

ISSN 2758-4593

研 究 年 報

令和 7 年度

第 9 号

ANNUAL REPORT
OF
OSAKA INSTITUTE OF PUBLIC HEALTH

No.9
(2025)



地方独立行政法人

大阪健康安全基盤研究所

OIPH

Osaka Institute of Public Health

目次

報文

大阪市内の犬、猫における <i>Pasteurella multocida</i> の保菌状況調査 梅田 薫, 松田由美恵, 高橋弥歌, 巴里俊哉.....	1
大阪府内における 2024/2025 シーズンのインフルエンザ流行状況 森川佐依子, 大塚真紀, 阿部仁一郎	8
大阪府内における蚊媒介ウイルス感染症に対するサーベイランス調査 (2024 年度) 青山幾子, 山元誠司, 馬場 孝, 池森 亮, 佐々木麻綾, 横田正春, 弓指孝博, 山崎 一夫	18
大阪市においてクドア属粘液胞子虫が関与したと疑われる有症事例と流通する海産魚に おける粘液胞子虫の検出状況 馬場 孝, 垣本 愛, 平尾真大, 小西敦子, 前原智史	29
通気蒸留装置-アルカリ滴定法を用いた食品中の亜硫酸分析法の妥当性確認 野村千枝, 柿本 葉, 藤原拓也, 徳永佑亮, 山崎朋美, 新矢将尚.....	45
LC-FL 分析によるヒスタミン検査事例の報告 —令和 5 及び 6 年度における大阪府及び府内中核市の依頼検査について— 粟津 薫, 福井直樹, 永吉晴奈, 山口瑞香, 松井啓史, 白川育子, 山口進康.....	49
強壯効果を標榜するいわゆる健康食品から医薬品成分を検出した事例 —タダラフィル及びクロロプレタダラフィルの検出— 坂本裕介, 東 雄貴, 浅田安紀子, 阪井貴之, 田中未紗, 土井崇広, 田上貴臣	57
水質検査における外部精度管理 (2023 年度) —塩化物イオン— 吉田 仁, 安達史恵, 長谷川有紀, 小泉義彦	67
水質検査における外部精度管理 (2023 年度) —ジブロモクロロメタン— 小泉義彦, 長谷川有紀, 安達史恵, 吉田 仁	74
水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の考察 (2022 年度) —大阪府建築物飲料水水質検査業 (プロモホルム) — 長谷川有紀, 小泉義彦, 吉田 仁, 安達史恵.....	82
水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の解明 (2024 年度) —大阪府建築物飲料水水質検査業外部精度管理 (プロモジクロロメタン) — 大嶋智子, 小泉義彦, 吉田仁, 安達史恵, 高取 聡	89
大阪府における環境および食品中放射能調査 (令和 6 年度報告) 小泉義彦, 小池真生子, 肥塚利江, 高取 聡.....	96

他紙掲載論文.....	105
-------------	-----

学位論文概要

マイクロ流路デバイスを用いた食中毒原因菌の迅速オンサイトモニタリング方法の構築 徳永佑亮.....	113
--	-----

ANNUAL REPORT OF OSAKA INSTITUTE OF PUBLIC HEALTH

CONTENTS

Original Articles

Distribution of <i>Pasteurella multocida</i> in dogs and cats in Osaka city Kaoru UMEDA, Yumie MATSUDA, Mika TAKAHASHI and Toshiya HARI.....	1
Epidemic situation of influenza during the 2024/2025 season in Osaka Prefecture Saeko MORIKAWA, Maki OTSUKA and Niichiro ABE	8
Mosquito-borne virus surveillance in Osaka Prefecture (Fiscal 2024 report) Ikuko AOYAMA, Seiji P YAMAMOTO, Takashi BABA, Ryo IKEMORI, Maaya SASAKI, Masaharu YOKOTA, Takahiro YUMISASHI and Kazuo YAMAZAKI	18
Two cases of food poisoning suspected to be related to <i>Kudoa</i> in Osaka City and detection of myxosporean parasites in marine fishes Takashi BABA, Ai KAKIMOTO, Masahiro HIRAO, Atsuko KONISHI and Tomofumi MAEHARA.....	29
Validation study of an analytical method for sulfite residues in foods using an aeration distillation apparatus and alkaline titration Chie NOMURA, Yo KAKIMOTO, Takuya FUJIWARA, Yusuke TOKUNAGA, Tomomi YAMASAKI and Masanao SHINYA	45
Report of the histamine test cases using LC-FL analysis -Requested inspections for Osaka Prefecture and its core cities in fiscal year 2023 and 2024- Kaoru AWAZU, Naoki FUKUI, Haruna NAGAYOSHI, Mizuka YAMAGUCHI, Hiroshi MATSUI, Ikuko SHIRAKAWA and Nobuyasu YAMAGUCHI	49
The detection of tadalafil and chloropretadalafil in dietary supplements used for sexual enhancement Yusuke SAKAMOTO, Yuki AZUMA, Akiko ASADA, Takayuki SAKAI, Misa TANAKA, Takahiro DOI and Takaomi TAGAMI	57
Results of external quality control on the analytical methods for chloride ions in tap water, performed in 2023 in Osaka Prefecture Jin YOSHIDA, Fumie ADACHI, Yuki HASEGAWA and Yoshihiko KOIZUMI	67
Results of external quality control on the analytical methods for dibromochloromethane in	

tap water, performed in 2023 in Osaka Prefecture	
Yoshihiko KOIZUMI, Yuki HASEGAWA, Fumie ADACHI and Jin YOSHIDA	74
Elucidation of factors affecting quantitative accuracy for bromoform in water quality measurements, performed in 2022 in Osaka Prefecture	
Yuki HASEGAWA, Yoshihiko KOIZUMI, Jin YOSHIDA and Fumie ADACHI	82
Elucidation of factors affecting quantitative accuracy for bromodichloromethane in water quality measurements, performed in 2024 in Osaka Prefecture	
Tomoko OOSHIMA, Yoshihiko KOIZUMI, Jin YOSHIDA, Fumie ADACHI and Satoshi TAKATORI	89
Survey of environmental and food radioactivity in Osaka Prefecture (Fiscal 2024 Report)	
Yoshihiko KOIZUMI, Maoko KOIKE, Toshie HIZUKA, and Satoshi TAKATORI	96
Articles Published in Other Journals	105
Thesis Summary	
Development of rapid on-site monitoring method of foodborne pathogens using a microfluidic device	
Yusuke Tokunaga	113

