

第 5 調查研究

1 報文

スイセンによる食中毒に対する新規検査方法の検討

京都市 衛生環境研究所 食品化学部門
 ○藤木学、漆崎祐子、村上兆司、岩崎真行

1 はじめに

スイセンは観賞用植物として広く栽培されているが、リコリンやガラタミンに代表されるヒガンバナ科アルカロイドを含む有毒植物であり、スイセンの形状はニラや玉ねぎと酷似していることから、これら食用植物と誤認し喫食することによる食中毒が毎年発生している。過去に死亡事例も報告されていることから、注意を要する食中毒である。

食中毒発生時、原因食材の残置品は様々な状態が想定される。上述した通り、ニラとスイセンが形体的に酷似していることから、調理品しか残っていない場合は特に原因植物の特定が困難であることが予想される。

当所では、食中毒が発生した際、主に原因植物の葉や鱗茎を検体としリコリンをターゲットに分析しているが、夾雑物の多い調理品を分析することは困難であり、また、ガラタミンをターゲットとして分析する方法がないのが現状である。

そこで今回、調理品を検体としリコリン及びガラタミンの一斉分析法を検討したので報告する。

2 方法

(1) 試料

当所の敷地内で栽培したスイセンの鱗茎を使用した。添加回収試験には市販のニラを使用した。各試料は採取してから使用するまで冷凍保存した。

(2) 試薬等

蒸留水：富士フィルム和光純薬（株）製 HPLC 用

メタノール：ナカライテスク（株）製 HPLC 用

ギ酸：富士フィルム和光純薬（株）製 LC/MS 用

酢酸アンモニウム：純正化学株式会社

固相カラム：Agilent Technologies 社製 Bond Elut SCX (500 mg/3 mL)

メンブレンフィルター：アドバンテック（株）製 DISMIC-13HP (PORE SIZE : 0.20 μm)

ヒガンバナ科アルカロイド標準品

リコリン標準品：Sigma Aldrich 社製 リコリン塩酸塩 (M.W.323.8)

ガラタミン標準品：東京化成工業(株)製 ガラタミン臭化水素酸塩 (M.W. 368.3)

標準品は、リコリン及びガラタミンをそれぞれ 1000 μg/mL となるようメタノールに溶解した後、混合標準液としてギ酸メタノールにより 10 μg/mL に調製したものを使用した。

(3) 装置

高速液体クロマトグラフ (LC 部)：島津製作所（株）製 LC-30AD

質量分析計 (MS/MS 部)：島津製作所（株）製 LCMS-8030

(4) 測定条件

ア LC 条件

HPLC 用カラム：関東化学（株） Mightysil RP-18 4.6 mm i.d. x 150 mm 粒子径 5 μm

移動相：0.1 %ギ酸含有 0.25 mM 酢酸アンモニウム水溶液 (A 液) 及び

0.1%ギ酸含有 0.25 mM 酢酸アンモニウムメタノール(B 液)

グラジエント条件 (B 液)：

0% (0 min) → 0% (1 min) → 15% (1.1 min) → 100% (10 min) → 15% (10.1 min)→
15% (60 min)

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：1.5 L/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

インターフェイス電圧：+ 4.5 kV (Positive mode)

測定条件：表 1 のとおり

表1. 分析対象物と測定条件

分析対象物	ESI	前駆イオン (m/Z)	測定イオン (m/Z)	確認イオン (m/Z)
Lycoline	+	288	147	119
Galanthamine	+	288	213	198

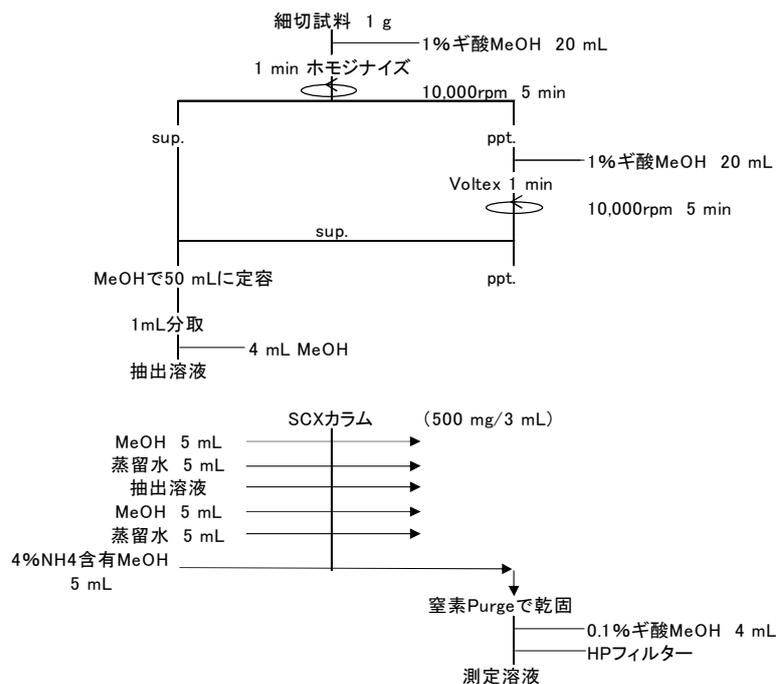


図 1. 測定溶液調製フロー

(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。試料 1.0 g を量り採り（調理品の場合は 1~5 g）、1%ギ酸含有メタノール 20 mL を加えた。その後 1 分間ホモジナイザーにより均一化し、遠心分離（10,000rpm、5 分間）した。遠心後の上清を分取し、残った沈殿物に再度 1%ギ酸含有メタノール 20 mL を加えて攪拌した後、同条件で 2 回目の遠心分離を行った。遠心後の上清を分取し、先の上清とあわせ、メタノールにて 50 mL に定容した。定容後の液から 1 mL 分取し、メタノール 4 mL とあわせたものを抽出溶液とした。メタノール 5 mL 及び蒸留水 5 mL にて順にコンディショニングした Bond Elut SCX に抽出溶液を全量負荷し、メタノール 5 mL 及び蒸留水 5 mL にて洗浄した後、4%アンモニア水含有メタノールにて溶出した。得られた溶出液は窒素気流下で溶媒を完全に除去し、残留物に 0.1%ギ酸含有メタノール 4 mL を加えて得られた溶液を必要に応じて DISMIC-13HP (PORE SIZE: 0.20 μ m) に通じ、測定溶液とした。

(6) 定量

検量線は、混合標準液を 0.1%ギ酸含有メタノールにより希釈し 0.1~500 ng/mL の濃度系列となるよう溶媒検量線を調製し、LC/MS/MS にて測定した。混合標準溶液及び測定溶液のクロマトグラムのピーク面積から、絶対検量線法により測定溶液中のリコリン及びガラントアミンを定量した。

(7) 添加回収試験

ニラにリコリン及びガラントアミンを 10 μ g/g となるよう添加し 30 分間静置した後、本法に従って分析しリコリン及びガラントアミンの添加量に対する回収率を求めた。本来であればスイセンを用いて添加回収試験を行うべきだが、スイセンにはリコリン及びガラントアミンが高濃度に含まれており、正確な回収率を求めることが困難となることが想定されたため、スイセンを用いた添加回収試験は行わなかった。

なお、調理品については、分析者 1 名が 1 日 3 併行を 5 日間行い、回収率、併行精度及び室内精度について評価を行った。

(8) 模擬調理品の添加回収試験

模擬調理品にはレトルトカレーを使用した。レトルトカレー 50 g を 200 mL ビーカーに採取しホットプレートにて加熱した。気泡が発生し始めてからさらに 5 分間加熱し、そのうち 1 g を分取した。加熱後の模擬調理品にリコリン及びガラントアミンを 10 μ g/g となるよう添加し 30 分静置した後、本法に従って分析しリコリン及びガラントアミンの添加量に対する回収率を求めた。

(9) 模擬調理品の定量試験

レトルトカレー 40 g を 200 mL ビーカーに採取したところに、スイセンの鱗茎 10 g 加え、ホットプレートにて加熱し、気泡が発生し始めてからさらに 5 分間加熱し、模擬調理品とした。

模擬調理品は以下の 3 通りに分けて試験に供し、リコリン及びガラントアミンの含有量を測定した。

- (A) カレーのルー及び鱗茎以外の具材を 4 g 分取したところに、ともに煮込んでいたスイセンの鱗茎 1 g を加え合計 5 g としたもの
- (B) カレーのルーのみ 2 g を分取したもの
- (C) カレーのルーのみ 1 g を分取したもの

3 結果及び考察

(1) クロマトグラム及び検量線

リコリン、ガラントアミンともに当該物質を妨害するピークは検出されず、シャープなピークが確認された。また、検量線においてはリコリン、ガラントアミンともに相関係数 0.99 以上で一定の直線性が確認され、リコリン及びガラントアミンの一斉分析が可能となった。スイセンの品種や部位、採取された季節によってはリコリンもしくはガラントアミンのどちらか一方しか検出されないといった報告¹⁾もあることから、本法によってより幅広い食中毒事例に対応できると考えられた。

(2) 添加回収試験

方法の項 8 模擬調理品の添加回収試験時においてもリコリン及びガラントアミンを妨害するピークは検出されず、シャープなピークが確認された。調理品においても葉と同等な良好なピークが検出されたことから、本法の精製工程により、調理品中の夾雑物質が除去できていることが確認された。方法の項 7 及び項 8 における添加回収試験の結果を表 2 に示した。全ての試料で平均約 70%以上の回収率が得られ、検体間のばらつきも小さかった。

また、調理品については「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」(以下、「ガイドライン」という。)に基づく妥当性評価試験を行い、目標値を満たしたため、本法が実際の食中毒事例に適用できる可能性が示唆された。

表2. 添加回収試験の結果 (n=3)

		回収率(%)	標準偏差	併行精度RSD%	室内精度RSD%
リコリン	葉	80.4	1.2		
	調理品	79.2		2.4	7.3
ガラントアミン	葉	73.2	1.6		
	調理品	77.1		2.8	4.0

(3) 模擬調理品の定量試験

模擬調理品の定量試験の結果を表 3 に示した。模擬調理品からもリコリン及びガラントアミンの検出が可能であった。また、鱗茎が含まれないカレーのルーからもリコリン及びガラントアミンが検出され、(条件 B、C) カレールーの量とリコリン及びガラントアミンの検出量におおよそ相関がみられたことから(条件 A は条件 B の約 2 倍、条件 C の約 4 倍)、リコリン及びガラントアミンの多くは調理後速やかにカレーのルーに移行していることが示唆された。実際の食中毒発生時も残置食中の植物の葉や鱗茎だけでなく、食品全体を検査に供することが重要であると考えられた。

表3. 調理品の定量試験の結果

	定量値(μg/g)	
	リコリン	ガラントアミン
(A) 鱗茎1 g+ルー4 g	17.1	0.14
(B) ルー2 g	8.3	0.06
(C) ルー1 g	4.3	0.03

4 まとめ

LC/MS/MS によるリコリン及びガラントアミンの一斉分析法を検討した。1%ギ酸含有メタノールにより抽出を行い、SCX カラムを用いて精製することにより、夾雑物の多い検体からもリコリン及びガラントアミンの検出が可能となった。調理品については、ガイドラインの目標値を満たしたため、食中毒発生時に原因植物の特定に寄与できる可能性が示唆された。

参考文献

- 1) 青森県環境保健センター年報 第 30 号 (2019) スイセンによる食中毒について
- 2) 山本敬男、小泉美樹、小林浩：山梨県内で採取されたスイセンとその調理品に含まれるリコリン及びガラントミン測定法の検討と含有量の特徴、山梨衛環研年報第 63 号(2019)
- 3) 坂本智徳、赤木浩一：HILIC-MS/MS によるヒガンバナ科植物中のリコリンおよびガラントミンの分析、福岡市保健環境研究所報 35 号(2009)

令和6年 京都市感染症発生動向調査事業における病原体検査成績

微生物部門

Detection of pathogenic agents in the Kyoto City Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases in 2024

Division of Microbiology

Abstract

Virological and bacteriological tests were performed using various specimens from patients in the Kyoto City Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases in 2024. Of 104 patients, 39 were positive for viral and/or bacterial agents. An annual detection rate of these agents was 37.5% of the surveyed patients. 35 strains of viruses and 11 strains of bacteria were detected in total. *Seasonal Influenza viruses* were detected from the patients with influenza in January and February. Enteroviruses were detected during the period mostly between spring and autumn in the patients with Hand-foot-and-mouth disease. Various types of viruses were detected especially in the 1-4 year age group.

Key Words

Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases 感染症発生動向調査、*Influenzavirus* インフルエンザウイルス

1 はじめに

本市では、昭和57年度から京都市感染症発生動向調査事業を行っている。当所においては、流行性疾病の病原体検索を行い、検査情報の作成と還元を行うとともに、各種疾病と検出病原体との関連について解析を行っている。本報告では、2024年（令和6年1月から12月まで）に実施した病原体検査成績を述べる。

2 材料と方法

(1) 検査対象感染症

令和6年1月から12月までに病原体検査を行った疾病は、感染性胃腸炎、インフルエンザ、ヘルパンギーナ、咽頭結膜熱、手足口病、感染性髄膜炎、A群溶血性レンサ球菌咽頭炎、RSウイルス感染症の計8疾病であった。

検査材料は、市内4箇所の病原体定点（小児科定点4箇所、インフルエンザ定点4箇所、眼科定点1箇所、基幹定点1箇所）の医療機関の協力により採取されたもので、患者104名から、ふん便62検体、鼻咽頭ぬぐい液40検体、髄液5検体、咽頭うがい液1検体、尿1検体の計109検体について検査を行った。

(2) 検査方法

ア ウイルス検査

検査材料を常法により前処理した後、培養細胞（FL「ヒト羊膜由来細胞」、RD-18S「ヒト胎児横紋筋腫由来細胞」及びVero「アフリカミドリザル腎由来細胞」）を用いてウイルス分離を行った。インフルエンザウイルスの分離には、培養細胞（MDCK「イヌ腎由来細胞」）を使用した。

分離したウイルスの同定には、中和反応、ダイレクトシーケンス法、蛍光抗体法（FA）及びリアルタイムRT-PCR法を用いた。

ロタウイルス、アデノウイルスの抗原検出には免疫クロマト法（IC）を用い、ノロウイルスについてはリアルタイムRT-PCR法により遺伝子検出を行った。

イ 細菌検査

検査材料を、直接若しくは増菌培養後に分離培地に塗抹して分離を行った。

ふん便には、ドリガルスキー改良培地、SS寒天培地、TCBS寒天培地、エッグヨーク食塩寒天培地等を用いた。鼻咽頭ぬぐい液には、Q培地及び羊血液寒天培地（溶血性レンサ球菌）等を用いた。髄液は、遠心分離して得られた沈渣を羊血液寒天培地及びチヨコレート寒天培地に塗抹して分離を行った。

分離した細菌の同定は、鏡検、生化学的性状検査、血清凝集反応、PCR法等により行った。

3 成績及び考察

(1) 月別病原体検出状況 (表 1)

各月の受付患者数は、1月、4月、11月が各13名と多かった。年間の受付患者104名のうち39名から46株の病原微生物を検出し、受付患者当たりの検出率は37.5%であった。

ウイルス検査では、被検患者103名中31名から35株のウイルスを検出した。被検患者当たりのウイルス検出率は30.1%であった。

検出ウイルスの季節推移をみると、例年夏季を中心に流行するエンテロウイルスは2月、4月及び6月～10月に検出した。また、例年年間を通して検出が見られるアデノウイルスは5月、8月及び11月に検出した。ノロウイルスは、1月～4月及び8月に検出した。RSウイルスは3月にのみ検出した。インフルエンザウイルスは1月にAH1pdm09型を2月にB型を検出した。

細菌検査では、被検患者59名中10名から11株の病原細菌を検出し、患者当たりの検出率は16.9%であった。

下痢原性大腸菌を1月～2月、7月及び10月に検出し、黄色ブドウ球菌は10月にのみ、カンピロバクターは6月にのみ、サルモネラ属菌は10月にのみ検出した。

(2) 感染症別病原体検出状況 (表 2)

