で26都府県から患者が報告されている。

平成23年に刺咬被害や感染症を引き起こすマダニの京都市内における生息状況を調査しており、北部、東部、西部周辺の山間地域及び山際の人を通る場所において、多種多数のマダニが生息するのを確認している。

平成26年度からは、野生鹿の目撃情報がある宝ヶ池公園へ、月1回採集に出向き、マダニの生息実態を調査している。平成31年度からは市内北部の山間部に位置する氷室地域でのマダニの生息調査を、さらに令和2年度から市内南部に位置する醍醐地域で調査を行い、採集したマダニの種別を詳しく調べた。加えて年間消長を観察し、季節による優占種の変化をみた。

## 2 方法

## (1) マダニの採集と同定

フランネル布を用いた flagging 法 (旗ぶり法) によって植生上のマダニを採集した。採集したマダニは、外部形態により種の同定を行い集計した。

## (2) 採集場所と調査期間

市内公園：宝ヶ池公園内、市内北部山間部：氷室地域内、市内南部：醍醐地域内  
令和3年1月～令和3年12月

## 3 結果と考察

宝ヶ池公園内で採集したマダニは、フタトゲチマダニ 65 個体 (成虫 30、若虫 35)、キチマダニ 376 個体 (成虫 97、若虫 279)、計 441 個体であった。調査期間を通じてキチマダニが全体採集の 85.3% を占めており、優占種となっている。これらマダニの季節的な消長をみると、フタトゲチマダニは、3月～11月にかけて多く採集できたが、9月以降は採集数が減少した。一方、キチマダニは7月～9月を除いて採集された。(図1)

氷室地域内で採集したマダニは、フタトゲチマダニ 20 個体 (成虫 1、若虫 19)、キチマダニ 120 個体 (成虫 18、若虫 102)、ヒゲナガチマダニ 42 個体 (成虫 42)、ヤマトマダニ 2 個体 (成虫 2)、計 184 個体であった。調査期間を通じてキチマダニが 65.2% であり優占種となっている。これらマダニの季節的な消長をみると、フタトゲチマダニはほぼ2月～6月と9月は採集されており、他の月は採集されなかった。キチマダニは7月～9月を除いて採集された。ヒゲナガチマダニは12月～3月に採集された。ヤマトマダニは4月のみ採集された。また、2月にタカサゴキラマダニの若虫が1個体採集された。(図2)

醍醐地域内で採集したマダニは、フタトゲチマダニ 13 個体 (成虫 6、若虫 7)、キチマダニ 37 個体 (成虫 18、若虫 19)、ヒゲナガチマダニ 14 個体 (成虫 14)、ヤマトマダニ 1 個体 (成虫 1)、計 65 個体であっ

た。調査期間を通じてキチマダニが56.9%であり優占種となっている。これらマダニの季節的な消長をみると、フタトゲチマダニは4月～9月まで採集されており、1月～3月、10月～12月は採集されなかった。キチマダニは1月～4月及び10月～12月に採集され、5月～9月は採集されなかった。ヒゲナガチマダニは1月～4月及び12月に採集され、5月～11月は採集されなかった。ヤマトマダニは5月のみ採集された。また、3月にタカサゴキララマダニの若虫が1個体採集された。(図3)