大阪市内の犬、猫における *Pasteurella multocida* の保菌状況調査梅田 薫^a, 松田由美恵^a, 高橋弥歌^b, 巴里俊哉^c

パスツレラ感染症は、主に犬、猫の口腔内に常在する *Pasteurella multocida* が咬傷、搔傷を介して人に感染し、皮膚化膿症等を引き起こす身近な動物由来感染症である。本症は新型コロナウイルスの感染拡大等に伴うペットとの接触機会増大により、近年、さらに症例数が増加している。大阪市動物管理センターに収容された犬、猫における *P. multocida* の保菌状況を調査した結果、犬 41 頭中 3 頭 (7.3%)、猫 246 頭中 170 頭 (69.1%) が保菌していた。猫は犬よりも有意に保菌率が高く、約 3 カ月齢以上の歯牙が萌出した猫であれば、どのような生活背景であっても高率に保菌していることが分かった。近年、社会問題となっている多頭飼育問題由来の犬、猫からも *P. multocida* が検出された。分離菌の莢膜型別、LPS 遺伝子型別等から、犬、猫が保菌する *P. multocida* は咬傷・搔傷などを通じて人に感染症を引き起こしうる可能性が示唆された。分離菌はペニシリン系をはじめとする抗菌薬に概ね良好な感受性を示した。本調査により、パスツレラ感染症の注意喚起やその予防、動物の適正飼養に向けた啓発活動に活用できるデータを収集することができた。

キーワード：動物由来感染症、パスツレラ感染症、*Pasteurella multocida*、動物の適正飼養

2024 年の調査によると、国内での犬の飼育頭数は約 679 万頭、猫の飼育頭数は約 915 万頭と報告されている[1]。近年、犬の飼育頭数は減少傾向、猫の飼育頭数は横ばいであるが、依然、多くの人が伴侶動物と生活をともにしていることが分かる。また、高齢者など感染抵抗力が弱い人々の増加や、伴侶動物の適正飼養に関する知識の欠如、過剰なふれあいの結果、動物由来感染症に感染する機会は多くなっている [2]。中でも、パスツレラ感染症は犬や猫から感染する最も身近な動物由来感染症である。病原細菌であるパスツレラ属菌（主に *Pasteurella multocida*）は、通性嫌気性、非運動性、無芽胞のグラム陰性桿菌であり、口腔内常在菌として主に犬および猫、あるいはその他の哺乳類が保菌する[3]。本菌の人への感染経路は、動物の咬傷・搔傷による創傷感染あるいは動物からの非外傷性感染（多くは呼吸器感染）に大別される [4]。また、咬傷・搔傷によって犬の場合は 20~40%、猫の場合は 60~70% の確率で人に感染する[3, 4, 5]。症状には、受傷部位の腫脹や疼痛、皮膚の化膿のほか、呼吸器症状や外

耳炎などがあり、受傷後数時間から 48 時間以内と比較的短時間で発症する[5]。一方、咬傷が深部に達すると化膿性骨髓炎や関節炎を生じることもあり、蜂窩織炎や敗血症などの全身重症感染症例や死亡症例も報告されている [3, 5]。

国内でのパスツレラ感染症の発生件数は、約 20 年前と比較して年々増加傾向にある[6]。さらに新型コロナウイルスの感染が拡大した 2020 年以降は顕著に増加しており、人の行動様式の変化に伴って人とペットの接触が従来よりもさらに濃厚になった影響が示唆されている[6]。本調査では、パスツレラ感染症の注意喚起やその予防に向けた啓発活動に活用するためのデータ収集を行うことを目的として、大阪市動物管理センターに収容された、様々な生活背景を持つ犬および猫における *P. multocida* の保菌状況を調査した。また、分離菌株の薬剤感受性試験や遺伝子型別を実施し、パスツレラ感染症の抗菌薬治療への影響や、動物から人への感染リスクについて考察した。

a 大阪健康安全基盤研究所微生物部細菌課

b 大阪市動物管理センター（現 大阪市食肉衛生検査所）

c 大阪市動物管理センター

実験方法

1. 調査材料

2021年5月～2025年1月に大阪市動物管理センターに収容された犬41頭、猫246頭を調査対象とした。調査材料の採取時に、各動物の性別、年齢層（歯牙および全身状態の観察から推測）、所有者の有無、栄養状態・健康状態、収容された地域などの個体情報を記録した。特記事項として、多頭飼育問題由来かどうかを記録した。*P. multocida* の分離用として、医療用捲綿子（シードスワブγ3号、栄研化学）を用いて、各動物の口腔スワブを採取した。口腔スワブは冷蔵下で保管、輸送し、大阪健康安全基盤研究所にて分離培養を行った。

2. *P. multocida* の遺伝子検出

採取した口腔スワブを Brain Heart Infusion 培地 (BD) に接種し、35°C で 24 時間好気培養した。培養液 1 mL をマイクロチューブに移し、10,000 rpm で 5 分間遠心分離後、上清を捨て沈渣を 200 μL の滅菌蒸留水に懸濁した。100°C で 10 分間加熱し、10,000 rpm で 5 分間遠心分離後、上清を新しいマイクロチューブに移し、テンプレート DNA とした。*P. multocida* に特異的な *kmt* 遺伝子を PCR 法により増幅し [7]、アガロースゲル電気泳動法で 168 bp のバンドが検出された場合を *P. multocida* 陽性と判定した。