感染性胃腸炎は、受付患者数の52.3%、インフルエンザ、ヘルパンギーナ、咽頭結膜熱、RSウイルス感染症、A群溶血性レンサ球菌咽頭炎などの呼吸器疾患は、36.7%を占めていた。

主な感染症別の病原体検出率は、手足口病が80.0%、RSウイルス感染症が50.0%、ヘルパンギーナが37.5%、感染性胃腸炎が36.8%、インフルエンザが36.4%、感染性髄膜炎が20.0%、咽頭結膜熱が9.1%であった。

主な感染症について、ウイルスの検出状況をみると、感染性胃腸炎では、コクサッキーウイルスを1種1株、アデノウイルスを2種6株、ロタウイルスを1株、ノロウイルス2種9株を、インフルエンザでは、インフルエンザウイルス2種3株を、ヘルパンギーナではエンテロウイルス1種1株、ライノウイルス1株及びアデノウイルス1種1株を、咽頭結膜熱ではアデノウイルス2種3株を、手足口病ではエンテロウイルス4種8株を、感染性髄膜炎では、エンテロウイルス1種1株を、RSウイルス感染症ではRSウイルス3株を検出した。

また、細菌の検出状況をみると、感染性胃腸炎から、黄色ブドウ球菌1株、カンピロバクター2株、サルモネラ属菌3株、下痢原性大腸菌5株の計11株を検出

した。

(3) 年齢階層別病原体検出状況 (表 3)

受付患者の年齢階層別分布をみると、1～4歳が40名(38.4%)で最も多く、次いで5～9歳の30名(28.8%)、0歳の20名(19.2%)、10～14歳の13名(12.5%)で、15歳以上は1名(1.0%)であった。

年齢階層別の受付患者当たりの検出率は、0歳が40.0%(ウイルス8種8株)、1～4歳が47.5%(ウイルス9種20株、細菌3種4株)、5～9歳が33.3%(ウイルス4種6株、細菌3種6株)、10～14歳が15.4%(ウイルス1種1株、細菌1種1株)、15歳以上は検出がなかった。

エンテロウイルスは0歳で5種5株、1～4歳で4種6株を、ライノウイルスは0歳で1株を、アデノウイルスは1～4歳で2種7株を検出した。ロタウイルスは5～9歳で1株を、ノロウイルスは0歳で1種1株、1～4歳で1種4株、5～9歳で2種4株を検出した。RSウイルスは0歳で1株、1～4歳で2株を検出した。インフルエンザウイルスは1～4歳でAH1pdm09型を1株、5～9歳及び10～14歳でB型を各1株ずつ検出した。

(4) 主な疾病と病原体検出状況

ア 感染性胃腸炎 (図 1)

臨床診断名が感染性胃腸炎の受付検患者57名のうち21名からウイルス17株及び細菌11株を検出した。ウイルスでは、エンテロウイルスはコクサッキーウイルスB型を4月に1株検出した。アデノウイルスは2型を4月に1株、11月に2株、41型を4月に1株、11月に2株検出した。ロタウイルスは3月に1株検出した。ノロウイルスはGIを3月に1株、GIIを1月に3株、2月に1株、3月に3株、8月1日に1株検出した。

細菌では、黄色ブドウ球菌を10月に1株、カンピロバクターを6月に2株、サルモネラ属菌を9月に1株、10月に2株、下痢原性大腸菌を1月、2月、6月、7月及び10月にそれぞれ1株ずつ、計11株を検出した。

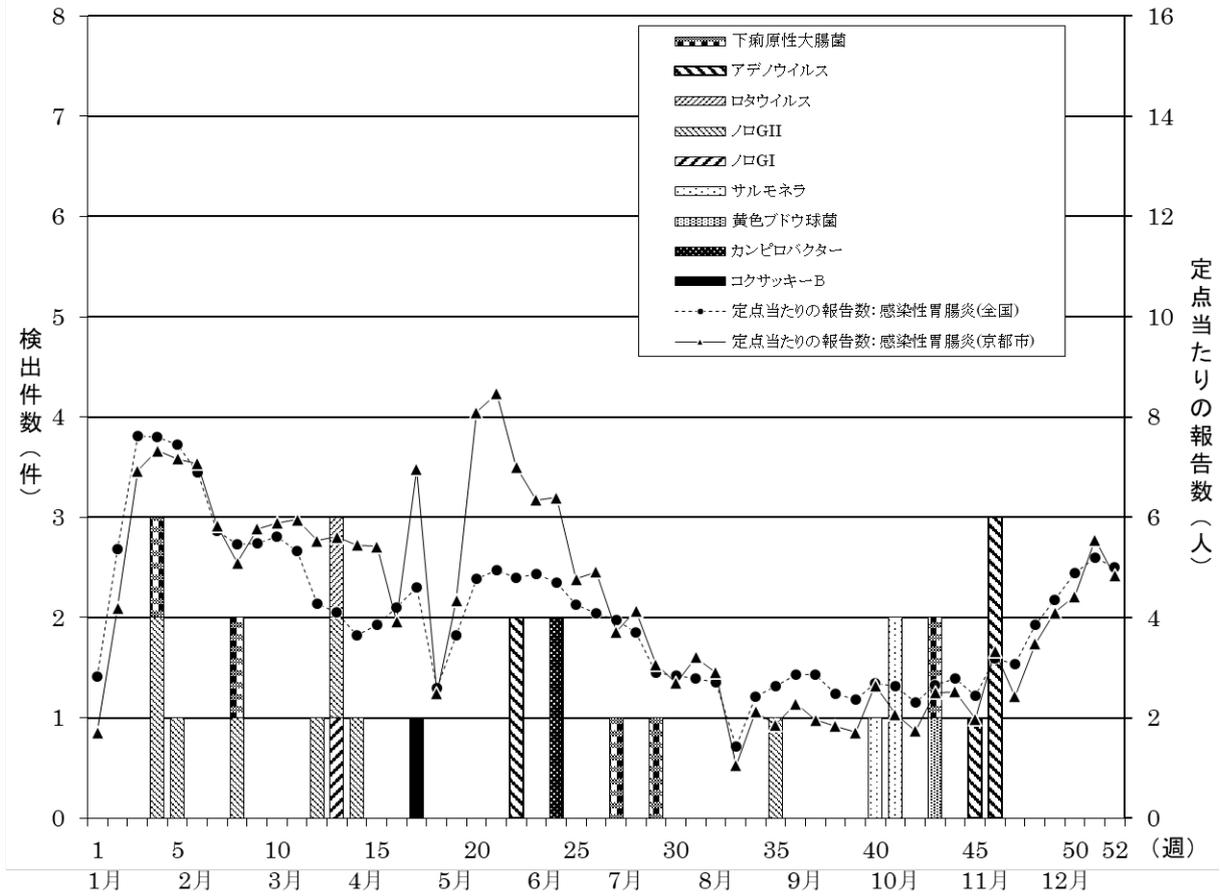


図1 感染性胃腸炎患者における病原ウイルス・細菌の検出状況 (令和6年)

イ ヘルパンギーナ (図2)

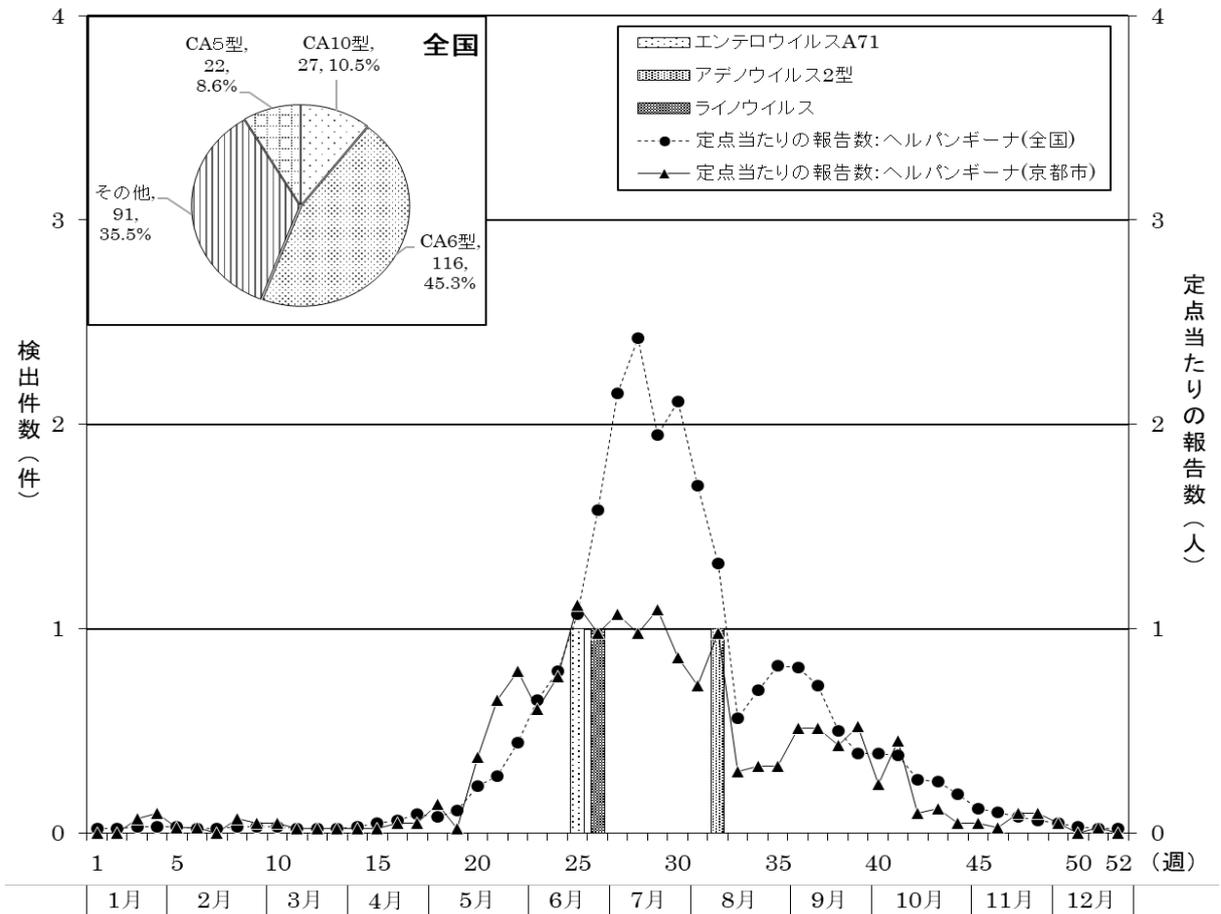


図2 ヘルパンギーナ患者における病原ウイルスの検出状況 (令和6年)

ヘルパンギーナは例年、夏にかけて流行が見られる。令和6年も本市、全国共に5月から増加し始め、ともに7月にピークを示して以降、減少した。

臨床診断名がヘルパンギーナの受付患者数は8名でそのうち3名からエンテロウイルスA71型を1株、ライノウイルスを1株、アデノウイルス2型を1株の計3株検出した。

全国の病原体検出状況では、令和6年は、コクサッキーウイルスA6型(45.3%)、A10型(10.5%)、A5型(8.6%)の順に検出された。

ウ インフルエンザ(図3-1、図3-2)

本市感染症発生動向調査患者情報によると、2023/24(R5/6)シーズンは本市全国共に定点当たり報告数が1.0を超えてシーズン入りし、全国では令和5年12月の第49週に、本市では第50週に一旦ピークを迎えて減少した後、再度増加し、本市では令和6年の第5週に警報レベルを超えた後減少した。

本市でのインフルエンザウイルス検出は令和5年第39週及び令和6年第4週にAH1pdm09型がそれぞれ1株、令和6年第6週にB型が2株検出された。全国では、2023/24(R5/6)シーズンは、AH1pdm09型が2,206株、AH3型が3,701株、B型が2,197株検出されAH3型が45.7%を占めた。

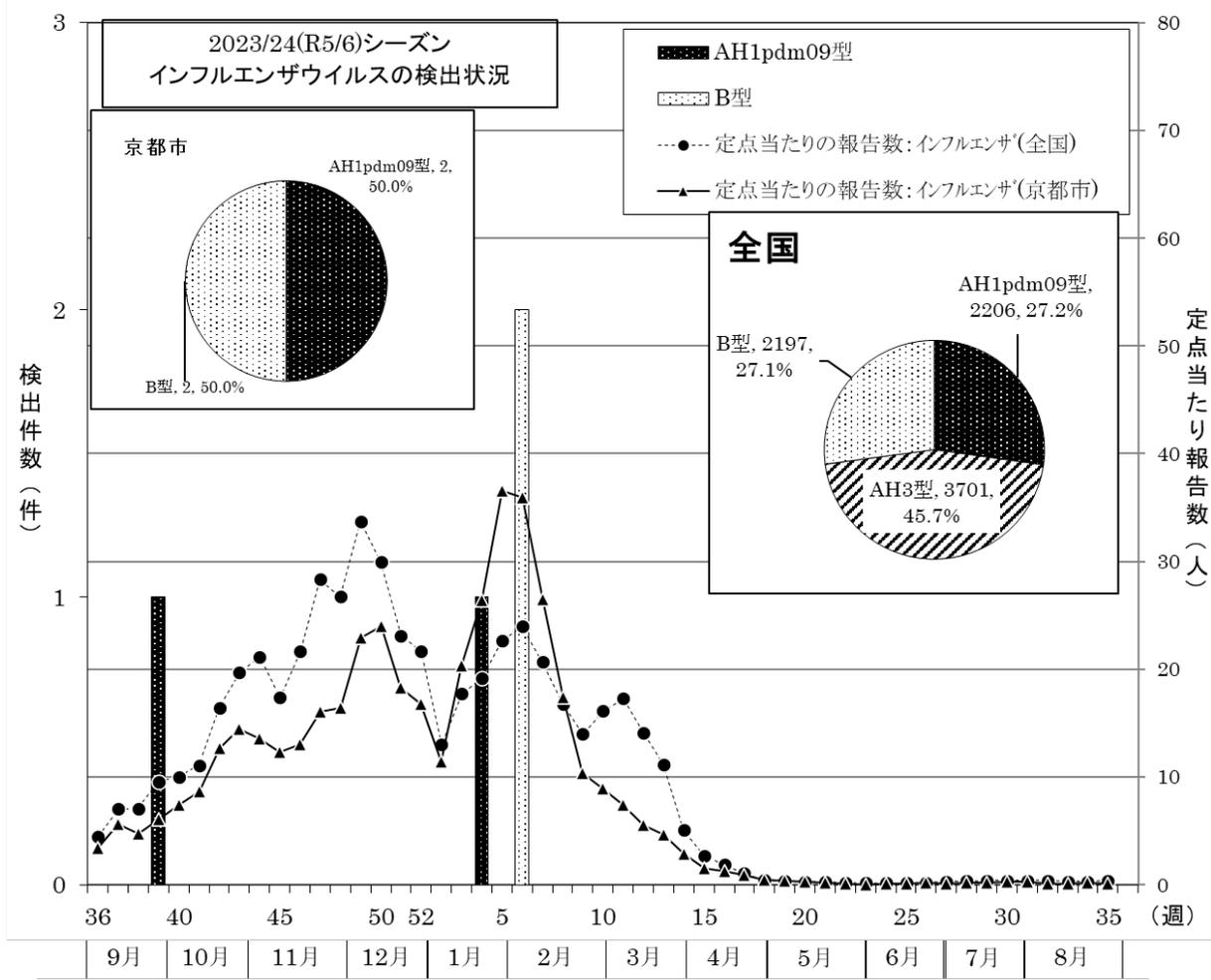


図3-1 インフルエンザウイルスの検出状況(令和5年9月~令和6年8月)

また、本市感染症発生動向調査患者情報によると、2024/25(R6/7)シーズンは、本市では令和6年11月の第46週に、全国では第44週に定点当たり報告数が1.0を超えてシーズン入りしたのち急増し、

本市全国ともに12月の第50週に注意報レベル、翌第51週に警報レベル、さらに翌第52週にピークを迎え、減少した。

本市でのインフルエンザウイルス検出はシーズン

を通してなかった。全国では、2024/25 (R6/7) シーズンは、AH1pdm09 型が 3,824 株、AH3 型が 623 株、B 型が 622 株検出され、AH1pdm09 型が全体の 74.5% を占めた。