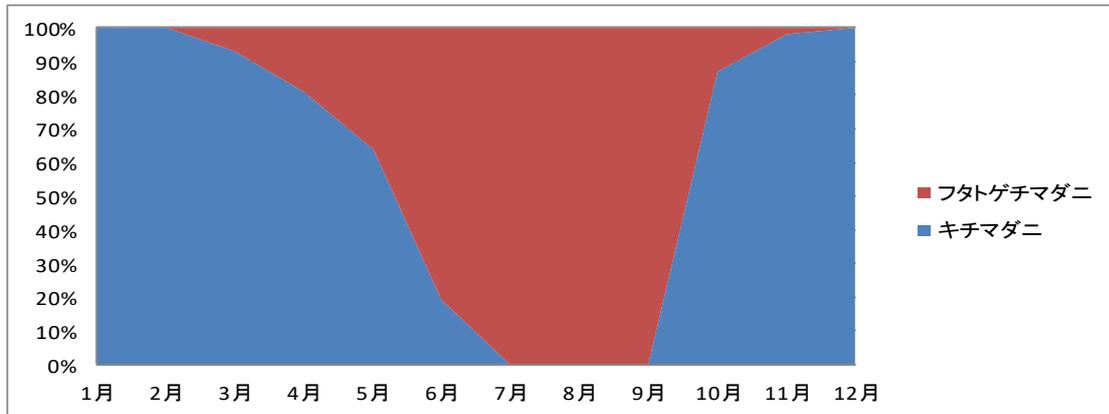


図1 採集全体に占める割合 (宝ヶ池公園)

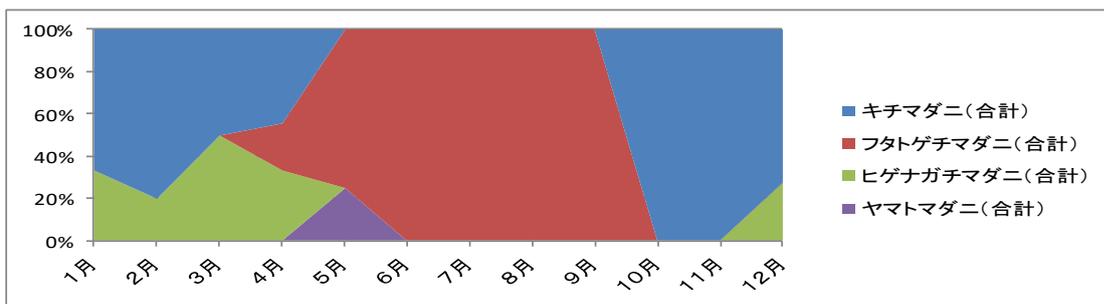


図2 採集全体に占める割合 (氷室地域内)

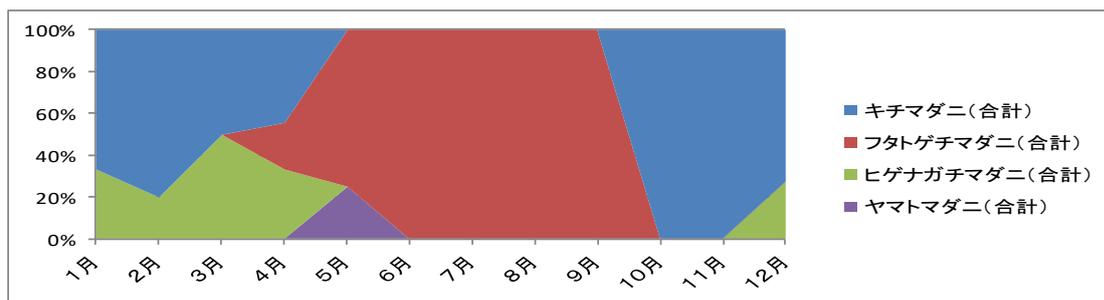


図3 採集全体に占める割合 (醍醐地域内)

宝ヶ池公園内、氷室地域内及び醍醐地域内で採集されたマダニは4種類であり、以下のような特徴がある。フタトゲチマダニ(図4)体長2~3.0mm、背板は赤みがかった黄色、肛門の後方に肛囲溝があり、胴後縁に花彩を持っている。口器触肢第3節後縁は背腹ともに棘をもち第2節外縁が突出した後外角はやや強い。多数の大・中型野生哺乳類や鳥類にも少数ずつ見られ、ヒトの寄生例もある。キチマダニ(図5)体長2~3.0mm、体は黄色、肛門の後方に肛囲溝があり、胴後縁に花彩を持っている。口器触肢第2節の後外角をもつ。成虫は多くの野生動物に寄生する。ヒゲナガチマダニ(図6)体長2~3.0mm、体は茶褐色、肛門の後方に肛囲溝があり、胴後縁に花彩を持っている。雌雄とも口器触肢第2節が側方にほとんど