3. *P. multocida* の分離培養

採取した口腔スワブをクロモアガー™ パスツレラ寒天培地（関東化学）に塗抹し、35°C で 24 時間好気培養した。ピンク色～藤色コロニーを新しい血液寒天培地（バイタルメディア トリ・ソイ血液寒天培地（ヒツジ） No. 2、極東）に接種し、35°C で 24 時間好気培養した。1 検体につき最大 5 個のコロニーを接種した。オキシダーゼ陽性、カタラーゼ陽性を示した株について、質量分析装置 MALDI-TOF MS（ブルカー）を用いてセルスマ法による菌種同定を行った。必要に応じて、オキシダーゼおよびカタラーゼ陽性の確認、グラム染色による菌形態の観察、*P. multocida* に特異的な *kmt* 遺伝子の PCR 法による検出 [7] を行った。*P. multocida* と同定された菌株については、マンニット、ソルビット、ズルシットの分解パターンにより、亜種 (*P. multocida* ssp. *multocida*、*P. multocida* ssp. *septica*、*P. multocida* ssp.

gallicida) を決定した。

4. 統計学的解析

P. multocida 保菌と個体情報との関連性については、フィッシャーの直接確率検定により検討し、 $P < 0.05$ を統計学的に有意と判定した。

5. 薬剤感受性試験

分離株の薬剤感受性は BD センシディスク (BD) を使用し、ディスク拡散法で測定した。アンピシリン、ペニシリン、アモキシシリン・クラブラン酸、レボフロキサシン、テトラサイクリン、エリスロマイシン、クロラムフェニコール、ST 合剤の計 8 薬剤を供試した。形成された阻止円の直径から、米国 Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M45-ed3e-2018 の基準に従って判定した。7 薬剤 (アンピシリン、ペニシリン、アモキシシリン・クラブラン酸、レボフロキサシン、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、ST 合剤) は、感受性 (S) のみ判定基準が定められており、1 薬剤 (エリスロマイシン) は感受性 (S)、中間耐性 (I)、耐性 (R) の判定基準が定められている。

6. 莢膜型および LPS 遺伝子型別

莢膜型別は、Townsend らのマルチプレックス PCR 法を用いて、5 つの莢膜型 (A、B、D、E、F；C は欠番) にそれぞれ特異的な遺伝子 (*hyaD*、*bcbD*、*dcbF*、*ecbJ*、*fcgD*) を増幅し、アガロースゲル電気泳動法で特異的なバンドが検出された場合、該当する莢膜型と決定した [8]。バンドが得られなかった場合は型別不能 (Untype) とした。同様に LPS 遺伝子型別は、Harper らのマルチプレックス PCR 法を用いて、L1～L8 の 8 型に分類し、バンドが得られなかった場合は型別不能 (Untype) とした [9]。

7. 病原因子遺伝子検出

P. multocida の病原因子遺伝子として報告されている 11 遺伝子 (線毛サブユニット : *fimA*、*ptfA*、細胞接着タンパク : *hsf-1*、*hsf-2*、細胞間接着因子 : *tadD*、繊維状赤血球凝集素 : *pfhA*、鉄獲得系遺伝子 : *hgbA*、*hgbB*、*tbpA*、受容体切断酵素 : *nanH*、毒素遺伝子 : *toxA*) について、既報の PCR 法 [10, 11] を用いて検出した。

結果

1. *P. multocida* 保菌状況

犬 41 頭、猫 246 頭のうち、犬 3 頭 (7.3%)、猫 170 頭 (69.1%) から *P. multocida* の *kmt* 遺伝子が検出された (表 1)。猫は犬と比較して、有意に保菌率が高かった ($P<0.01$)。

個体情報別の保菌状況を表 2 にまとめた。遺伝子が陽性となった犬は、オスが 2 頭、メスが 1 頭で、年齢層は若～成犬が 2 頭、老犬が 1 頭であった。所有者が判明している犬は 2 頭、多頭飼育問題由来の犬は 1 頭であった。健康状態は良好が 2 頭、不良が 1 頭であった。遺伝子が陽性となった猫は、オスが 91 頭 (66.4%)、メスが 79 頭 (72.5%) で、年齢層

は仔猫が 45 頭 (45.9%)、若～成猫が 97 頭 (84.3%)、老猫が 25 頭 (83.3%)、不明が 3 頭 (100%) であった。所有者が判明している猫は 33 頭 (78.6%)、不明な猫は 46 頭 (47.4%)、多頭飼育問題由来の猫は 91 頭 (85.0%) であった。健康状態は、良好が 91 頭 (69.5%) で、不良が 79 頭 (68.7%) であった。統計学的解析の結果、仔猫はそれ以外の年齢層の猫 (若～成猫および老猫を含む) と比較して、有意に保菌率が低かった ($P<0.01$)。また、所有者不明猫は、所有者判明猫、多頭飼育問題由来猫と比較して有意に保菌率が低かった ($P<0.01$)。なお、*kmt* 遺伝子陽性猫 170 頭中 112 頭、遺伝子陽性犬 3 頭中 2 頭から *P. multocida* を分離した (1 頭につき 1 株、計 114 株)。

表 1 動物種別の *P. multocida* 保菌状況

動物種	個体数	口腔スワブ
		<i>P. multocida</i> 遺伝子陽性数 (%)
犬	41	3 (7.3)
猫	246	170 (69.1) ^a

^a 犬との間に有意差 ($P<0.01$) が認められた

表 2 個体情報別の *P. multocida* 保菌状況

犬				猫			
個体情報	検体数	口腔スワブ		個体情報	検体数	口腔スワブ	
		<i>P. multocida</i> 遺伝子陽性数 (%)				<i>P. multocida</i> 遺伝子陽性数 (%)	
性別	オス	23	2 (8.7)	性別	オス	137	91 (66.4)
	メス	18	1 (5.6)		メス	109	79 (72.5)
年齢層 ^a	仔犬	1	0	年齢層 ^a	仔猫	98	45 (45.9) ^b
	若～成犬	26	2 (7.7)		若～成猫	115	97 (84.3) ^b
	老犬	14	1 (7.1)		老猫	30	25 (83.3) ^b
所有者	判明	26	2 (7.7)	所有者	判明	42	33 (78.6) ^c
	不明	8	0		不明	97	46 (47.4) ^c
	多頭飼育問題由来	7	1 (14.3)		多頭飼育問題由来	107	91 (85.0) ^c
健康状態	良好	21	2 (9.5)	健康状態	良好	131	91 (69.5)
	不良 (病弱、負傷)	20	1 (5.0)		不良 (衰弱、削瘦、病弱、負傷)	115	79 (68.7)