シーズンによって異なるウイルス型が優位となっていることに加え、インフルエンザの非流行期と考

えられていた夏季や、海外渡航後に発症した者からの検出報告も近年増えており、患者発生と流行ウイルスの型別とを迅速かつ的確に把握する感染症発生動向調査は、インフルエンザの流行予防対策のためにも、今後ますます重要になると考えられる。

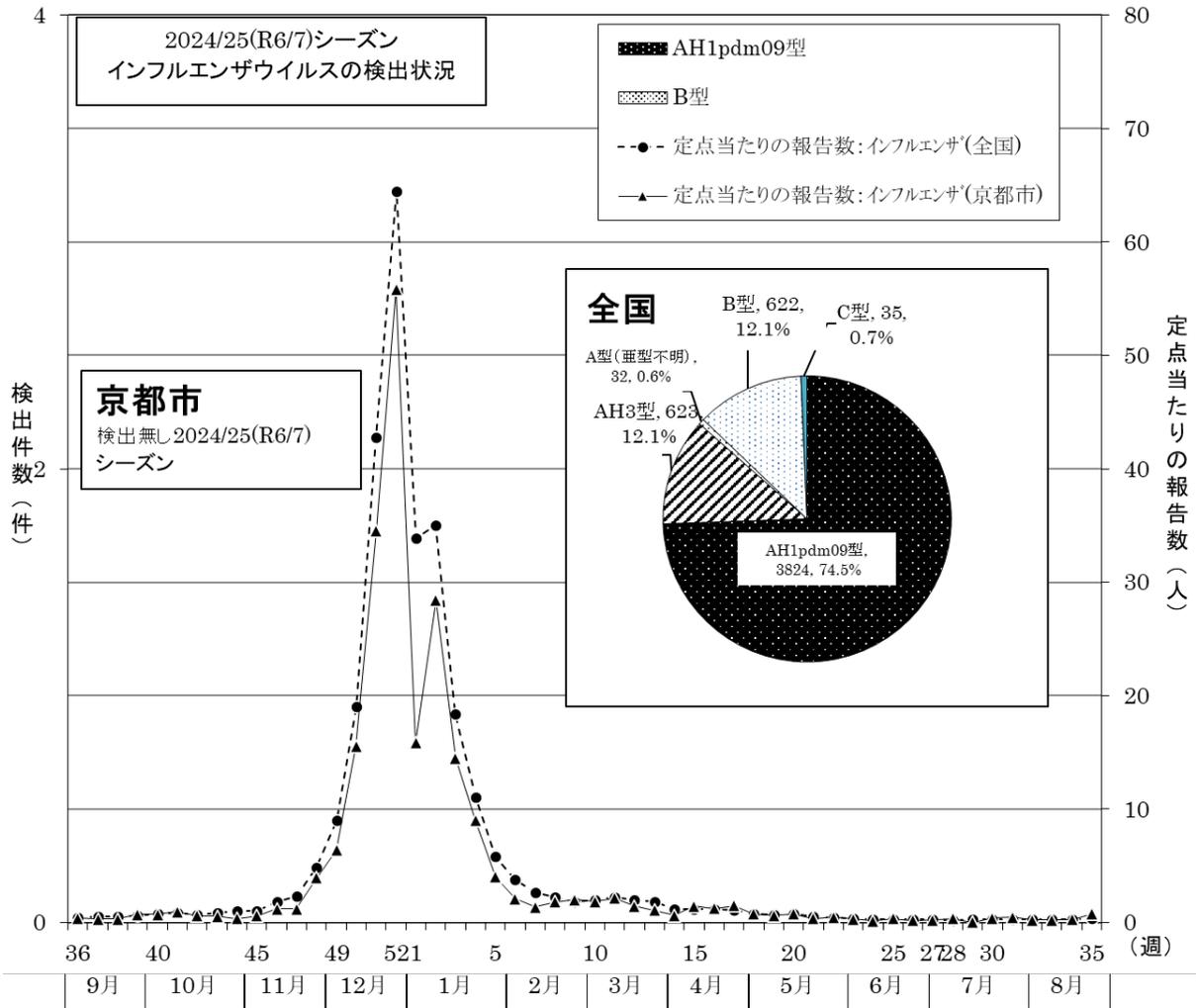


図 3-2 インフルエンザウイルスの検出状況 (令和 6 年 9 月～令和 7 年 8 月)

エ 咽頭結膜熱 (図 4)

咽頭結膜熱は例年、夏にかけて流行がみられるが、令和 6 年は、本市、全国ともに前年の令和 5 年末の時季外れの大流行の影響を受け、1 月が最も報告数が多く、本来の流行時期である 6 月にわずかに上昇がみられたものの、その後徐々に減少した。

本市における臨床診断名が咽頭結膜熱の受付患者数は 11 名で、そのうち 1 名のふん便及び鼻咽頭ぬぐい検体からアデノウイルス 2 型を 2 株 (ふん便及び鼻咽頭ぬぐい検体から)、41 型を 1 株 (ふん便検体

から) 検出した。

令和 6 年の全国の咽頭結膜熱におけるアデノウイルスの検出状況では、前年に続き 3 型が最も多く 55.8%、次いで 2 型が 24.8%、1 型及び 5 型がそれぞれ 5.8%であった。

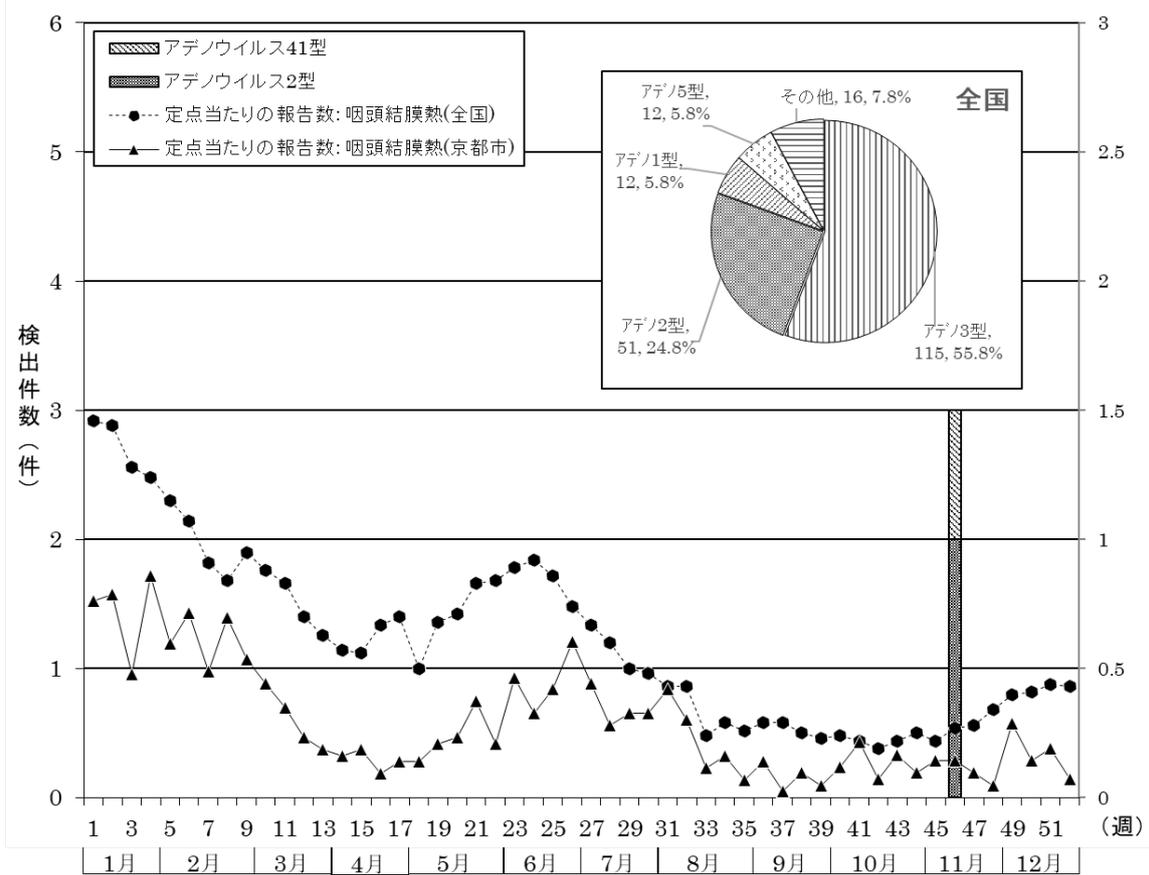


図4 咽頭結膜熱患者発生状況と病原体検出状況 (令和6年)

オ 手足口病 (図5)

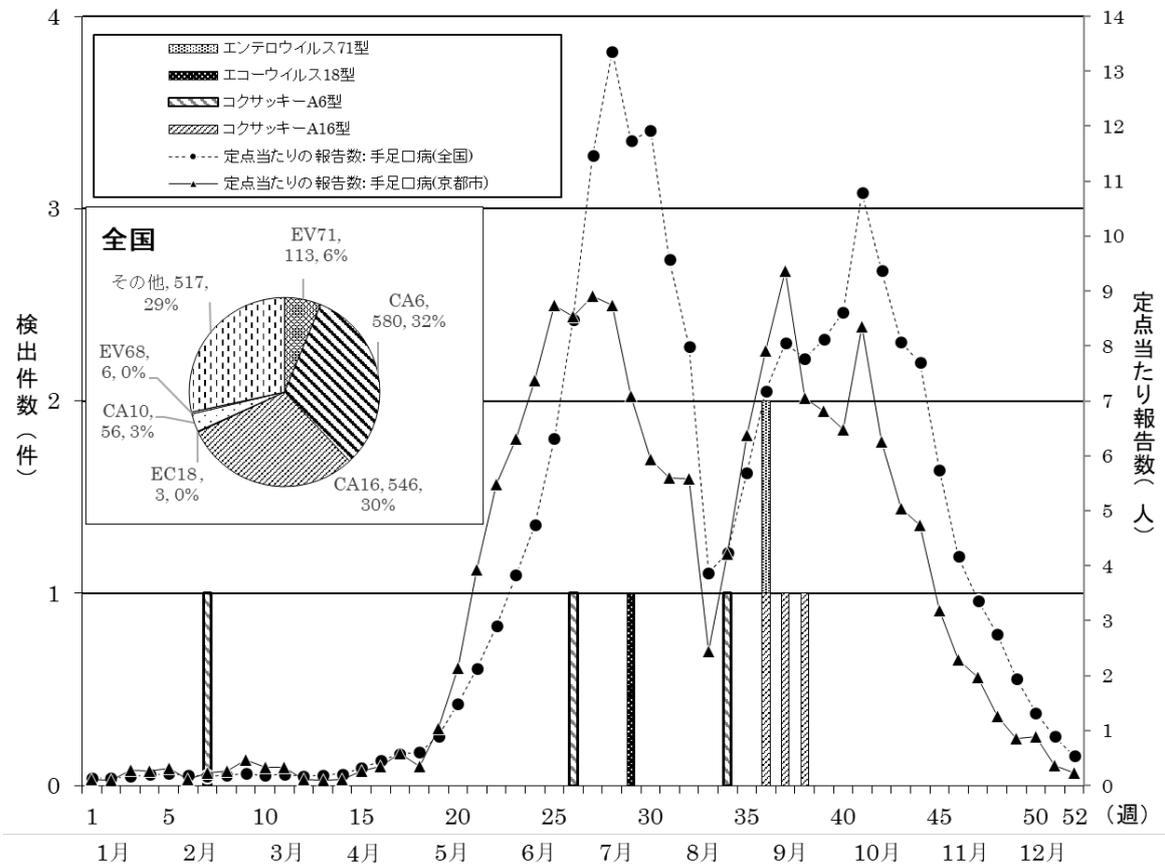


図5 手足口病患者における病原ウイルス検出状況 (令和6年)

手足口病は例年、7月に流行のピークが見られるが、令和6年は本市、全国共に8月の第33週の前後にとも警報レベルの目安である、定点当たり報告数5.0を超える2峰性の動向を示した。

手足口病を引き起こすウイルスとしては、コクサッキーA群ウイルス6型、10型、16型、エンテロウイルス71型が代表に挙げられるが、本市では、臨床診断名が手足口病の受付患者数は10名で、そのうち8名からコクサッキーA群ウイルス6型を3株(2月、6月及び8月に1株ずつ)、16型を3株(8月に1株、9月に2株) 検出しており、33週前後でウイルスの型が異なっている。その他エコーウイルス18型及びエンテロウイルス71型をそれぞれ1株ずつ検出した。

また、全国の病原体検出状況では、コクサッキーA群ウイルスの6型が580株(32.0%)、16型が546株(30.0%)となっているが検出時期は本市と同様に

33週以前は6型が、33週以降は16型の検出が多くなっており、ウイルスの型が入れ替わったことで2峰性の流行となったことが示唆される。

カ A群溶血性レンサ球菌咽頭炎(図6)

本市における臨床診断名がA群溶血性レンサ球菌咽頭炎の受付患者数は1名あったが、A群溶血性レンサ球菌は検出しなかった。全国のT血清型別検出比率をみると、劇症型溶血性レンサ球菌感染症事例で検出されることの多いT-1型の検出率は、54.4%と半数以上を占めており、令和6年の劇症型溶血性レンサ球菌感染症報告数が本市、全国ともに過去最多となった一因と考えられる。

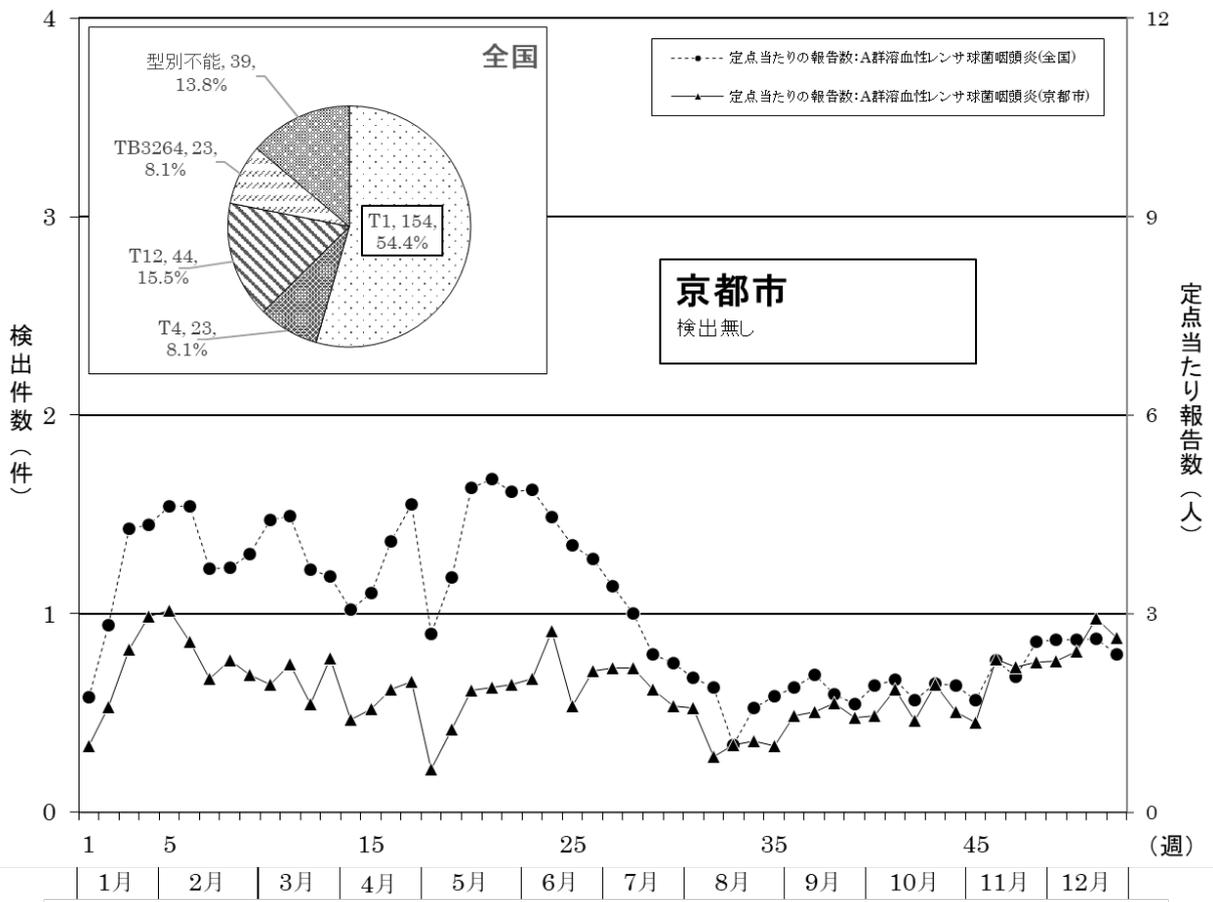


図6 A群溶血性レンサ球菌咽頭炎の報告数とT血清型別の病原体検出状況(令和6年)