突出しない。ヤマトマダニ (図7) 体長約 3.0mm、体は黄褐色、肛門の前方に肛囲溝があり、胴後縁に花彩を欠く。成虫はヒトを含む大型の哺乳類に寄生する。国内でのヒト寄生症例のもっとも多い種である。



図4フタトゲチマダニ (♀) 図5キチマダニ (♀) 図6ヒゲナガチマダニ (♀) 図7ヤマトマダニ (♀)

さらに今回氷室地域及び醍醐地域内では、新たにタカサゴキララマダニの若虫が採集された。タカサゴキララマダニ若虫 (図8) 成虫は体長 10mmに近く、国内最大種である。雌の背板の後半は三角形をなし黄土色の地に赤褐色の斑紋をもつ。成虫は大・中型哺乳類を嗜好し、幼若虫は中・小型動物を吸血する。人の刺咬例はかなり多いマダニである。

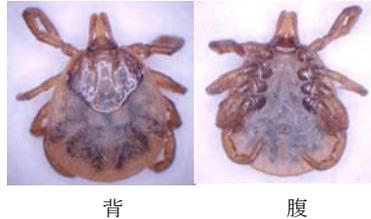


図8 タカサゴキララマダニ若虫

#### 4 まとめ

平成 26 年度より宝ヶ池公園内で調査を行い、概ねフタトゲチマダニ、キチマダニの 2 種類が採集された。また追加した氷室地域及び醍醐地域で調査したところ、この 2 種類以外にヒゲナガチマダニ、ヤマトマダニが採集され、さらにタカサゴキララマダニの若虫が採集された。宝ヶ池公園は、自然豊かな公園に住宅地が隣接している。氷室地域は自然豊かな山地に住宅がまばらに点在している。醍醐地域は山すそに住宅地が接している。植物層や動物層が違う 3 地域を単純に比較するのは難しいが京都市内においてマダニの分布に違いのあることがわかった。

今後も継続して京都市におけるマダニの分布や生息状況を調査するとともに、マダニの刺咬被害を防ぐよう市民啓発を行うことや環境改善を行うことが重要であると思われる。

## 京都市と畜場搬入豚で発見された豚サルモネラ症の検査及び分析

京都市衛生環境研究所食肉検査部門

○森田 鮎子、平岩 悟、杢尾 慧以、佐藤 健介、  
美濃部 仁志、児玉 泰輔、中村 雄一、蛭名 麻千子

## 目的

豚サルモネラ症は世界各国に分布し、わが国でも 1990 年代以降各地で多発している、敗血症や下痢症を主徴とする感染症である。豚で分離頻度の高い 2 種類の血清型、*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Choleraesuis* (以下「SC」という) 及び *S. Typhimurium* は家畜伝染病予防法において届出伝染病に指定されており、人の食中毒の原因ともなる。京都市と畜場では、2019 年 7 月に 8 年ぶりとなる豚サルモネラ症による全部廃棄措置例が出て以来、2022 年 2 月現在まで廃棄例が続いている。この検査結果を報告するとともに、分析して今後のと畜検査及び精密検査に還元する。

## 材料及び方法

2019 年 7 月から 2022 年 2 月末までの間、と畜解体後の内臓検査において肉眼所見によりサルモネラ症を疑い保留した豚について、細菌学的検査を行い、得られた結果を農場ごとの検出状況や臓器ごとの検出状況に着目して分析した。

## 1 細菌学的検査

保留した豚から、肝臓、肺臓、脾臓、腎臓及び筋肉を採取し、検体とした。各検体について、ES サルモネラ寒天培地及び ES サルモネラ寒天培地 II (栄研化学; 以下「ES」及び「ES II」という) にスタンプ後画線し、37°C で 24 時間好気培養した。同時に、各検体をラパポート培地 (栄研化学) に加えて 24~48 時間培養し、24 時間及び 48 時間培養後の培養液を ES 及び ES II に画線して 24 時間培養した。サルモネラ菌を疑うコロニーについて、TSI 培地、SIM 培地、VP 半流動培地、LIM 培地及びシモンズクエン酸ナトリウム培地 (いずれも栄研化学) に接種し、24 時間 (シモンズクエン酸ナトリウム培地は最大 96 時間) 培養し、生化学的性状を確認した。