^a 仔：～約3カ月齢、若～成：約3カ月齢～10歳、老：約10歳～。歯牙および全身状態の観察から年齢層を推測

^b 仔猫と若～成猫との間および、仔猫と老猫との間に、それぞれ有意差 ($P<0.01$) が認められた

^c 所有者不明猫と所有者判明猫との間および、所有者不明猫と多頭飼育問題由来猫との間に、それぞれ有意差 ($P<0.01$) が認められた

表3 分離された *P. multocida* 114 株の亜種、莢膜型、LPS 遺伝子型および、病原因子遺伝子保有

1. 亜種、莢膜型、LPS 遺伝子型			2. 病原因子遺伝子保有			
亜種	株数	割合(%)	遺伝子		陽性株数	陽性率(%)
<i>multocida</i>	95	83.3	線毛サブユニット	<i>fimA</i>	114	100
<i>septica</i>	19	16.7		<i>ptfA</i>	114	100
莢膜型			細胞接着タンパク	<i>hsf-1</i>	11	9.6
A型	76	66.7		<i>hsf-2</i>	114	100
F型	15	13.2	細胞間接着因子	<i>tadD</i>	35	30.7
Untype	23	20.2	繊維状赤血球凝集素	<i>pfhA</i>	1	0.88
LPS 遺伝子型			鉄獲得系遺伝子	<i>hgbA</i>	79	69.3
L1	21	18.4		<i>hgbB</i>	114	100
L3	35	30.7		<i>tbpA</i>	110	96.5
L4	9	7.9	受容体切断酵素	<i>nanH</i>	107	93.9
L5	12	10.5	毒素遺伝子	<i>toxA</i>	0	0
L6	1	0.88				
L7	1	0.88				
Untype	35	30.7				

2. 分離菌株の薬剤感受性

分離された *P. multocida* 114 株は、アンピシリン、ペニシリン、レボフロキサシン、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、ST 合剤にすべて感受性であった。アモキシシリン・クラブラン酸には、99 株 (86.8%) が感受性で 15 株 (13.2%) が非感受性であった。エリスロマイシンには 2 株 (1.8%) が感受性で、112 株 (98.2%) が中間耐性あるいは耐性であった。

3. 分離菌株の亜種、莢膜型別、LPS 遺伝子型別

分離された *P. multocida* 114 株の型別結果を表 3 に示す。亜種は、*P. multocida* ssp. *multocida* が 95 株、*P. multocida* ssp. *septica* が 19 株であった。*P. multocida* ssp. *gallicida* は検出されなかった (表 3-1)。

莢膜型は、A 型が 76 株、F 型が 15 株、型別不能が 23 株であった。LPS 遺伝子型は、L1 が 21 株、L3 型が 35 株、L4 型が 9 株、L5 が 12 株、L6 が 1 株、L7 が 1 株、型別不能が 35 株であった (表 3-1)。犬由来株と猫由来株は、亜種、莢膜型、LPS 遺伝子型、薬剤感受性においてそれぞれを区別できる特徴は認められなかった (表 3-1)。

4. 分離菌株の病原因子遺伝子保有

分離された *P. multocida* 114 株における 11 種類の病原因子遺伝子について、陽性株数と陽性率を表 3-2 にまとめた。*fimA* および *ptfA*、*hsf-2*、*hgbB* はすべての菌株において陽性であった。一方、*toxA* はすべての菌株で陰性であった。*hsf-1* および *tadD*、*pfhA*、

hgbA、*tbpA*、*nanH* には陽性株と陰性株とが存在し、陽性率は 0.88%~96.5%であった。

考 察

約 3 年間の継続調査の結果、犬 41 頭中 3 頭 (7.3%)、猫 246 頭中 170 頭 (69.1%) が *P. multocida* を保菌していた。国内で過去に行われた保菌調査では、調査動物の由来や調査法の違い (遺伝子検出法あるいは培養法) はあるものの、一般的に猫は犬よりも保菌率が高く、犬の保菌率は 15%~70%、猫の保菌率は 20%~89%と報告されている [12-15]。大阪市内の犬は、既報よりも保菌率が低く、一方、猫は過去の調査結果と同程度の保菌率であった。

猫の個体情報と保菌との関連性について、仔猫とそれ以外の年齢層、所有者不明猫と所有者判明猫および所有者不明猫と多頭飼育問題由来猫との間にそれぞれ有意差が認められた。一般的に、親や同居動物から得た *P. multocida* は、歯牙が萌出することによって口腔内に定着し、保菌率が高くなる。所有者不明猫には仔猫が多く含まれたために保菌率が低くなったと考えられた。他の個体情報と保菌との間に明確な関連性は認められず、3 カ月齢以上の猫であればどのような生活背景を持つ猫でも高率に保菌していることが分かった。

近年、犬、猫などの動物の多頭飼育問題 (多頭飼育崩壊) は大きな社会問題となっている。環境省によると、多頭飼育問題とは、多数の動物を飼育しているなかで適切な飼育管理ができないことにより、