(5) 検体別・検出方法別病原ウイルス検出状況 (表4)

エコーウイルスは、18型の1株を遺伝子検査によって検出した。

コクサッキーウイルスA群は、6型の1株をRD-18S細胞で、16型の2株をVero細胞で分離した。また、6型の2株、16型の1株を遺伝子検査によって検出した。

コクサッキーウイルスB群は、2型及び3型をそれぞれ1株ずつFL細胞で分離した。

エンテロウイルスA71型の2株、及びライノウイルスの1株をそれぞれ遺伝子検査によって検出した。

アデノウイルスは、2型の4株をFL細胞、1株をRD-18S細胞、及び1株をVero細胞でそれぞれ分離、また、イムノクロマト法により2型の2株及び、41型の3株を、遺伝子検査により41型の3株を検出した。

ロタウイルスは1株をイムノクロマト法により検出した。

ノロウイルスは、GIを1株、GIIを8株、遺伝子検査により検出した。

インフルエンザウイルスは、B型の1株をMDCK細胞で分離、AH1pdm09型及びB型をそれぞれ1株ずつ遺伝子検査により検出した。

RSウイルスは3株を遺伝子検査により検出した。

培養細胞法によるウイルスの検査体制はほぼ確立されているが、被検患者から採取した検体中に活性のあるウイルスが存在していることが必須条件となり、採取後の温度や期間等の保管条件によっては失活し検出できなくなる。また、分離困難なウイルスも存在するといった欠点がある。

感染症発生动向調査においても、迅速な実験室診断が要請される傾向は年々ますます強まっており、検出率と迅速性の向上を目指して、培養細胞法と並行して可能な限り新たな検査技術の導入を図る必要がある。

であった。

(3) 年齢階層別病原体検出状況では、1~4歳の検出率が最も高く47.5%で、次いで0歳の40.0%、5~9歳の33.3%、10~14歳の15.4%で15歳以上は検出がなかった。受付患者数では、1~4歳が40名(38.5%)と最も多く、多種多様の病原体を検出した。

4 まとめ

- (1) 京都市感染症発生动向調査事業における病原体検査（定点医療機関分）では、受付患者104名のうち35名(37.5%)から病原体を検出した。ウイルスでは、被検患者103名中31名(30.1%)から、エコー、コクサッキーA群・B群、エンテロA71、アデノ、ロタ、ノロ、RS、インフルエンザのウイルス15種類35株を検出した。細菌では、被検患者59名中10名(16.9%)から、黄色ブドウ球菌、カンピロバクター、サルモネラ属菌、および下痢原性大腸菌の細菌11株を検出した。
- (2) 感染症別病原体の検出率は、疾病の種類により異なり、手足口病が80.0%、RSウイルス感染症が50.0%、ヘルパンギーナが37.5%、感染性胃腸炎が36.8%、インフルエンザが36.4%、感染性髄膜炎が20.0%、及び咽頭結膜熱が9.1

表1 月別病原体検出状況 (小児科、インフルエンザ、眼科、基幹定点)

令和6年1月～12月

検体採取月		1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	計	病原体検出比率 (%)			
総受付患者数		13	11	11	13	2	8	10	7	3	8	13	5	104		109		
検査材料	ふん便	6	2	5	11	2	4	8	5	1	7	8	3	62				
	鼻咽頭ぬぐい液	6	9	5	1	0	5	3	1	2	1	7	0	40				
	髄液	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	2	5				
	咽頭うがい液	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1				
	尿	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1				
病原体検出患者数		4	4	6	3	1	5	3	3	3	5	2	0	39				
患者当たりの検出率(%)		30.8	36.4	54.5	23.1	50.0	62.5	30.0	42.9	100.0	62.5	15.4	0.0	37.5				
被検患者数		13	11	11	13	2	8	10	7	3	8	12	5	103	/			
検出患者数		4	4	6	3	1	3	1	3	3	1	2	0	31				
患者当たりの検出率(%)		30.8	36.4	54.5	23.1	50.0	37.5	10.0	42.9	100.0	12.5	16.7	0.0	30.1				
ウイルス	エンテロ	エコー18型								1					1	2.2		
		コクサッキーA6型							1	1					3	6.5		
		コクサッキーA16型										2	1			3	6.5	
		コクサッキーB2型					1									1	2.2	
		コクサッキーB3型					1									1	2.2	
		エンテロA71型							1					1			2	4.3
	ライノウイルス							1								1	2.2	
	アデノ	アデノ2型					1					1				4	8.7	
		アデノ41型						1						2			3	6.5
	ロタウイルス					1										1	2.2	
	ノロウイルスGI型					1										1	2.2	
	ノロウイルスGII型		3	1	2	1								1			8	17.4
	RSウイルス					3										3	6.5	
インフル	インフルエンザAH1pdm09型	1													1	2.2		
	インフルエンザB型	2													2	4.3		
小計		4	4	7	3	2	3	1	3	3	1	4	0	35	76.1			
被検患者数		6	2	5	11	2	3	7	5	0	7	8	3	59	/			
検出患者数		1	1	0	0	0	2	2	0	0	4	0	0	10				
患者当たりの検出率(%)		16.7	50.0	0.0	0.0	0.0	66.7	28.6	0.0	0.0	57.1	0.0	0.0	16.9				
細菌	黄色ブドウ球菌												1			1	2.2	
	カンピロバクター								2							2	4.3	
	サルモネラ											3				3	6.5	
	下痢原性大腸菌		1	1					2					1			5	10.9
	小計		1	1	0	0	0	2	2	0	0	5	0	0	11	23.9		
合計		5	5	7	3	2	5	3	3	3	6	4	0	46	100.0			

表2 感染症別病原体検出状況 (小児科、インフルエンザ、眼科、基幹定点)

令和6年1月~12月

疾病名		感染性胃腸炎	インフルエンザ	ヘルパンギーナ	咽頭結膜熱	手足口病	A群溶血性レンサ球菌咽頭炎	流行性角結膜炎	流行性耳下腺炎	RSウイルス感染症	その他	計(重複有)	計(重複無)	病原体検出比率(%)		
総受付患者数(重複有)		57	11	8	11	10	5	1	0	0	6	0	109		104	
検査材料	ふん便	57	0	1	1	2	2	0	0	0	0	63	62	109		
	鼻咽頭ぬぐい液	1	11	6	10	7	1	1	0	0	6	43	40			
	髄液	0	0	0	0	1	4	0	0	0	0	5	5			
	咽頭うがい液	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	2	1			
	尿	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2	1			
病原体検出患者数		21	4	3	1	8	1	0	0	0	3	41	39			
患者当たりの検出率(%)		36.8	36.4	37.5	9.1	80.0	20.0	0.0	0.0	0.0	50.0	37.6	37.5			
ウイルス	被検患者数		57	11	8	11	10	5	0	0	0	6	0	108	103	
	検出患者数		21	4	3	1	8	1	0	0	0	3	0	41	31	
	患者当たりの検出率(%)		36.8	36.4	37.5	9.1	80.0	20.0	0.0	0.0	0.0	50.0	0.0	38.0	30.1	
	エンテロ	エコー18型												1	1	2.2
		コクサッキーA6型												3	0	0.0
		コクサッキーA16型												3	3	6.5
		コクサッキーB2型	1											1	1	2.2
		コクサッキーB3型												1	1	2.2
	エンテロA71型					1	1							2	2	4.3
	ライノウイルス						1							1	1	2.2
	アデノ	アデノ2型	3		1	2							6	4	8.7	
		アデノ41型	3		1							4	3	6.5		
	ロタウイルス		1											1	1	2.2
	ノロウイルスGI型		1											1	1	2.2
	ノロウイルスGII型		8											8	8	17.4
RSウイルス						1							3	4	3	6.5
インフル	インフルエンザAH1pdm09型					1							1	1	2.2	
	インフルエンザB型					2							2	2	4.3	
小計		17	4	3	3	8	1	0	0	0	3	0	39	35	76.1	
細菌	被検患者数		57	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	59	59	
	検出患者数		10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	10	
	患者当たりの検出率(%)		17.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	16.9	16.9	
	黄色ブドウ球菌		1											1	1	2.2
	カンピロバクター		2											2	2	4.3
	サルモネラ		3											3	3	6.5
	下痢原性大腸菌		5											5	5	10.9
小計		11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	11	23.9	
合計		28	4	3	3	8	1	0	0	0	3	0	50	46	100.0	

表3 年齢階層別病原体検出状況 (小児科、インフルエンザ、眼科、基幹定点) 令和6年1月~12月

年齢		0歳	1~4歳	5~9歳	10~14歳	15歳以上	計	病原体検出比率 (%)		
総受付患者数		20	40	30	13	1	104			
検査材料	ふん便	7	20	22	12	1	62		109	
	鼻咽頭ぬぐい液	12	19	7	2	0	40			
	髄液	2	1	1	1	0	5			
	鼻咽うがい液	1	0	0	0	0	1			
	尿	0	1	0	0	0	1			
病原体検出患者数		8	19	10	2	0	39			
患者当たりの検出率(%)		40.0	47.5	33.3	15.4	0.0	37.5			
ウイルス	被検患者数		20	39	30	13	1	103	/	
	検出患者数		8	17	5	1	0	31		
	患者当たりの検出率(%)		40.0	43.6	16.7	7.7	0.0	30.1		
	エンテロ	エコー18型		1					1	2.2
		コクサッキーA6型		1	2				3	6.5
		コクサッキーA16型		1	2				3	6.5
		コクサッキーB2型			1				1	2.2
		コクサッキーB3型		1					1	2.2
		エンテロA71型		1	1				2	4.3
	ライノウイルス		1					1	2.2	
	アデノ	アデノ2型			4				4	8.7
		アデノ41型			3				3	6.5
	ロタウイルス				1			1	2.2	
	ノロウイルスGI型				1			1	2.2	
	ノロウイルスGII型		1	4	3			8	17.4	
	RSウイルス		1	2				3	6.5	
	インフル	インフルエンザAH1pdm09型			1				1	2.2
		インフルエンザB型				1	1		2	4.3
	小計		8	20	6	1	0	35	76.1	
細菌	被検患者数		4	21	22	11	1	59	/	
	検出患者数		0	4	5	1	0	10		
	患者当たりの検出率(%)		0.0	19.0	22.7	0.0	0.0	16.9		
	黄色ブドウ球菌				1			1	2.2	
	カンピロバクター			1		1		2	4.3	
	サルモネラ			1	2			3	6.5	
	下痢原性大腸菌			2	3			5	10.9	
小計		0	4	6	1	0	11	23.9		
合計		8	24	12	2	0	46	100.0		

表4 検出方法別病原ウイルス検出状況

令和6年1月～12月

		検体の種類				検出 件数	培養細胞				イムノ クロマト	遺伝子 検査
		ふん便	鼻咽頭 ぬぐい液	髄液	その他		FL	RD-18S	Vero	MDCK		
エンテロ	エコー18型		1			1						1
	コクサッキーA6型		2	1		3		1				2
	コクサッキーA16型	1	2			3			2			1
	コクサッキーB2型	1				1	1					0
	コクサッキーB3型			1		1	1					0
	エンテロウイルスA71型	1	1			2						2
	ライノウイルス	1				1						1
アデノ	アデノ2型	2	2			4	4	1	1		2	
	アデノ41型	3				3					3	3
ロタウイルス		1				1					1	
ノロウイルスGI型		1				1						1
ノロウイルスGII型		8				8						8
インフル エンザ	インフルエンザ AH1pdm09型		1			1						1
	B型		2			2				1		1
RSウイルス			3			3						3
合計		19	14	2	0	35	6	2	3	1	6	24

2 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) 藤木学、漆崎祐子、村上兆司、岩崎真行：スイセンによる食中毒に対する新規検査方法の検討※、令和6年度全国食品衛生監視員研修会（2024年10月） ※報文に掲載

3 衛生環境研究所セミナー

令和6年度 衛生環境研究所セミナープログラム

- ・日時 令和7年3月14日(金) 午後2時～午後4時40分
- ・場所 京都市衛生環境研究所 1階 大会議室

	テーマ	所属	発表者
1	令和6年度健康危機対処計画の運用について	管理課	瀧井 友希
2	衛生動物対策としての普及・啓発事業のあり方 ～イケズ虫をよく知るためには～	管理課	川崎 成人
3	京都市におけるマダニの生息調査について(2024年)	管理課	和田 好生
4	保存料・甘味料一斉分析検査方法の検討	食品化学部門	藤木 学
5	カンパチに寄生するUnicapsula seriolaeの 定性法、定量法及び顕微鏡検査法の検討	微生物部門	榊田 倫子
6	FSIS査察に対する食肉検査部門の対応について	食肉検査部門	小串 諒

「令和6年度健康危機対処計画の運用について」

衛生環境研究所管理課 企画調整係

○瀧井 友希、牧野 紘也、篠崎 史義

1 はじめに

国は新型コロナウイルス感染症の対応を踏まえ、今後の感染症危機事案に備えるため、「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」及び「地域保健法」を改正し、自治体における地方衛生研究所の設置を明文化するとともに、その機能強化が図られるよう必要な体制整備等を求めた。

当研究所においても、こうした国の動向や新型コロナウイルス感染症対応の実績等を振り返り、この先の感染症危機発生時に地方衛生研究所としての機能が十分に発揮できるよう令和6年3月に「京都市衛生環境研究所健康危機対処計画(感染症編)」(以下「対処計画」という。)を策定した。

対処計画では平時から感染症危機に備え、継続して人材育成や所内体制の整備に取り組むこととされている。今年度、当研究所で実施した人材育成研修及び実践型訓練の取組と今後の課題について報告する。

2 人材育成研修

人材育成研修は、基礎編と実務編に分けて実施した。

基礎編は講義形式で京都府感染症予防計画及び対処計画の概要並びに標準予防策をはじめとする感染症検査の基本的な手技について研修を行った。食肉検査部門を除く所内職員(以下「所内職員」という。)32名が受講した。

実務編は実務形式で模擬検体を使用し、検体受付から前処理を中心とした全自動 PCR

検査の研修を行った。所内職員のうち過去に類似研修未受講の11名が受講した。

3 実践型訓練

実践型訓練では、とある感染症が市内複数施設で集団発生したと仮定して、所内での危機管理体制への移行及び検体受入から検査結果返却までの一連の流れを確認した。保健所との連絡調整や検体受入は保健所職員と連携して実施した。

危機管理体制では管理課、食品化学部門及び環境部門職員が管理班に、微生物部門職員が検査班に編成され、さらに、管理班は庶務担当、情報担当、物資担当及び検査班応援に分かれて各役割を担っていく。今回の訓練では管理班各担当の役割確認をグループワーク形式で実施し、検査班での検体受付を模擬検体を用いて実践形式で行った。

所内職員22名が本訓練に参加した。

4 アンケート結果

人材育成研修と実践型訓練について所内職員に対して事後アンケートを実施した(回収率77.5%)。

人材育成研修(基礎編)の意見として、研修内容に発生段階における具体的な職員の動きやコロナ禍当時の状況や反省点を盛り込むことで当事者意識をもって捉えることができるのではないかと、標準予防策等の検査手技については実践形式を希望する等があった。