併せて、当該コロニーを普通寒天培地及びトリプトソイブイオン培地 (どちらも栄研化学) で純培養した。サルモネラ菌の生化学的性状を示したものは、純培養で得られた菌体に対して、サルモネラ免疫血清「生研」及びサルモネラ相誘導用免疫血清「生研」(デンカ生研) を用いて O 抗原及び H 抗原の検査を行った。H 抗原を同定できない場合は、サルモネラ血清型 PCR 同定キット (TaKaRa、製品コード R231A) により血清型を確認した。

## 2 農場ごとの検出状況及び臓器ごとの検出状況の分析

サルモネラ症保留があった 5 農場 (農場 A~E) の豚について、SC 検出頭数、保留頭数に対する検出率及びと畜頭数に対する検出率をそれぞれ算出した。農場間で保留発生月にばらつきがあったため、各農場のと畜頭数は、保留月及び初発月以降の保留した月の前後 2 カ月を計上した。加えて、各農場の月ごとの SC 検出頭数も調べた。

SC が検出された豚について、肝臓、肺臓、脾臓、腎臓及び筋肉での検出頭数、並びに SC 検出総数に占める各臓器の検出割合を算出し、臓器間で比較した。加えて、検出された臓器の組合せ別に検出頭数を分類した。

## 結果

## 1 細菌学的検査

2019 年 7 月から 2022 年 2 月末までの間、103 頭をサルモネラ症疑いで保留し、82 頭で SC を検出し、1 頭で SC に加えて *S. Derby* (以下「SD」という) を検出した。検出された SC の生化学的性状は、ブドウ糖分解 (+)、乳糖及び白糖分解 (-)、インドール産生 (-)、運動性 (+)、IPA 反応 (-)、VP (-)、リシン脱炭酸 (+)、クエン

酸塩利用 (-) だった。硫化水素産生 (以下「H<sub>2</sub>S」という) については、83 頭のうち 81 頭は H<sub>2</sub>S (-)、1 頭は H<sub>2</sub>S (+)、そして 1 頭は H<sub>2</sub>S (-) と (+) 株の両方を検出した。抗原構造は、83 頭のうち 82 頭で 7:c:1,5 (O 抗原:H 抗原 I 相:H 抗原 II 相)、1 頭で H 型別不能だった。SD の生化学的性状は、H<sub>2</sub>S (+)、ブドウ糖分解 (+)、乳糖及び白糖分解 (-)、インドール産生 (-)、運動性 (+)、IPA 反応 (-)、VP (-)、リシン脱炭酸 (+)、クエン酸塩利用 (+) だった。抗原構造は 4:f,g:- だった。

## 2 農場ごとの検出状況

5 農場の豚における SC 検出頭数は、農場 A が 72 頭、農場 B が 5 頭、農場 C と農場 D がどちらも 1 頭、農場 E が 4 頭だった。サルモネラ症保留頭数に対する検出率 (括弧内は保留頭数) は、農場 A が 87% (83 頭)、農場 B が 83% (6

頭)、農場 C と農場 D がどちらも 20% (5 頭)、農場 E が 100% (4 頭) だった。と畜頭数に対する検出率 (括弧内はと畜頭数) は農場 A が 0.25% (29,131 頭)、農場 B が 0.36% (1,395 頭)、農場 C が 0.03% (3,301 頭)、農場 D が 0.06% (1,712 頭)、農場 E が 0.71% (562 頭) だった (表 1)。農場 A では、SC 及び SD を検出した例、及び SC の H 型別不能株を検出した例が 1 例ずつあった。農場 B では、SC の H<sub>2</sub>S (-) と (+) 株の両方を検出した例が 1 例あった。農場 C の 1 例では、SC の H<sub>2</sub>S (+) 株を検出した。