3つの影響（飼い主の生活状況の悪化、動物の状態の悪化、周辺的生活環境の悪化）が生じている状況を指し、その予防と解決のためには3つの観点（飼い主の生活支援、動物の飼育状況の改善、周辺的生活環境の改善）が必要であるが、根本的な解決は難しく再発しやすいとされている[16]。本調査では、多頭飼育問題由来の個体とそうでない個体との間に保菌率や分離菌株の遺伝子型、薬剤感受性の差異は認められなかった。しかし一般的に、多頭飼育問題由来動物は人に慣れておらず、攻撃性が高い場合が多いことから、人が咬傷・搔傷を受ける危険性が大きく[16]、パストレラ感染症をはじめとした動物由来感染症のリスクは高いと考えられる。

薬剤感受性試験の結果から、分離菌株はエリスロマイシン、アモキシシリン・クラブラン酸以外の薬剤（アンピリシン、ペニシリン、レボフロキサシン、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、ST合剤）に感受性を示した。エリスロマイシン、アモキシシリン・クラブラン酸において感受性と判定されなかった株においても、阻止円直径の差異が顕著でなかったため、抗菌薬治療への影響は小さいと考えられた。人のパストレラ感染症では重症化を防ぐため、早期に適切な薬剤を選別して初期治療を行う必要がある[12]。今回、咬傷治療の第一選択薬であるペニシリン系薬剤への明らかな耐性菌が認められなかったことは、人のパストレラ感染症の治療に良好な結果であったと考えられた。

P. multocida は3つの亜種に分類され、海外の調査では犬および猫から分離されるのは主に *P. multocida* ssp. *multocida* および *P. multocida* ssp. *septica* であると報告されている [17]。本調査においても同様の結果が得られた。莢膜とは、細胞壁の外側にある層で、細菌が分泌する多糖類やポリペプチドで構成される。抗原性を有し、白血球などの食細胞から細菌本体を守る役割を担い、免疫反応を引き起こすために病原性を持つとされる。*Pasteurella* 属菌の莢膜はその抗原性から A、B、D、E、F 型の5型に分類され、型の違いは病原性や宿主域に関わるとされている [8]。海外では、人の感染症例および猫から分離された菌株では A 型が最も多く、次いで F 型が検出されるが [10, 17, 18]、本調査においても同様の結果が得られた。

P. multocida の菌体抗原（LPS）には16種類の血清型が存在し、Harper らは LPS 外膜の遺伝子構造から、L1~L8 型の8型に分類している [9, 19]。LPS

遺伝子型による宿主域や病原性の差異が報告され、例えば鶏においては、L3 型や L6 型が宿主免疫から逃れる力が強いと言われている [9]。人の感染症例および猫分離株のデータは限定的だが、海外では L1 型、L3 型、L4 型、L7 型が検出されている [17, 18]。本調査においては L1 型、L3 型が多く、次いで L5 型、L4 型、L6 型、L7 型と多様な LPS 型が検出された。

P. multocida には多くの病原因子遺伝子が存在し、菌株の由来によって遺伝子保有パターンが異なることが報告されている [10, 17, 18]。既報において人の感染症例および犬・猫分離株で保有率が高かった遺伝子 (*ptfA*, *hgbB*, *nanH*, *hgbA*) は本調査においても高い保有率を示し、一方、保有率が低いと報告された遺伝子 (*pfhA*, *hsf-1*, *tadD*, *toxA*) は本調査においても同様に低い保有率を示した。

大阪市内の犬、猫から、人の感染症例分離株と共通する莢膜型、LPS 遺伝子型、病原因子遺伝子保有パターンを示す *P. multocida* が分離されたことより、犬、猫が保菌する *P. multocida* は、咬傷・搔傷などを通じて人に感染症を引き起こす可能性が十分にあることが示唆された。また、今回実施した遺伝子型別（莢膜型別、LPS 遺伝子型別、病原因子遺伝子保有）を組み合わせることで分離菌株を多様な遺伝子型に分類することができた。これらの方法は、パストレラ感染症の分子疫学マーカーとして今後有用になると期待される。

謝 辞

本調査において、調査計画、材料採取、情報提供、検体搬送、検査補助等に携わっていただきました、大阪市健康局生活衛生部生活衛生課 乳肉衛生・動物管理グループ、大阪市動物管理センター、大阪市動物管理センター分室、大阪健康安全基盤研究所微生物部細菌課の皆様に深謝いたします。