人材育成研修(実務編)では、検体受付と前処理を中心に実施し、全自動PCRの機械操作

はマニュアルのみの説明となったため、当該機械の操作が難しいと半数近くが回答し、実際に稼働させて手順の確認をしたかったという意見があった。

また、今回は参加対象を類似研修未受講の所内職員と限定したが、検査手技を習得するためには回数を重ねる必要があり、今後は対象を拡げて実施すべきとの意見も複数あった。

実践型訓練では、管理班の役割確認はグループワーク形式のみの訓練であったため、実践的な内容も盛り込むこと、検査についてある程度理解していないと意見を述べづらい、未経験の事態に対して対応策を考えるのは難しいとの意見があった。

一方、今回の訓練ではコロナ禍に実務を経験した微生物部門職員にも参加をしてもらい、助言等をもらいながら進められたこともあり各担当の役割についてイメージしやすく当事者意識をもって考えられたとの意見もあった。

全体をとおしての意見として、いかに当事者意識を持ってもらうか実施方法の工夫が必要、所内職員全体を対象とするなら参加の有無に関わらず実施内容の情報共有は必要、年度初めに対処計画に定める応援者を各部門であらかじめ選出し、担当ごとの研修を実施してはどうか、などがあった。

5 今後の課題

今後の課題として、職員一人一人に当事者意識を持って取り組んでもらうこと、通常業務の合間に多くの職員が参加できる実施方法を検討すること、コロナ禍の実務経験者が少なくなる中でその経験を風化させることなく継承していくことが考えられる。

来年度以降は人材育成研修及び実践型訓練においても実践的な要素をなるべく盛り込むことで多くの職員が当事者意識を持って参加できるような実施方法を検討し、所内職員へ

の情報共有を図っていく。さらに、振り返りを行うことで多くの職員へコロナ禍の経験を継承していけるよう取り組んでいく。

6 さいごに

対処計画には、計画的な人材育成研修及び年1回の実践型訓練が盛り込まれており、対処計画をより実効性の高いものとしていくためにも研修や訓練の在り方を継続的にブラッシュアップし、不測の事態に備えて地方衛生研究所として市民の健康や安心・安全を守る役割を果たせるよう努めていかなければならない。

衛生動物対策としての普及・啓発事業のあり方 ～イケズ虫をよく知るためには～

管理課（調査研究担当）

1 目的

衛生動物とは、「主として宿主の体外にいて、人獣に様々な害を及ぼす動物群」であり、昆虫やマダニなどの節足動物をはじめ、軟体動物や哺乳類も含む。そして、これらの動物群は我々人を咬む、刺す等直接的な害の他、ウイルスや細菌及び寄生虫などの病原体を媒介する間接的な害を及ぼすため注意が必要である。しかしながら、これら衛生動物をよく知らないため、全く害のない動物群を過度に恐れてしまい、駆除する必要がない動物群に対して殺虫剤などの薬剤を安易に使用されることにより、人体への健康被害のみならず、薬剤の環境への残留や生態系への影響が心配される。このようなことから衛生動物を正確に知るということは、環境や生態系を守るうえで非常に大切と考える。

そこで、衛生動物の中でも目にすることが多い節足動物を「イケズ虫」とし、これらを扱う講座を京都市青少年科学センターと連携し開催した。「衛生動物対策としての普及・啓発事業」と位置づけたこれらの取組みについて一定の知見を得たので報告する。

2 方法

(1) 講師派遣型講座

京都市青少年科学センターにおいて、衛生動物をテーマとして当研究所が担当し、講座へ参加した市民を対象にアンケートを実施した（講師派遣型講座 写真1）。アンケートは青少年科学センターが実施した参加者レポートをもって代えることとした。

未来のサイエンティスト養成事業夏期講座（京都市青少年科学センター主催）

開催日 令和6年7月23日（火）

場 所 青少年科学センター生物室

対象者 中学生

内 容 身の回りの有害な虫・不快な虫
～イケズ虫やあらしまへん～

(2) 出張展示型講座

講師派遣型講座と同じ内容で、同センター内にある常設展示会場で、別途特別展示を催し、来訪する市民へ説明をした。（出張展示型講座 写真2）アンケート調査は実施できなかったため、当該特別展示開催中に来訪者へ口頭にて聞き取りをしたものをアンケートとした。

青少年科学センター内特別展示

開催日 令和6年7月31日から同年8月21日までの毎週水曜日

場 所 青少年科学センター常設展示会場

対象者 来館者

内 容 身の回りの有害な虫・不快な虫
～イケズ虫やあらしまへん～

※イケズ虫として普及・啓発した節足動物

媒介害虫：蚊、マダニ、ツツガムシなど

有害害虫（屋外）：スズメバチ、ハネカクシ、蛾の幼虫など

有害害虫（屋内）：トコジラミ、イエダニなど

経済害虫：シロアリ、ヒラタククイムシ、ヒメマルカツオブシムシ、コクヌストモドキなど



(写真1)



(写真2)

3 結果

(1) 講師派遣型講座

(アンケート結果から抜粋)

- ・「生きているコクヌストモドキを見て歩き方がなんともかわいらしく感じた。」
- ・「害虫として人々から目をそむけられるのはとてもかわいそうだと思った。」
- ・「刺したり咬んだりする体の位置も虫によって好みが変わる事が一番心に残りました。」
- ・「ものすごく小さい生物が人間に害を与えるということで、小さな生物が人間という大きな生物に害を与えることがわかった。」

(2) 出張展示型講座

(来訪者と口頭でのやりとりから抜粋)

- ・「こんなに害虫をじっくり見たの初めてです。」(保護者)
- ・「イケズ虫って初めて聞きました。」(保護者)
- ・「クロスズメバチってこんなに小さいけど、スズメバチなんですね。」(保護者)
- ・「うわ〜生きている虫！え？コクヌストモドキ、なんか面白い名前ですね。」(保護者)
- ・「こわいけど、おもしろかった！」(幼児)

4 まとめ

講師派遣型講座及び出張展示型講座ともに大盛況であった。コロナ禍では開催が出来なかったことへの反動もあり、イケズ虫というテーマであっても生き物を間近に観察ができる機会を市民が求めているといえた。講師派遣型講座は事前申込み制でしかも定員を超えての申込みがあったため抽選で参加者を決めた。そのため、参加した生徒の学習意欲は大変高く、学びの姿勢を強く感じる事ができた。出張展示型講座は事前申込みではないものの、時間が経つとともに、興味を持った来訪者が続々と押し掛けた。しかし、先に述べた講師派遣型講座に比較して来訪者は低年齢で、特に幼児が多く、顕微鏡の扱いが難しい場面があった。幅広い年齢に対応できるように改善することも必要と感じた。

衛生動物、いわゆるイケズ虫の普及・啓発を考える上で、今回のような講座や展示の場を最大限行うことが有効であることが示された。特に子供への普及・啓発はその保護者へも間接的に効果があることが期待できる。今後は子供を中心として様々な年齢や世代へ普及・啓発を進めていくことは有用である。

また、当研究所単独だけではなく、青少年科学センターのような外部機関と積極的に連携し、引続き普及・啓発に努めてまいりたい。

※連携する場を設けていただきました京都市青少年科学センターにこの場を借りて、深謝申し上げます。

京都市におけるマダニの生息調査について (2024 年)

管理課 調査研究担当

○和田 好生、栗田 知明、川崎 成人、篠崎 史義

1 はじめに

マダニは、ヒトをはじめとしてシカ、イノシシなどの哺乳類や鳥類等に寄生して血液を唯一の栄養源とし、種類によっては吸血の際に日本紅斑熱、重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) 等の感染症の病原体を媒介することが知られている。感染症法の4類感染症に指定されている日本紅斑熱やSFTS、ライム病を合わせた全国の届出患者数は、2024年では10年前に比べて約2倍に増加している¹⁾。また、マダニは効率よく吸血するために、様々な生理活性物質を宿主体内に送ることでアレルギー反応を引き起こす。本調査の目的は、京都市内に生息するマダニの生息状況や季節消長を把握することにより、マダニ媒介感染症の蔓延やマダニによる刺咬被害の防止に寄与することである。

2013年に国内でSFTS患者が発生したことや、シカをはじめとする野生動物の生息数が増加していることを背景に、当課では2014年より市内周辺部においてマダニの生息調査を継続して実施し、各種マダニの生息を確認している。2024年からは、市内の北部及び東部、中部の3地点に加え、市内の西部でも調査を開始した。調査データを解析した結果、マダニの生息状況や季節消長に一定の傾向が見られた。これらの結果について報告する。

2 方法

(1) 調査地点及び調査期間 (表1)

表1 調査地点及び調査期間

調査地点	地点の位置	立地環境	調査期間	調査頻度
A	市内北部	山林と繋がり、多くのシカの目撃情報がある。	2024年1月～2024年12月	
B	市内東部	山林と繋がり、シカやイノシシの目撃情報がある。近隣に住宅地等がある。	2024年1月～2024年12月	月1回
C*	市内西部	山林と繋がり、シカの目撃情報がある。近隣に住宅地等がある。	2024年3月～2024年12月	
D	市内中部	近隣に商業施設等がある地域で、現在のところ野生動物の目撃情報はない。	2024年1月～2024年12月	四半期に1回

(※) C地点は、2024年3月から新規で調査開始。

(2) 調査方法

ア 採集方法：flagging法 (旗ざり法)

フランネル布 (縦90 cm×横100 cm) を長さ約1 mの棒の一端に取付け、あらかじめ定めた調査経路の地表の植生や落ち葉の上に接するように歩行し、そこに付着したマダニ (幼虫を除く) はその場にてピンセットで採取し、エタノール入りバイアル瓶に保管した。調査終了後は、フランネル布を密閉袋に保管して持ち帰り、冷凍保管した。

イ 調査人数及び採集時間

調査地点1か所毎に、調査員1名で概ね30分間実施

(3) 鑑別方法

採集したマダニは、以下の方法により形態学的特徴から鑑別を行い、採集数を集計した。

ア 成虫・若虫

成虫は実体顕微鏡で種および性別を、若虫は実体顕微鏡または生物顕微鏡で種を同定した。

イ 幼虫

冷凍したフランネル布からピンセットで採取し、生物顕微鏡でマダニ科の属名まで同定した。

なお、詳しい種類の同定は実施していない。

3 結果と考察

(1) マダニの採集結果

今回の調査では、種不明の幼虫を除き、調査した4地点中3地点で2属7種 1,101 匹のマダニが採集された(表2)。これらの3地点(A~C地点)は、シカ等の野生動物が目撃されている地点であり、合計採集数が最も多かったマダニは、オオトゲチマダニ(607匹)であった。次いで、フタトゲチマダニ(362匹)、キチマダニ(79匹)であった。これらの3種は、A~Cすべての地点で確認された。調査地点別の特徴として、ヒゲナガチマダニはB及びC地点で採集されたが、A地点では採集されなかった。

合計採集数が10匹に満たないマダニの種類は、タカサゴキララマダニ(9匹)、ヤマアラシチマダニ(2匹)、タカサゴチマダニ(1匹)であった。タカサゴキララマダニは例年少数採集されており、ヤマアラシチマダニとタカサゴチマダニは今回の調査で初めて採集された。

今回採集されたマダニのうち、キチマダニやフタトゲチマダニ、タカサゴキララマダニはヒトへの刺咬例が多く、主に日本紅斑熱またはSFTSを媒介するとされている。

表2 各調査地点におけるマダニ採集数の結果

調査地点	調査回数	チマダニ属										チマダニ属幼虫	合計(幼虫除く)				
		フタトゲチマダニ		オオトゲチマダニ		キチマダニ		ヒゲナガチマダニ		ヤマアラシチマダニ				タカサゴチマダニ		キララマダニ属 タカサゴキララマダニ	
		成虫	若虫	成虫	若虫	成虫	若虫	成虫	若虫	成虫	若虫			成虫	若虫	成虫	若虫
A	12	9	28	88	413	18	41							1		535	598
		合計 37		合計 501		合計 59								合計 1			
B	12	21	99	13	37	8	1	29	1		1				2	1168	212
		合計 120		合計 50		合計 9		合計 30		合計 1		合計 1		合計 2			
C	10	15	190	4	52	2	9	11		1			1		6	984	291
		合計 205		合計 56		合計 11		合計 11		合計 1		合計 1		合計 6			
D	4																
合計	38	362		607		79		41		2		1		9		2687	1101

(2) 各調査地点におけるマダニの採集数割合(種不明の幼虫除く)

A地点はオオトゲチマダニの割合が最も多く、B地点及びC地点はフタトゲチマダニの割合が最も多かった(図1)。各調査地点におけるマダニの優占種が異なっていた。

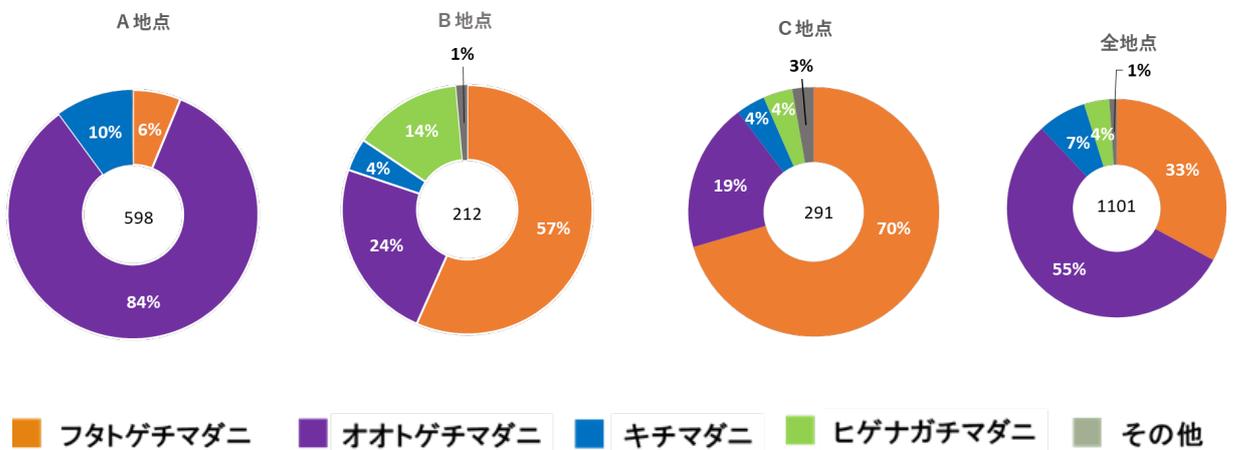


図1 各調査地点におけるマダニの採集数割合(円グラフ中央の値は採集総数を表す)

(3) マダニの季節消長

全調査地点における各種マダニの月別採集数を、図2に示した。フタトゲチマダニは、春から夏にかけて多く採集される傾向があった。オオトゲチマダニ及びキチマダニは秋～春にかけて、ヒゲナガチマダニは冬に多く採集された。また、上記4種類のマダニの月別採集数について、図3に示すとおり、7月から8月にかけては他の月に比べて、マダニの採集数が大きく減少したものの、年間を通してマダニが採集された。他都県のマダニ生息調査^{2)、3)}においても、同様の傾向が見られた。

東京都の調査⁴⁾によると、図4に示すとおり、マダニの相談等件数は6月から8月に最も多くなる傾向であり、今回のマダニ生息調査結果と傾向が一致しなかった。夏にマダニの相談等件数が増加する理由としては、人々の服装や行動により被害に遭いやすいと考えられること、行政が主に春から夏にかけて行う広報活動により市民の注目が高まると考えられることが挙げられる。

4 まとめ

京都市内の4地点におけるマダニ調査の結果、シカ等が目撃される3地点においてマダニが採集された。このことから、野生動物とマダニの生息場所には、密接な関係があることが分かった。

今回の調査結果では、マダニの月別採集数は夏に大きく減少するものの、年間を通して日本紅斑熱やSFTSなどの病原体を媒介するマダニが採集された。日本におけるSFTS患者の届出は毎年5月から10月に多いものの、それ以外の月にも感染者が報告されている⁵⁾。したがって、マダニが生息している可能性があると考えられる場所においては、一年を通じて服装や行動に十分気をつけることが、マダニの刺咬被害を防ぐ上で重要であることが示唆された。