月ごとの SC 検出状況については、農場 A では 2019 年 7 月から 2022 年 2 月まで断続的に検出し、農場 B では 2020 年 9 月から 2021 年 1 月の間に検出し、農場 E では 2021 年 8 月から 2022 年 2 月の間に断続的に検出した (図 1)。農場 C と農場 D では 2020 年 2 月と 2021 年 4 月にそれぞれ検出した。

表 1 5 農場の豚における SC 検出頭数、サルモネラ症保留頭数、保留頭数に対する検出率、と畜頭数及びと畜頭数に対する検出率

	検出頭数	保留頭数	検出率/保留	と畜頭数	検出率/と畜
農場 A	72	83	87%	29,131	0.25%
農場 B	5	6	83%	1,395	0.36%
農場 C	1	5	20%	3,301	0.03%
農場 D	1	5	20%	1,712	0.06%
農場 E	4	4	100%	562	0.71%

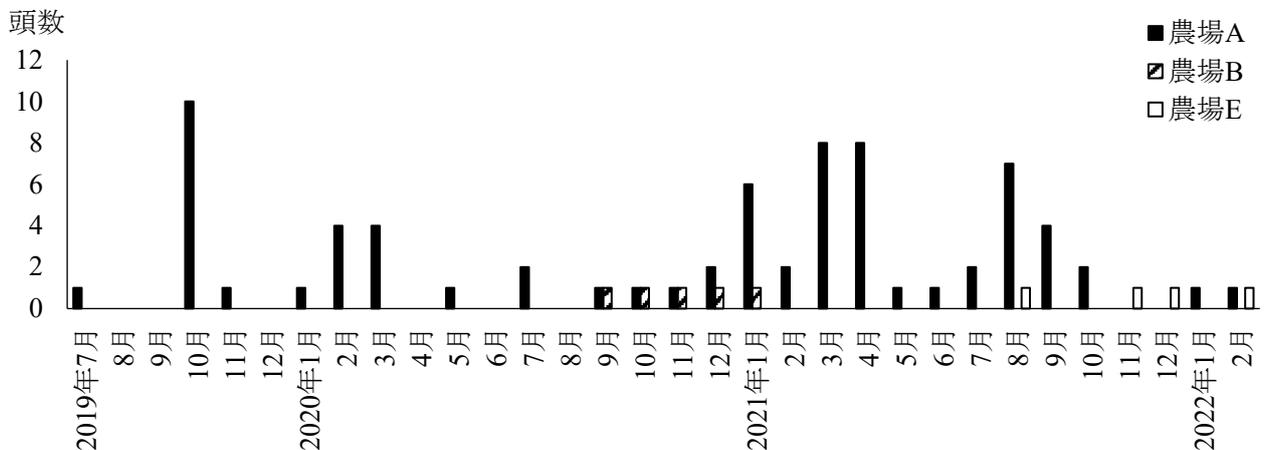


図 1 農場 A、農場 B 及び農場 E における月ごとの SC 検出頭数

### 3 臓器ごとの検出状況

肝臓、肺臓、脾臓、腎臓及び筋肉での検出頭数(括弧内は検出総数 83 頭に占める割合)は、肝臓及び肺臓が 70 頭(84%)、脾臓が 51 頭(61%)、腎臓が 10 頭(12%)、筋肉が 4 頭(4.8%)だった(表 2)。検出された臓器の各組合せにおける頭数(括弧内は検出総数 83 頭に占める割合)は、肝・肺・脾臓が 34 頭(41%)、肝・肺臓が 15 頭(18%)、肝臓及び肺臓がどちらも 8 頭(9.6%)、肝・肺・脾・腎臓が 7 頭(8.4%)、肺・脾臓及び肝・肺・脾・腎臓・筋肉がどちらも 3 頭(3.6%)、肝・脾臓及び脾臓がどちらも 2 頭(2.4%)、肝臓・筋肉が 1 頭(1.2%)だった(表 3)。