利 益 相 反

開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) 一般社団法人ペットフード業界. 令和6年全

- 国犬猫飼育実態調査 . 2024.
<https://petfood.or.jp/data-chart/>
- 2) 厚生労働省. 動物由来感染症ハンドブック 2025.
<https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/001475383.pdf>.
 - 3) 岸本寿男, 山田章夫編. ズーノーシスハンドブック. メディカルサイエンス社 ; 2009. 144-145.
 - 4) 環境省. 人と動物の共通感染症に関するガイドライン . 2007.
https://www.env.go.jp/nature//dobutsu/aigo/2_data/pamph/infection/guideline.pdf
 - 5) 原弘之. 人獣共通感染症としてのパストツレラ感染症. *日集中医誌* 2012; **19**: 158-160.
 - 6) 島津翔, 有波純, 太田毅, 富士盛文夫, 牧野真人, 田邊嘉也. 新潟県の地域中核病院におけるパストツレラ感染症について. *感染症学雑誌* 2023; **97**: 162-170.
 - 7) Król J, Bania J, Florek M, Pliszcak-Król A, Staroniewicz Z. Polymerase chain reaction-based identification of clinically relevant Pasteurellaceae isolated from cats and dogs in Poland. *J Vet Diagn Invest* 2011; **23**: 532-537.
 - 8) Townsend KM, Boyce JD, Chung JY, Frost AJ, Adler B. Genetic organization of *Pasteurella multocida* cap loci and development of a multiplex capsular PCR typing system. *J Clin Microbiol* 2001; **39**: 924-929.
 - 9) Harper M, John M, Turni C, Edmunds M, St Michael F, Adler B, Blackall PJ, Cox AD, Boyce JD. Development of a rapid multiplex PCR assay to genotype *Pasteurella multocida* strains by use of the lipopolysaccharide outer core biosynthesis locus. *J Clin Microbiol* 2015; **53**: 477-485.
 - 10) Ewers C, Lübke-Becker A, Bethe A, Kiebling S, Filter M, Wieler LH. Virulence genotype of *Pasteurella multocida* strains isolated from different hosts with various disease status. *Vet Microbiol* 2006; **114**: 304-317.
 - 11) Tang X, Zhao Z, Hu J, Wu B, Cai X, He Q, Chen H. Isolation, antimicrobial resistance, and virulence genes of *Pasteurella multocida* strains from swine in China. *J Clin Microbiol* 2009; **47**: 951-958.
 - 12) 荒島康友, 矢久保修嗣. Zoonosis 各論 犬・猫の咬傷感染症 *Pasteurella* 症総論. *大塚薬報* 2011; **664**: 28-31.
 - 13) 鈴木香菜, 阿部冬樹, 大畑克彦, 犬塚博之. 静岡県の犬猫におけるパストツレラ属菌の保有状況及び薬剤感受性について. 令和 3 年度狂犬病予防等及び動物愛護管理調査研究発表会.
 - 14) 名古屋市で飼育されているネコの *Pasteurella multocida* の保有状況調査. 名古屋市 人獣共通感染症調査事業実施結果 .
<https://www.city.nagoya.jp/kenkofukushi/cmsfiles/contents/0000025/25355/24zoonosis.pdf> (名古屋市 HP 内).
 - 15) 富永潔, 富田正章, 矢端順子, 吉川, 正俊. 山口県に飼養されるイヌとネコにおける口腔内パストツレラ属菌の保菌状況とその菌種の特徴ならびに薬剤感受性. *山口獣医学雑誌* 2006; **33**: 25-30.
 - 16) 環境省. 人、動物、地域に向き合う多頭飼育対策ガイドライン～社会福祉と動物愛護管理の多機関連携に向けて～ . 2021 .
https://www.env.go.jp/nature/dobutsu/aigo/2_data/pamph/r0303a/full.pdf
 - 17) Ujvári B, Weiczner R, Deim Z, Terhes G, Urbán E, Tóth AR, Magyar T. Characterization of *Pasteurella multocida* strains isolated from human infections. *Comp Immunol. Microbiol Infect Dis* 2019; **63**: 37-43.
 - 18) Smallman TR, Perlaza-Jiménez L, Wang X, Korman TM, Kotsanas D, Gibson JS, Turni C, Harper M, Boyce JD. Pathogenomic analysis and characterization of *Pasteurella multocida* strains recovered from human infections. *Microbiology Spectrum* 2024; **12**: e0380523.
 - 19) Harper M, Boyce JD, Adler B. *Pasteurella multocida* pathogenesis: 125 years after Pasteur. *FEMS Microbiol Lett* 2006; **265**: 1-10.
- WEB サイトの内容は 2025 年 6 月 1 日に確認した。

Distribution of *Pasteurella multocida* in dogs and cats in Osaka city

Kaoru UMEDA^a, Yumie MATSUDA^a, Mika TAKAHASHI^b and Toshiya HARI^c

Pasteurellosis is a zoonotic disease, and the number of cases has increased in recent years owing to close contact with pets. We examined the distribution of *Pasteurella multocida* in dogs and cats in Osaka. *P. multocida* was detected in 3 of 41 dogs (7.3 %) and 170 of 246 cats (69.1 %). Cats carried *P. multocida* significantly more frequently than dogs, and cats with erupting teeth aged three months or older had a high carriage rate. Capsular typing and lipopolysaccharide genotyping of *P. multocida* isolates suggested that *P. multocida* carried by the oral cavity of dogs and cats can cause infections in humans through bites and scratches. These isolates showed good susceptibility to penicillin and other antimicrobials. The data from this survey will be useful in future education aimed at the prevention of zoonoses, including pasteurellosis, and proper care of animals.

Key words : zoonosis, pasteurellosis, *Pasteurella multocida*, proper care of animals

a Osaka Institute of Public Health, Microbiology section

b Osaka Municipal Animal Care and Control Center (Current affiliation: Osaka City Meat Hygiene Inspection Office)

c Osaka Municipal Animal Care and Control Center

大阪府内における 2024/2025 シーズンのインフルエンザ流行状況

森川佐依子, 大塚真紀, 阿部仁一郎

大阪健康安全基盤研究所ウイルス課では、年間を通じインフルエンザウイルスの検出、分離・型別を行い、国立感染症研究所へより詳細な解析用に一部の分離株を提供している。さらに、インフルエンザ以外のウイルス性呼吸器疾患の紛れ込みの検出、分離されたインフルエンザウイルス HA 遺伝子の系統樹解析によるワクチン株と流行株の差異について解析している。

大阪府内における 2024/2025 シーズンのインフルエンザの流行は、2024 年第 46 週に定点あたりの患者数が 1.97 となり、インフルエンザ流行期入りの目安となる「定点あたりの患者数」が 1 を超えた後、第 48 週より患者数が急激に増加し、第 51 週に定点あたり患者数は 45.75 となり、警報レベル開始基準値である 30 を超えた。翌第 52 週にピークの 66.27 となった後、年末年始休暇と重なったこともあり、患者数は速やかに減少したが、定点あたりの患者数が 1 を下回ったのは 2025 年第 15 週であった。過去 10 年間の流行と比較すると、本シーズンのようにピーク時の患者数が 50 を超えたシーズンはなかったが、各シーズン第 36 週から翌年第 15 週までの患者数合計は 5 番目であった。今シーズンは AH1pdm09 亜型が主流型となったシーズンであり、2025 年第 4 週以降は AH3 亜型と B 型 Victoria 系統の検出が増加したが大きな流行とはならなかった。