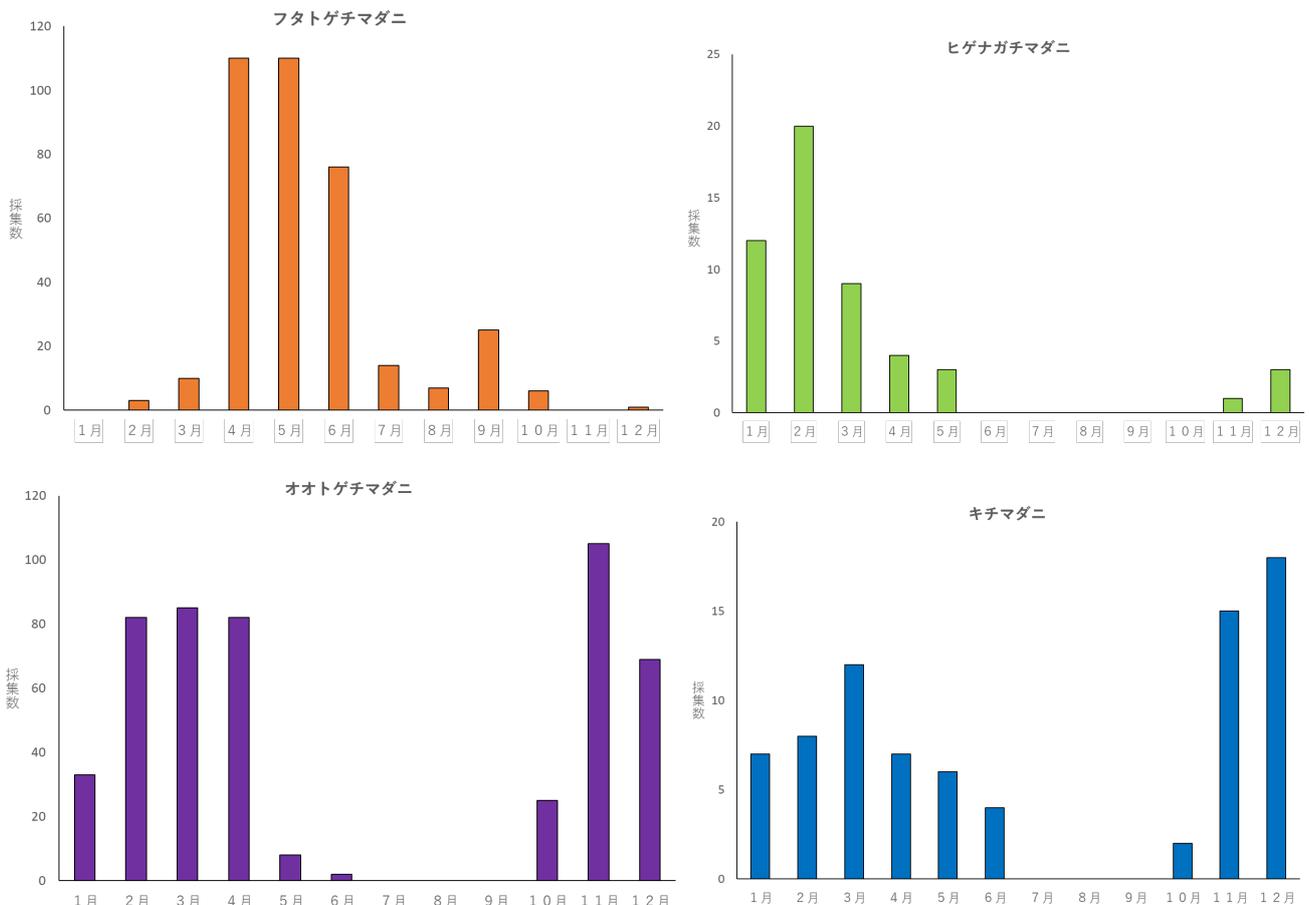


図2 全調査地点における各種マダニの月別採集数

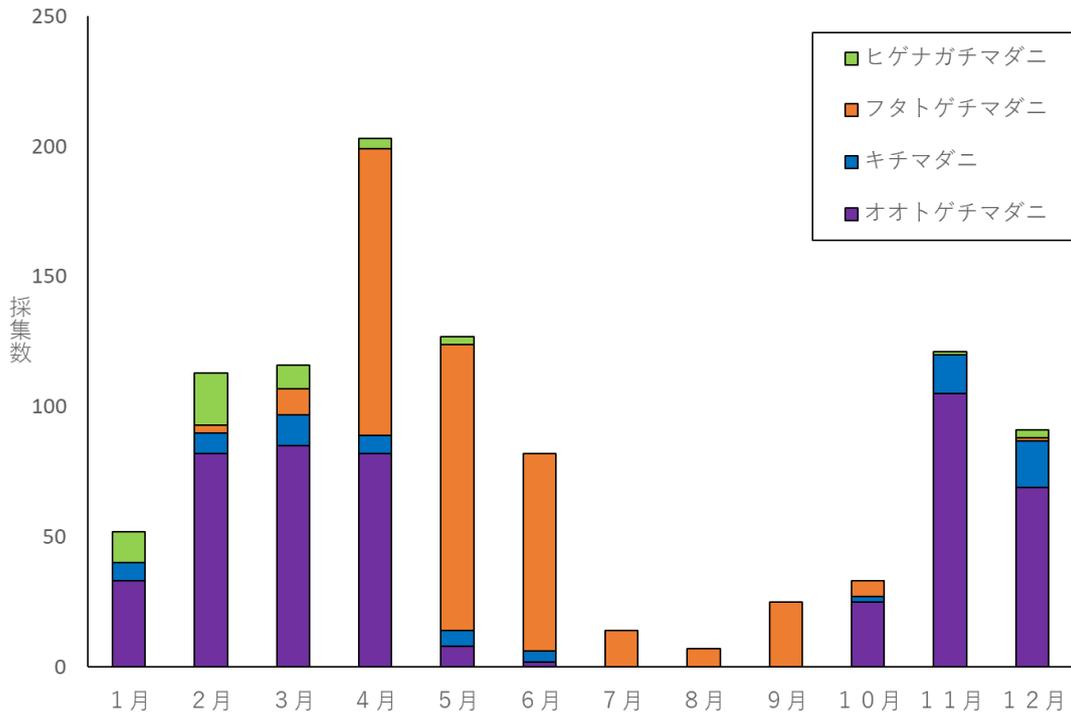


図3 全調査地点におけるマダニの月別採集数

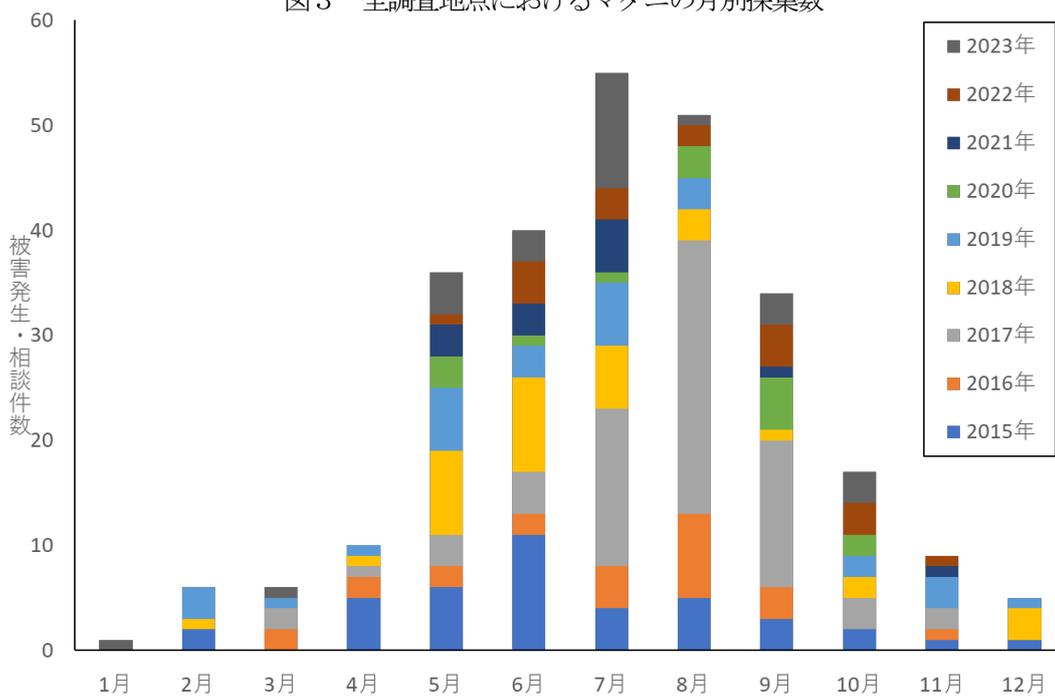


図4 東京都における月別マダニの被害発生・相談件数

5 参考文献

- 1) 国立感染症研究所ホームページ：感染症発生動向週報 (IDWR), <https://www.niid.go.jp/niid/ja/idwr.html>
- 2) 東京都健康安全研究センター年報 No74,241-246,2023
- 3) 千葉県衛生研究所年報 No69,62-67,2020
- 4) 東京都におけるねずみ・衛生害虫等相談状況調査結果,
<https://www.hokeniryo.metro.tokyo.lg.jp/kankyo/eisei/nezukon>
- 5) 国立感染症研究所ホームページ：感染症発生動向調査で届出られた SFTS 症例の概要
(2024年10月31日更新), <https://www.niid.go.jp/niid/ja/sfts/sfts-idwrs/12675-sfts-2.html>

保存料・甘味料一斉分析検査方法の検討

衛生環境研究所食品化学部門

○藤木学、漆崎祐子、村上兆司、岩崎真行、大見武夫

1 はじめに

食品添加物の保存料、甘味料は幅広い食品に使用されており、同時に使用されることもある。本市では、3種類の保存料（安息香酸（BA）、ソルビン酸（SOA）、デヒドロ酢酸（DHA））及び1種類の甘味料（サッカリンナトリウム（SAC））の4種類を分析対象として行政検査を行っている。

食品添加物分析法では、保存料は水蒸気蒸留法、甘味料は透析法や溶媒抽出法により試験溶液の調製を行い、HPLCで測定することとされているが、行政検査では同時に複数の項目の検査を行わなければならないことから、本市では、透析法で上記4種類の測定を行っている。

5種類の保存料（パラオキシ安息香酸エチル（PHBA-Et）、パラオキシ安息香酸イソプロピル（PHBA-iPr）、パラオキシ安息香酸プロピル（PHBA-Pr）、パラオキシ安息香酸イソブチル（PHBA-iBu）、パラオキシ安息香酸ブチル（PHBA-Bu））、及び1種類の甘味料（アセスルファムカリウム（AK））を追加し、透析法で、8種類の保存料及び2種類の甘味料を同時に分析する方法について検討した。

2 方法

(1) 試料

塩漬（漬物）、食肉製品、魚肉練り製品、ワイン、ジャム（輸入食品）

8種類の保存料、2種類の甘味料のいずれかの使用基準があり、本市が行政検査を行っている食品を優先とした。

(2) 試薬

標準品は、BA（特級）、SOA（食品分析用）、DHA（食品分析用）及びSAC（n水和物 食品分析用）は関東化学製を用いた。PHBA-Et、PHBA-iPr、PHBA-Pr、PHBA-iBu及びPHBA-Buは、東京化成工業製を用いた。AK（高速液体クロマトグラフ用）は、富士フイルム和光純薬製を用いた。

有機溶媒は高速液体クロマトグラフ用、水は高速液体クロマトグラフ用又はヤマト科学製 WR-700で製造した超純水を、その他の試薬は試薬特級を用いた。透析膜チューブ（36mm/32mm）は積水メディカル製を、フィルター（孔径0.20µm）は東洋濾紙製 DISMIC-13HPを用いた。

(3) 標準原液

次のとおりに各標準原液を調製した。PHBA エステル類は、60%メタノールで、AKは水で、その他はメタノールで溶解して調製した。

BA、DHA 混合標準原液：1000µg/mL、SOA 標準原液：25000µg/mL、PHBA エステル類混合標準原液：1000µg/mL、SAC 標準原液：20000µg/mL、AK 標準原液：25000µg/mL

(4) 装置

HPLC 部（PDA 検出器付）：島津製作所製 LC-20AT、LC-20AD

(5) 測定条件

ア 保存料

分析カラム：Cosmosil 5C-18-AR-II（4.6mmI.D×150mm、粒子径5µm）

ガードカラム：Cosmosil 5C-18-AR-II（4.6mmI.D×10mm、粒子径5µm）

移動相：メタノール：アセトニトリル：5mM クエン酸緩衝液（1:2:7）（A液）

メタノール：アセトニトリル：5mM クエン酸緩衝液（5:4:11）（B液）

条件：B液 0%（0-10min）→0-100%（10-15min）→100%（15-27min）→100-0%（27-30min）
→0%（30-45min）、流速：1.0mL/min、測定波長 230nm（BA）、255nm（SOA、PHBA
エステル類）、308nm（DHA）、注入量：20 μ L、カラム温度：40 $^{\circ}$ C

イ 甘味料

分析カラム：Wakosil 5NH₂（4.6mmI.D×150mm、粒子径 5 μ m）

ガードカラム：Wakosil 5NH₂（4.6mmI.D×10mm、粒子径 5 μ m）

移動相：1%リン酸（A液）、メタノール（B液）

条件：B液 40%、流速：0.7mL/min、測定波長 230nm、流入量：20 μ L、カラム温度：40 $^{\circ}$ C

ウ 保存料、甘味料

分析カラム：ZORBAX Eclipse XDB-C18（4.6mmI.D×150mm、粒子径 3.5 μ m）

移動相：20mM リン酸緩衝液（A液）、アセトニトリル（B液）

条件：B液 5%（0-3min）→5-36%（3-9min）→36%（9-45min）→5%（45-55min）流速：
0.7mL/min、測定波長 210nm（SAC）、230nm（BA、AK）、255nm（SOA、PHBA
エステル類）、300nm（DHA）、注入量：10 μ L、カラム温度：40 $^{\circ}$ C

（6）試験溶液の調製

液状の試料はそのまま、固形状の試料は包丁等で細かく刻み均一化し、10gを精密に量り、透析膜チューブ内に入れた後、透析内液約 20mLを封入し、空気をできるだけ追い出し上端を封じた。これをメスシリンダーに入れ、透析外液で全液が 200mLとなるように定容し、室温で 18～24 時間透析した。透析外液をフィルターで濾過したものを試験溶液とした。透析膜チューブは、約 30cmに切り、片方を閉じた。

（7）検量線

標準原液を 50%メタノールで希釈し各成分が 0.125、0.25、0.5、1、2、5、10 μ g/mLの検量線用混合標準溶液を調製した。

（8）添加回収試験

各食品における基準値濃度となるように各標準原液又は希釈した溶液を添加して回収率を求めた。使用基準が対象食品への使用が認められていない場合は、定量下限値の濃度を添加した。

それぞれの試料について 1日 2 併行 2 日間実施した。

3 結果と考察

（1）透析液の検討

本市の行政検査では、透析内液、外液共に 20mM 水酸化ナトリウム水溶液を用いているが、20mM 水酸化ナトリウム水溶液では PHBA エステル類の回収率が著しく低かった。既報を参考に透析内液、外液共に、30%メタノール、50%メタノール、70%メタノールを用いて検討した。

また、通知法では甘味料の分析において、透析内液に 10%塩化ナトリウム 0.01mM 塩酸を用いているため、透析内液に 10%塩化ナトリウム 0.01mM 塩酸を用いることにより回収率に影響があるか検討したところ、回収率に差異はほぼ見られなかった。操作性や試薬調製の簡便さから、透析内液に 10%塩化ナトリウム 0.01mM 塩酸を用いないこととした。

塩漬、ワイン及びジャムにおいては、表 1 のとおり全ての成分において 30%メタノール、50%メタノール、70%メタノールのいずれにおいても良好な回収率（70～120%）を得た。

食肉製品及び魚肉練り製品においては、30%メタノール、50%メタノールで PHBA エステル類の回収率が低下した。

保存料の結果は2 (5) 測定条件ア、甘味料の結果は2 (5) 測定条件イによるものである。

(2) 分析カラム及び移動相の検討

本市では保存料のみを測定する測定条件、甘味料のみを測定する測定条件、保存料、甘味料を同時に測定する測定条件により行政検査を行っている。

保存料のみを測定する測定条件 (2 (5) 測定条件ア) では、これまで分析実績のある逆相系のカラム及び移動相を用い、図1のとおり8種の保存料が、ピーク形状及び分離ともに良好に分析できた。