表 2 肝臓、肺臓、脾臓、腎臓及び筋肉での SC 検出頭数並びに検出総数 83 頭に占める割合

	頭数	割合
肝臓	70	84%
肺臓	70	84%
脾臓	51	61%
腎臓	10	12%
筋肉	4	4.8%

表 3 検出された臓器の各組合せにおける頭数及び検出総数 83 頭に占める割合

	頭数	割合
肝・肺・脾臓	34	41%
肝・肺臓	15	18%
肝臓	8	9.6%
肺臓	8	9.6%
肝・肺・脾・腎臓	7	8.4%
肺・脾臓	3	3.6%
肝・肺・脾・腎臓・筋肉	3	3.6%
肝・脾臓	2	2.4%
脾臓	2	2.4%
肝臓・筋肉	1	1.2%

### 考察

国内で発生している SC は、H<sub>2</sub>S (-) の

Choleraesuis 型と H<sub>2</sub>S (+) の Kunzendorf 型が認められ、関東や東北では Choleraesuis 型が、九州や四国では Kunzendorf 型が多いとされる。本市でと畜される豚は近畿圏から搬入されているが、今回 82 頭で Choleraesuis 型が、2 頭で Kunzendorf 型が検出されたことから、近畿圏では Choleraesuis 型が多い可能性や、本市に搬入している養豚場に関東から Choleraesuis 型が伝播した可能性が推察された。1 頭で検出された SD は、豚には非病原性であるが、人の食中毒の原因となるため食品衛生上注意が必要である。

農場ごとの検出状況については、農場 C 及び農場 D は 1 頭で SC を検出して以降検出が無い場合、オールインオールアウト等が機能して清浄化されたと考えられる。加えて、農場 C では Kunzendorf 型が検出されており、他の農場での発生との関連性は乏しいと考えられる。農場 B では 5 箇月連続して検出が認められたものの、最後の検出から 1 年以上が経過しており、同様に清浄化したと考えられる。農場 A は 2019 年 7 月から 2022 年 2 月現在まで断続的に検出しており、清浄化が困難な状況がうかがえる。農場 E は 5 農場の中で一番最近検出されるようになり、と畜頭数に対する検出率は最も高い。農場 A 及び農場 E は今後も SC の発生動向を注視する必要がある。

臓器ごとの検出状況については、肝臓からの検出が 8 割以上で認められ、同様に肺臓からの検出も 8 割以上で認めており、サルモネラ症の病態と一致した結果となった。次いで脾臓での検出割合が高かった。検出された臓器の組合せ別にみると、肝・肺・脾臓の組合せでの検出が最も多かった。腎臓や筋肉で検出された例は、肝臓・筋肉の組合せで検出された 1 頭を除いて、全て肝・肺・脾臓での SC 検出を伴っていたことから、腎臓や筋肉での検出は敗血症が進行した例と考えられる。データは示していないが、SC が検出された臓器数が多いほど肝臓の点状出血と白斑の程度が激しい傾向がみられたことから、敗血症が進行していた可能性がうかがえる。

SC は不顕性感染の場合も多く、豚の疾病として大きくは問題視されないこともあるが、と畜場で豚肉を汚染して人の食中毒の原因となる危険性があり、食品衛生上問題である。加えて、SC は届出伝染病であり、単一臓器からの検出でも全部廃棄措置となるため、養豚業においては経済的損失をもたらす。農場 A では罹患豚からの伝播や豚舎への菌の定着が起きている可能性が高い。農場 E も検出率が高く、菌の定着に注意が必要である。

消費者や生産者のためにも、本研究がと畜検査及び精密検査に還元され、さらには管轄家畜保健衛生所との連携により生産農家でのサルモネラの清浄化に寄与することを願う。

#### 参考文献

豚における *Salmonella Choleraesuis* 感染、浅井鉄夫、All About Swine、36、16-18 (2010)  
動物の感染症、清水悠紀臣ら、近代出版 (2002)