インフルエンザウイルス分離株の HA 遺伝子の系統樹解析の結果、いずれの亜型、系統も全国と同様に複数のクレードに分かれた。また、分離株の一部について抗インフルエンザ薬に対する耐性変異の有無を調査したが、いずれの薬剤においても耐性株は検出されなかった。

インフルエンザ指定提出機関にてインフルエンザと診断された患者から採取された検体であったが、当課での検査の結果、季節性インフルエンザウイルスが検出されなかったものが 13 検体 (5.6%) あった。その内の 2 検体はリアルタイム PCR 法にてエンテロウイルス/ライノウイルス共通領域が陽性となり、いずれもライノウイルスが検出された。また他の 1 検体からはヒトメタニューモウイルスが検出された。

キーワード：インフルエンザウイルス、病原体サーベイランス、呼吸器ウイルス

インフルエンザはインフルエンザウイルスの感染によって引き起こされる急性熱性の呼吸器感染症である。我が国においては沖縄県を除き毎年冬期に流行するため、流行時期に合わせ毎年第 36 週 (8 月末から 9 月始め) から翌年の第 35 週 (8 月末) までの 1 年間で「インフルエンザシーズン」と定義されている。

インフルエンザに罹患すると多くは 1 週間程度で軽快回復するが、高齢者においては肺炎、循環器疾患をはじめとする慢性基礎疾患の悪化による死者数の増加 (超過死亡) の一因となっており、さらに小児では脳症、肺炎など重症化の主要因となる

大阪健康安全基盤研究所微生物部ウイルス課

など、その対策は我が国の医療施策において重要な課題である¹⁾。インフルエンザワクチンは感染や発症そのものを完全には防御できないが、重症化や合併症の発生を予防する効果が証明されている²⁾。インフルエンザ株サーベイランスは、世界保健機関 (World Health Organization: WHO) の世界インフルエンザ監視・対応システム (Global Influenza Surveillance and Response System: GISRS) によって地球規模で実施されており、このサーベイランスの結果をもとに流行予測とワクチン株選定が行われている³⁾。大阪健康安全基盤研究所ウイルス課では、国および大阪府の感染症発生動向調査事業の

一環として、大阪府内のインフルエンザの流行状況を把握することを目的に、年間を通じインフルエンザウイルスの検出、分離・型別を行っている。さらに国立感染症研究所と共同で実施している「感染症発生動向調査に基づくインフルエンザサーベイランス」の一環として、我が国のインフルエンザウイルスの詳細な流行状況を把握することを目的とし、分離株の一部について提供を行い、それらは遺伝子解析、抗原性解析、薬剤耐性変異株の検索に用いられている。ここでは、2024/2025 シーズンのうち2024年第36週から2025年第13週の大阪府のインフルエンザの流行状況および、国立感染症研究所から還元されたデータを含めた分離株の遺伝子系統樹解析を実施した。さらに、インフルエンザウイルスの検出が陰性であった検体については、原因の探索として他の呼吸器ウイルスの検出を行ったので併せて報告する。

研究 方 法

1. インフルエンザ定点サーベイランス

大阪府内の流行状況の把握には、大阪府感染症発生動向調査事業に基づき、大阪府感染症情報センターから発出される患者情報、定点あたり患者数を用いた。警報レベル、流行期入りの目安についても同センターの基準値に従った⁴⁾。

2. インフルエンザ病原体サーベイランス

大阪府感染症発生動向調査事業に基づき、インフルエンザ指定提出機関にて採取された上気道由来検体を対象とした。2024/2025 シーズンのうち、2024年第36週（9月4日～9月10日）から2025年第13週（3月24日～3月30日）までに採取され、大阪健康安全基盤研究所ウイルス課に搬入された232検体についてインフルエンザウイルスの分離培養および遺伝子検出を行った。

3. インフルエンザウイルスの遺伝子検出

搬入された上気道由来検体の200 μ Lを核酸抽出に供した。核酸抽出はMagDEA Viral DNA/RNA200 (GC) キット (Precision System Science) を用い、全自動核酸抽出機 (Precision System Science) にて行った。抽出した核酸はインフルエンザ診断マニュアル⁵⁾ に従いリアルタイム RT-PCR (reverse transcription-

polymerase chain reaction) 法によるインフルエンザウイルス遺伝子の検出を行った。

4. インフルエンザウイルスの分離培養と分離株の薬剤耐性変異の検出

24 ウェルプレートに単層培養した MDCK AX-4 細胞を用い、各検体につき300 μ Lを2ウェルずつ接種し34 $^{\circ}$ Cにて吸着を行った。30分後、分離用培地である4.5 μ g/mL アセチルトリプシン (SIGMA) 添加 DMEM (SIGMA) 培地に交換し、34 $^{\circ}$ C、5%CO₂存在下で1週間細胞変性効果 cytopathic effect (CPE) を観察した。MDCK AX-4 細胞は東京大学医学研究所 河岡教授より分与されたものを使用した⁶⁾。

CPE が観察された場合、培養上清を回収し、型別に供した。CPE が観察されない場合は盲継代を行い、2代目で CPE が観察されない場合は分離陰性とした。

CPE が陽性であった培養上清は、6 μ L を蒸留水にて50倍に希釈し、その5 μ L を検体として直接リアルタイム RT-PCR 法によるウイルス遺伝子の検出を行うことで型、HA 亜型または B 型の場合は系統を決定した⁵⁾。

研究期間中に分離された株の一部については、国立感染症研究所マニュアルの薬剤耐性変異株検出法⁵⁾に従い、培養上清の50倍希釈液を検体として用い、AH1pdm09 亜型については One-step RT-PCR 法による NA 阻害剤耐性変異株の検出を実施した。さらに AH1pdm09 亜型を含めた各型を対象に培養上清の50倍希釈液から全自動核酸抽出機にて核酸を抽出後、ポリメラーゼ A (PA) 遺伝子の部分塩基配列を決定し、キャップ依存性エンドヌクレアーゼ阻害剤であるバロキサビルマルボキシル (商品名ゾフルーザ) の耐性遺伝子変異を検索した。