甘味料のみを測定する測定条件 (2 (5) 測定条件イ) も、これまで分析実績のある順相系のカラム及び移動相を用い、図2のとおり2種の甘味料が、ピーク形状及び分離ともに良好に分析できた。

分析実績のある保存料、甘味料を同時に測定する逆相系のカラム (Shimpack HR-ODS、島津製作所製) 及び移動相条件 (20mM リン酸緩衝溶液とアセトニトリルのグラジエント) では、PHBA エステル類の分離が完全に行えなかった。移動相条件をアセトニトリルからアセトニトリルとメタノールの混合溶液に変更するなど移動相条件を検討したが、PHBA エステル類の分離が完全に行えず、グラジエント条件によっては、SAC と AK のピーク形状がやや悪かった。

そこで、複数の逆相系カラムを用いて条件検討を行ったところ、混合標準溶液について ZORBAX Eclipse XDB-C18 (4.6mmI.D×150mm、粒子径 3.5µm) で PHBA エステル類を完全に分離することができた。70%メタノールでは AK のピーク形状がやや悪い場合があったが、50%メタノール、30%メタノールでは8種類の保存料及び2種類の甘味料のピーク形状及び分離ともに良好に分析できた。また、分析時間についても60分から55分と短縮できた。

食肉製品及び魚肉練り製品については70%メタノールを用い、漬物、ワイン、ジャムにおいては50%メタノールを用いることがよいと考えられた。

4 まとめ

今回検討した食品については、8種類の保存料、2種類の甘味料が測定することができた。今後、他の食品においても適用できるか検討するとともに、保存料甘味料を同時に測定する測定条件において食品での分析が可能かどうかについて検討を行っていく。

参考文献

- 1) 迅速透析法を用いた食品中保存料・甘味料同時抽出の検討 東京都健康安全研究センター年報、70、143-147、2019
- 2) 厚生労働省医薬・生活衛生局 食品基準審査課長通知：「食品中の食品添加物分析法」の改正について、薬生食監発 0624 第1号、令和3年6月24日
- 3) 厚生労働省医薬・生活衛生局 食品基準審査課長通知：「食品中の食品添加物分析法」の改正について、薬生食基発 0529 第1号 薬生食監発 0529 第1号、令和5年5月29日
- 4) 一般財団法人化学物質評価研究機構 JASIS 2019 新技術説明会

表1 メタノール濃度（各食品の上段から30%、50%、70%メタノール）の違いによる回収率の関係

食品	回収率(%)									
	BA	SOA	DHA	PHBA-Et	PHBA-iPr	PHBA-Pr	PHBA-iBu	PHBA-Bu	SAC	AK
塩漬	104.9	103.2	113.8	100.1	97.0	96.1	88.2	87.5	93.3	97.6
	107.5	109.1	116.4	105.0	104.0	104.8	104.0	101.0	92.6	99.1
	110.6	103.5	114.2	108.2	106.2	107.4	102.7	106.8	92.6	100.1
食肉製品	99.7	89.3	95.4	77.3	62.0	54.7	37.4	32.3	101.8	97.0
	102.5	93.9	94.5	94.1	85.2	79.6	64.1	57.9	98.1	96.9
	108.5	98.4	100.5	109.3	110.5	114.0	101.1	108.5	107.0	99.3
魚肉練り製品	104.2	93.7	102.1	88.0	77.3	73.4	49.1	51.3	100.0	102.0
	100.1	91.4	93.8	96.5	90.3	89.1	80.1	78.8	96.1	99.8
	110.8	92.5	95.9	106.7	106.0	105.8	101.4	102.1	98.1	101.8
ワイン	84.8	99.3	95.9	106.3	99.5	100.3	94.3	94.3	100.2	99.2
	102.8	102.4	107.9	111.1	109.3	108.1	107.5	109.4	104.0	100.0
	108.6	103.4	109.5	106.4	105.8	104.1	101.6	103.8	106.2	102.1
ジャム	102.1	101.5	107.9	106.9	101.6	96.8	100.6	102.3	96.4	98.5
	98.2	93.8	102.1	104.0	101.4	95.8	97.2	103.0	92.2	92.9
	107.0	100.6	109.6	107.1	97.6	94.7	97.5	103.1	96.8	97.2

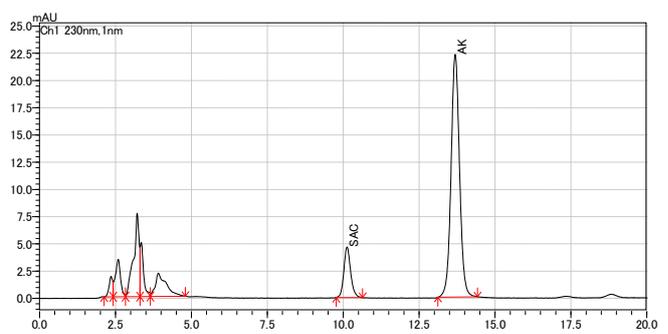
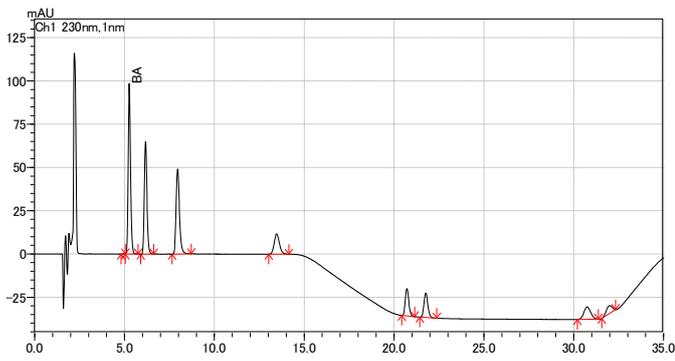


図2 塩漬に添加したSACとAKのUVクロマトグラム

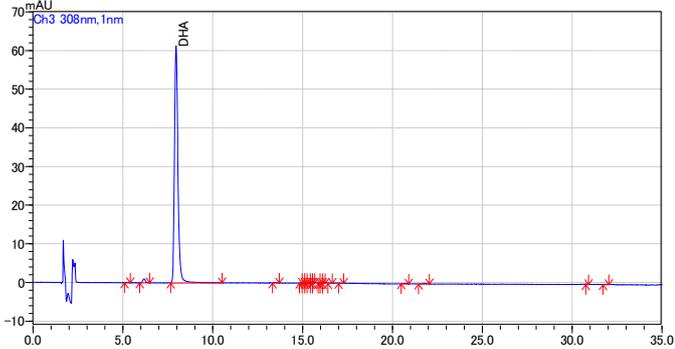
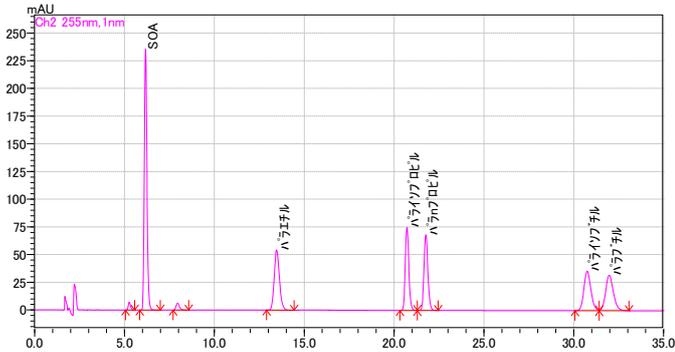


図1 塩漬に添加した8種類の保存料のUVクロマトグラム

カンパチに寄生する *Unicapsula seriolae* の定性法、定量法及び顕微鏡検査法の検討

京都市衛生環境研究所 微生物部門

○榊田 倫子、富田 陽子、市村 桃子、筋篁 拓也、
林 和奏、大北 晋也、清水 英信

1 はじめに

Unicapsula seriolae (以下、「*U. seriolae*」)とは、クドア属に近縁のユニカプスラ属に分類される粘液胞子虫である。粘液胞子虫とは、魚類と環形動物(ゴカイ、ミミズなど)を交互に宿主とする寄生虫である。

近年では、クドア属の一種である *Kudoa septempunctata* (以下、「*K. septempunctata*」)が寄生したヒラメの生食によって、引き起こされる食中毒が広く知られるようになり、ヒラメの養殖において、種苗導入前の検査や、出荷前の検査等が食中毒対策として実施されている¹⁾。一方で、ヒラメ以外の魚の生食による有症苦情事例のうち、喫食後数時間程度の短い潜伏期間で、一過性の下痢や嘔吐等の *K. septempunctata* 食中毒と類似した症状が出現する事例が報告されている。これらの有症苦情事例の残品のうち、カンパチから *U. seriolae* の DNA 及び胞子が検出されていることから、カンパチの生食による有症苦情事例と *U. seriolae* との関連が疑われている²⁾。

現在のところ、*K. septempunctata* については厚生労働省の通知により検査法が確立されているが、*U. seriolae* については、確立されていない。

そこで、カンパチに寄生する *U. seriolae* の定性法、定量法及び顕微鏡検査法の検討を行った²⁾。

2 目的

まだ検査法が確立されていない *U. seriolae* の定性法、定量法及び顕微鏡検査法の検討を行い、今後の検査業務に活かすことにより、食中毒の原因食品や原因施設の特定に寄与する。

3 方法

(1) 材料

検体は、令和6年度に食品収去検査で当研究所に搬入された刺身用のカンパチ1検体を用いた。陽性コントロール(以下、「PC」)については、国立医薬品食品衛生研究所から分与いただいた、コンベンショナルPCR用PCとリアルタイムPCR用PCを使用した。

(2) DNA抽出

DNA抽出は、厚生労働省通知「*Kudoa septempunctata* の検査法について(平成28年4月27日 生食監発0427第3号)」に準じて行った³⁾。

(3) 添加回収試験

DNA抽出の工程で失われるDNA量を調べる為に、魚から抽出されたコンベンショナルPCR用PCを用いた。

(4) コンベンショナルPCRによる定性法

刺身用のカンパチの2ヶ所から採取し、DNA抽出を行ったもの(以下、「カンパチ1」及び「カンパチ2」)をテンプレートとした。1検体あたり、PCR反応液は23 μ L(表1)、テンプレートは2 μ Lとした。

表1 PCR反応液(コンベンショナルPCR用)

〈PCR反応液〉※1検体あたり	
・EX Taq HS®	: 0.125 μ L
・10 \times Buffer	: 2.5 μ L
・dNTP	: 2 μ L
・プライマー-F* ¹ (20 μ M)	: 0.25 μ L
・プライマー-R* ¹ (20 μ M)	: 0.25 μ L
・精製水	: 17.875 μ L
計	23 μ L

*¹Uni-F: 5'-CGGATCTGCAGGTGAACCTAA-3'

Uni-R: 5'-AAACCACTTGGGCTCAAGTTCCATCGA-3'

PCR 反応は 94°C 2 分間を 1 サイクルの後、94°C 30 秒間、55°C 30 秒間、68°C 1 分間を 30 サイクル行った。

PCR 反応後、アガロースゲルで電気泳動を行った。

(5) リアルタイム PCR による定量法

1 検体あたり、PCR 反応液は 16 μL (表 2)、テンプレートは 4 μL とした。また、PC は 10²、10⁴、10⁶、10⁸ となるように段階希釈し、調製した。

PCR 反応は 95°C 10 分間を 1 サイクルの後、95°C 15 秒間、60°C 60 秒間を 45 サイクルで行った。

(6) 顕微鏡検査法

検体を 0.5g シャーレに採取し、200 μm のメッシュを上に乗せる。そこにリン酸緩衝生理食塩水 (以下、「PBS」) を 3mL 加え、ピンセットでメッシュの上から軽く押さえ検体を潰し、懸濁液をチューブに回収した。潰した検体に再び PBS を 3mL 加えて、同様の作業を行い、懸濁液をチューブに回収し、チューブ内の懸濁液が 15~20 mL になるまで繰り返した。新しいチューブに 100 μm のフィルターを付け、懸濁液をろ過後、3,500 rpm で 10 分間冷却遠心し、上清を完全に除去し、沈殿に 500 μL の PBS を加え、懸濁した。その後、懸濁液 10 μL とトリパンブルー染色液 10 μL を混合し、血球計算盤に 10 μL 入れ、胞子の確認を行った。また、もう 1 つの方法として、懸濁液 10 μL をスライドガラスに塗抹し、火炎固定した後、サフラニン染色で 1 分間染色を行い、胞子の確認を行った。

4 結果

コンベンショナル PCR による定性法では、カンパチ 1 のみ陽性であった (図 1)。

リアルタイム PCR による定量では、全ての検体において、*U. seriola* が検出され、Ct 値が 36 以下であった (表 3)。また、R² (相関係数) 値が 0.9994、傾きが -3.326、増幅効率が 99.84 であり (図 2)、定量検査は正確に行っていた⁴⁾。

次に *K. septempunctata* の定量計算法に基づき、DNA コピー数の計算を行った (表 3)。検体を 50 mg 採取した場合は、「テンプレート 4 μL 中の DNA コピー数 × 200 μL / 4 μL × 1,000 mg / 50 mg」の値が検体 1g あたりの DNA コピー数となる。カンパチ 1 の場合、1g 当たりの DNA コピー数が 7.34 × 10⁶ で、カンパチ 2 の場合、2.41 × 10⁵ であり、DNA コピー数において、カンパチ 1 はカンパチ 2 と比較して約 30 倍高かった。さらに、コンベンショナル PCR 用 PC における 4 μL 当たりの DNA コピー数は、2.87 × 10⁵ (コンベンショナル PCR 用 PC)、5.58 × 10² (コンベンショナル PCR 用 PC 抽出物) であり、DNA 抽出により、DNA 量が約 1/510 となった。

顕微鏡検査法においては、今回は、胞子を確認出来なかった。

表 2 PCR 反応液 (リアルタイム PCR 用)

〈PCR 反応液〉 ※1 検体あたり	
・TaqMan 2×Universal Master Mix®	： 10 μL
・プライマー-F* ² (20 μM)	： 0.40 μL
・プライマー-R* ² (20 μM)	： 0.40 μL
・プローブ* ³ (10 μM)	： 0.50 μL
・精製水	： 4.7 μL
計	16 μL

*²Unicapsula-F : 5'-AGAGAGACAACCGGGATCAA-3'

Unicapsula-R : 5'-TCACGACAGCGATTTTCAAG-3'

*³Unicapsula-P : 5'-[FAM]CGGGGAAGCGTGGCAATAA[TAMRA]-3'

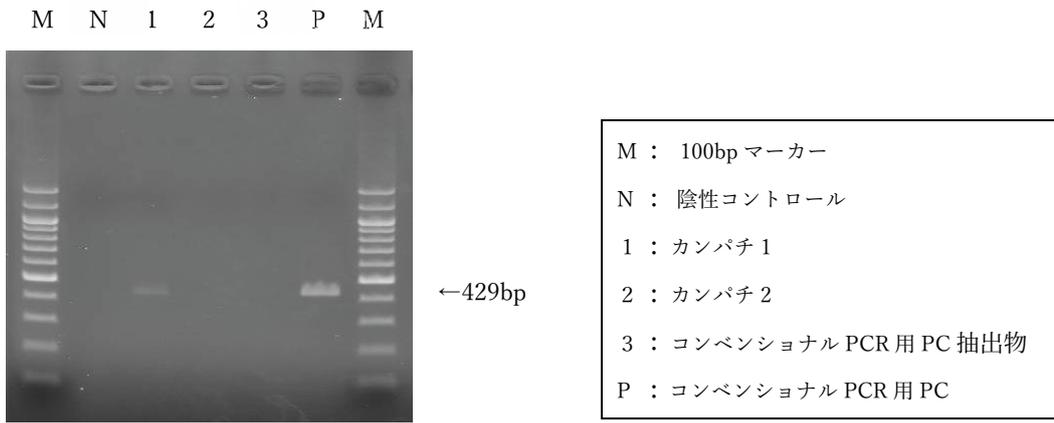


図1 コンベンショナル PCR による定性結果

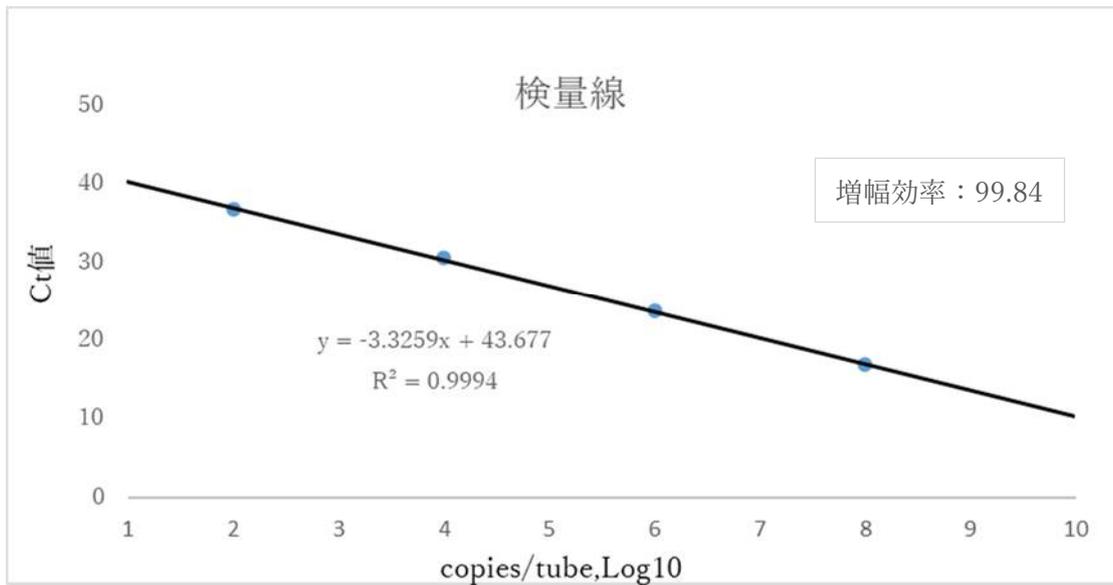


図2 リアルタイム PCR による定量結果<検量線>

表3 リアルタイム PCR による定量結果< Ct 値および DNA コピー数>

	Ct 値	DNA コピー数 (4 μ L あたり)	DNA コピー数 (1g あたり)
カンパチ 1	30.8	7.34 \times 10 ³	7.34 \times 10 ⁶
カンパチ 2	35.8	2.41 \times 10 ²	2.41 \times 10 ⁵
コンベンショナル PCR用 PC	25.5	2.87 \times 10 ⁵	—
コンベンショナル PCR用 PC 抽出物	35.6	5.58 \times 10 ²	—

5 考察

コンベンショナル PCR で定性試験を行ったところ、カンパチ 1 のみ陽性であった (図 1)。また、リアルタイム PCR で定量試験を行ったところ、DNA 量において、カンパチ 1 はカンパチ 2 と比較して約 30 倍高かった (表 3)。同じカンパチであっても、部位により DNA 量が大きく異なることが示唆された。このことから、リアルタイム PCR と比較して、コンベンショナル PCR では感度が落ちる為、陽性判定するには、リアルタイム PCR と比較してより多くの DNA 量が必要となることが示唆された。

さらに、添加回収試験を行うと、抽出の工程で DNA 量が約 1/510 倍となってしまう、リアルタイム PCR を行わずコンベンショナル PCR のみを行っていた場合、結果に影響してしまう可能性があることが考えられる。上記のことより、カンパチに寄生する *U. seriolae* の検査では、リアルタイム PCR を行うことが重要である。

また、検体については、食中毒を疑う事例において、患者便や食品残品等が搬入されることが考えられるが、粘液胞子虫はヒトの消化管では増殖しない為、喫食から患者便検体採取までの期間が 3 日未満の検体では陽性率が約 70% である一方、3 日以上 of 検体では約 26% に低下することから、検体採取までの期間が検査結果に大きく影響すること、また発症直後に採取した患者便であっても陰性となりうることに十分留意する必要がある⁵⁾。さらに、原因究明には、患者が喫食したものと同一個体の食品残品が必要である⁶⁾。しかし、食中毒疑いの調査を行う頃には食品残品が残っていることが少なく、また、患者が喫食した個体を特定する事が困難である等、原因究明が難しいのが現実である。

今回の検討では、顕微鏡検査法で胞子を確認することが出来なかった。原因としては、*U. seriolae* の胞子の大きさは直径約 6 μm と小さく、また形態が油滴に類似しており、判別が難しいこと⁷⁾、さらに寄生量の偏りがあり顕微鏡検査法用として採取した部位には、*U. seriolae* が存在しなかった可能性が考えられる。また、DNA 検出は出来ても、顕微鏡検査法では確認出来ない胞子形成前の未分化な細胞であった可能性も考えられる²⁾。さらに顕微鏡検査法で胞子数が定量限界値以上となる検体の DNA コピー数は 10⁷/g 以上である²⁾ が、今回の検討では DNA 量が 10⁷/g 未満であったことも原因として考えられる。

今後、顕微鏡検査法の検討を進めると共に、便検体の確保が可能であれば、便検体の検査法も検討し、有症苦情事例との関連性を明らかにしていきたい。

6 謝辞

今回、カンパチに寄生する *U. seriolae* の定性法、定量法で検査手順の指導及び陽性コントロールをご提供いただきました、国立医薬品食品衛生研究所の大西貴弘先生に厚く御礼申し上げます。

7 参考文献

- 1) 農林水産省消費安全局 畜水産安全管理課、養殖ヒラメに寄生した *Kudoa septempunctata* による食中毒の防止対策
- 2) 大西貴弘 他、カンパチの生食に伴う有症苦情事例残品中の *Unicapsula seriolae* 寄生量の定量的解析の検討 食衛誌 59(1):24-29、2018
- 3) 厚生労働省通知「*Kudoa septempunctata* の検査法について (平成 28 年 4 月 27 日 生食監発 0427 第 3 号)」
- 4) Thermo Fisher Scientific、リアルタイム PCR ハンドブック
- 5) 地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所、患者便からの *Kudoa septempunctata* 遺伝子検出法
- 6) 福岡市保健環境研究所、粘液胞子虫 *Unicapsula seriolae* の関与が疑われる集団有症事例—福岡市 IASR Vol.42 p287-288:2021 年 12 月号
- 7) 福岡市保環研報、43、2018 「生食用魚類に寄生する多殻目粘液胞子虫の検査法の検討及び汚染実態調査」

FSIS 査察に対する食肉検査部門の対応について

京都市衛生環境研究所 食肉検査部門

○小串 諒、藤田 友紀、池田 幸司

1. 緒言・目的

FSIS 査察とは米国に食肉輸出を行う国・地域における食肉生産に係る食品安全システムについて、米国のシステムとの同等性が維持されていることを検証するために、米国農務省食品安全検査局(FSIS)により2年に1回実施されるものである。今年度、対米輸出認定を取得する16施設(令和6年5月時点)の中から本市を含む9施設が査察対象として選出され、政府(国・自治体)による監督能力と、食品安全に関わる危害要因をコントロールし、不遵守の発生を防止するための施設側と政府側の相互の取組みについて検証が行われた。

食肉検査部門が管轄する京都市と畜場では、施設管理を担う産業観光局中央卸売市場第二市場と、と畜解体を行う京都食肉市場株式会社の自主衛生管理の取組に対し、食肉検査部門の獣医師が指名検査員として外部検証を実施しているが、今回、当査察を対米輸出認定取得後初めて受け入れる機会に際し、米国との同等性をより意識した検証を実施し、準備を行った。

2. 査察に当たったの事前準備

(1) FSIS 査察前において、施設関係者、と畜業者及び食肉検査部門職員による三者会議を開催し、「2020年以前のFSIS 査察における指摘事項」、「近畿厚生局の査察による指摘事項」、「指名検査員による外部検証結果」を確認した。その結果、「ゼロトレランス検証で発見される枝肉汚染への対策」、「施設の衛生状態の改善とその共有方法」、「枝肉冷蔵庫での結露の多発」が、査察前に解決すべき課題としてあげられた。

(2) 「ゼロトレランス検証での枝肉汚染への対策」では、ダーティーゾーンにおける後肢剥皮等の工程での作業終了後の汚染確認がSSOPどおりに実施されていなかったため、FSIS 査察までに適切に工程が実施されるよう指導を行った。

また、施設のHACCPプラン及びSSOPの点検を行い、CCP1の実施者とモニタリング者が同一であったことから、枝肉生産のHACCPプランは査察実施前の4月26日付けで、CCP1が枝肉生産工程(検品)から枝肉生産工程(トリミング)に変更された。変更前の約1年間(令和5年4月～令和6年4月)では、ゼロトレランス検証において13件の汚染が確認され、7件の文書指導を実施したが、変更後(令和6年5月～現在)は、ゼロトレランス検証において汚染を確認する事例は一度も発生していない(表1)。

表1 ゼロトレランス検証における汚染確認事例

令和	月	日	左右	部位	汚染物	検査者	
5年	4月	15日	左	骨盤腔	糞便	A	
		25日	右	腹部	汚染	B	
	6月	5日	左	肋部	外皮接触痕	C	
		8日	左	後肢	糞便	D	
		22日	左	胸部	内容物	E	
	7月	11日	左	骨盤腔	糞便	E	
	8月	24日	右	臀部	糞便	E	
		28日	文書指導				
	9月	8日	右	腹部	糞便	F	
		8日	文書指導				
	10月	30日	右	腹部	乳汁	G	
	11月	6日	文書指導				
		17日	左	肋部	糞便	D	
		20日	文書指導				
		25日	左	尻	糞便	C	
		27日	文書指導				
	12月	2日	左	骨盤腔	糞便	F	
5日		文書指導					
6年	4月	13日	左	臀部	糞便	H	
		文書指導					
	5月	16日	FSIS査察				
						文書指導	

(3)「施設の衛生状態の改善とその共有方法」については、過去にFSIS 査察の受け入れ実績のある他施設からも、手洗い後にペーパータオルで手を拭く、手洗い時の跳ね返りの水が枝肉に当たらないようにするなど、手洗い方法の見直しについて助言を受け、と畜解体作業員が実践した。その結果、違反報告件数も減少した(図1)。



図1 違反報告件数

また、食肉検査部門では、作業前及び作業中点検を日々実施し、その結果を日報として施設に対して報告しているが、日報の閲覧経路が施設関係者と畜業者で別であったため、指摘に対する回答の遅延や責任の所在が不明となることがあった。そのため、日報の閲覧経路を一本化するとともに、指摘に対する回答期限を設定した。その結果、指摘に対する改善活動が迅速に実施されるようになり、施設の修繕等の長期的な改善措置を要する違反の進捗確認が容易になった。

枝肉の衛生状態については、と畜場法施行規則に基づく外部検証による枝肉表面の細菌数検査により、査察実施前の約1年間是一般細菌数及び腸内細菌科菌群数について高値となる月を複数認めたが、査察実施後の検査では低値を維持している(図2)。

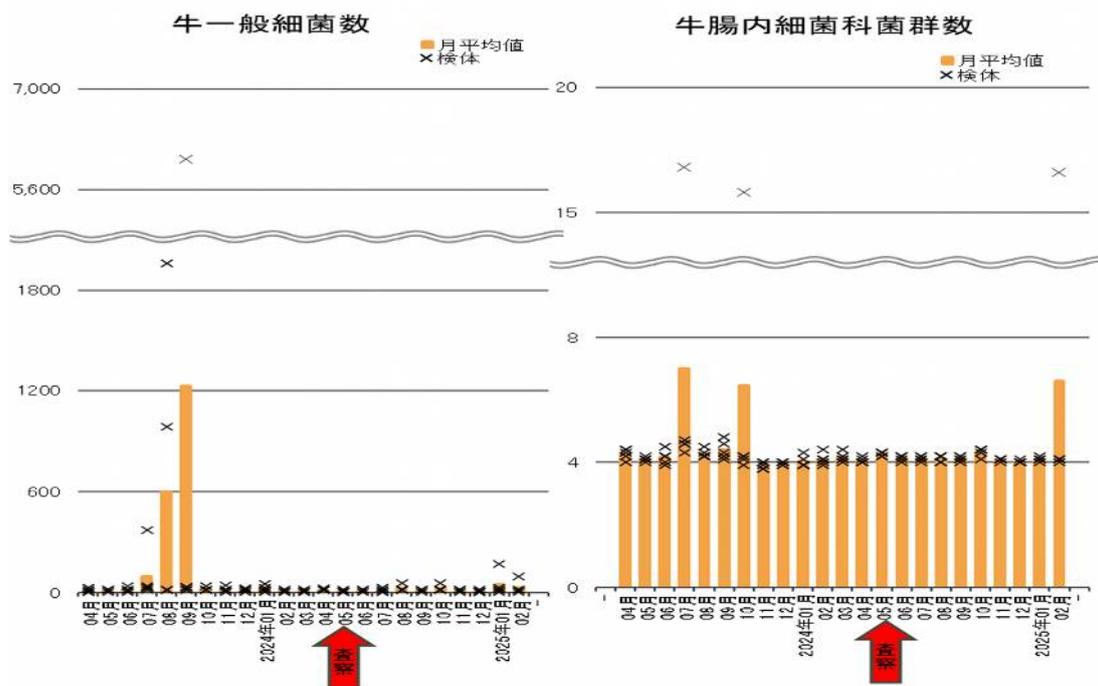


図2 枝肉表面における細菌数

(4)「枝肉冷蔵庫での結露の多発」については、過去の査察でも多数の指摘があることから、令和6年3月に結露防止用デフロスターが導入され、水滴による枝肉汚染の発生原因となるライン上の結露発生が抑えられた(図3)。



図3 急冷库における結露の発生割合

3. FSIS 査察当日の対応

FSIS 査察当日では、査察官からと畜作業中の衛生管理に係る記録内容(時刻の記載漏れ等)に対する指摘事項があったが、施設全体としては食品安全システムが適切に維持されているとの評価を受けた。指摘事項に対し、査察当日中に食肉検査部門から施設へ文書指摘を行い、出口会議までに改善措置の検証を終えた。

4. 総括

今回の FSIS 査察の受け入れに当たり、施設と検査部門の双方において査察の受け入れを念頭においた課題への対応が進められ、査察前後において施設全体における衛生の向上が認められた。

手洗い後にペーパータオルで手を拭くなどの一部の取り組みについては、査察に当たって初めて実施された後、現在も施設の作業員のなかで継続されており、SOP が改訂されと畜手順に組み入れられている。

ゼロトレランス検証における汚染発見の減少及び枝肉表面の細菌数の減少は、枝肉の汚染の除去及び衛生的な取り扱いが十分に実施されている結果であると考えられた。この結果は単に衛生意識の向上がみられただけでなく、調査期間において、作業者の大きな入れ替えが少なかったことにより個々人の手技が向上したことも原因として考えることができる。人員の入れ替えがあった際にも同様の結果を維持していくためには、今後も指導を継続していく必要がある。

今回、FSIS 査察を通じて改善された衛生意識を維持・向上していくために、今後も衛生指導ならびに十分な教育を継続していく必要がある。

なお、FSIS 査察に先立ち、毎月実施される近畿厚生局査察も FSIS 査察を前提として行われ、キーパーソンらが受け答えの練習を行ってきたが、査察当日は、FSIS 査察官から、近畿厚生局が普段行っている査察の様子を見たいとの要望があり、近畿厚生局査察官に対して質問を行う場面があった。日頃の近畿厚生局査察において問題共有を確実にしておくことの重要性を感じた。

5. 参考文献

EVALUATING THE FOOD SAFETY SYSTEM GOVERNING RAW INTACT BEEF PRODUCTS EXPORTED TO THE UNITED STATES OF AMERICA.
October 17, 2024

https://www.fsis.usda.gov/sites/default/files/media_file/documents/Japan-FY24-FAR.pdf

発行日 令和8年1月
発行 京都市衛生環境研究所
〒612-8369
京都市伏見区村上町 395 番地
☎(075)606-2676 / eikouken@city.kyoto.lg.jp