5. インフルエンザウイルス分離株の HA 遺伝子系統樹解析

一部の分離株については、HA 遺伝子の全長の塩基配列を決定し⁵⁾、インフルエンザウイルス遺伝子データベース GISAID (Global Initiative on Sharing All Influenza Data)⁷⁾から入手した過去数シーズン、および次シーズンのワクチン株とともに最尤法による系統樹解析を行った。解析に供した株は流行期において検体採取日が偏らないよう分離株を選択した。系統樹上のクレード、サブクレードの区別については全国データを参考とした。

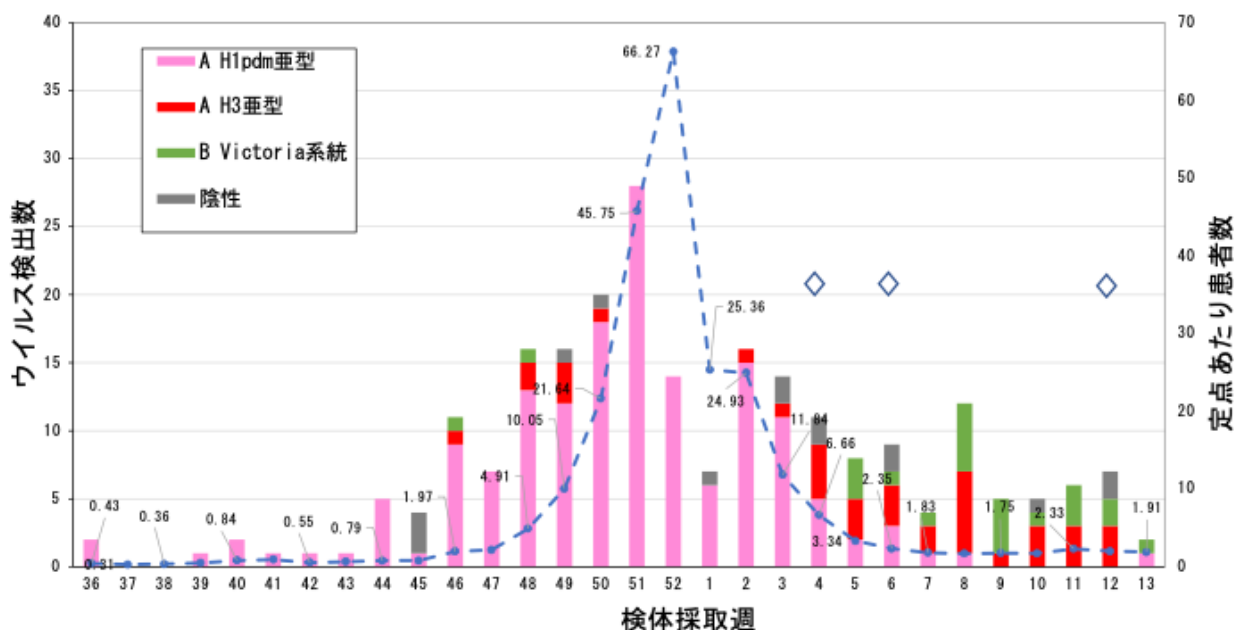


図1. 2024年第35週～2025年第13週のインフルエンザウイルス検出状況と定点あたり患者数の推移
各週の棒グラフ上の◇は、当該週にインフルエンザウイルス（Flu）陰性であった検体1検体につき、インフルエンザウイルス以外の呼吸器ウイルスが検出されたことを示す。検出ウイルス種については表2に掲載。

国立感染症研究所インフルエンザウイルス研究センターは、GISRSの一環として、病原体検出情報システムに登録された全国の分離株情報をもとに、無作為に抽出した株の分与を各地方衛生研究所に依頼し、分与株の詳細な抗原性解析や遺伝子解析を行っている。これらのデータはWHOおよび国内のインフルエンザ流行予測、ワクチン株選定の資料となる他、地方衛生研究所へと還元されている。本報告では当課からの分与株に対し国立感染症研究所から還元された塩基配列データ、AH1pdm09 亜型 5 株、AH3 亜型 3 株、B 型 Victoria 系統 3 株分 (A/OSAKA/00/00000と大阪のアルファベット表記が全て大文字として区別) を系統樹解析に供した (2025 年 5 月 2 日までの還元データ、非公開)。

6. インフルエンザウイルス陰性検体からのその他の呼吸器ウイルスの検出

インフルエンザウイルスの検出が陰性であった検体については、リアルタイム PCR 法による呼吸器ウイルスの検出を行った⁸⁾。エンテロウイルス (EV) およびライノウイルス (RV) は共通領域を検出するため、陽性となった場合は、VP4-2 領域に対する semi-nested RT-PCR 法を行い、増幅産物のダイレクトシーケンスにて遺伝子配列を決定し、BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) にて型別を行った⁹⁾。

本報告の一部は、地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所倫理審査委員会の承認を得て (承認番号 1402-02-5)、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を順守して実施したものである。

結果

1. インフルエンザ定点サーベイランス、病原体サーベイランスに基づく大阪府内のインフルエンザ流行状況とインフルエンザウイルス検出結果

2024/2025 シーズンにおいては、シーズン当初の 2024 年第 36 週にインフルエンザ患者の検体搬入が増加し、A 型 H1pdm09 亜型が複数検出された。その後第 39 週からは少数ながらも H1pdm09 亜型が検出されていた。第 46 週に定点あたりの患者数が 1.97 となり、インフルエンザ流行期入りの目安となる「定点あたりの患者数」が 1 を超えた後は、第 48 週より患者数が急激に増加し、第 51 週に定点あたり患者数は 45.75 となり、警報レベル開始基準値である 30 を超えた。翌第 52 週にピークの 66.27 となった後、年末年始休暇と重なったこともあり、患者数は速やかに減少したが、定点あたりの患者数が 1 を下回ったのは 2025 年第 15 週であった。過去 10 年間の流行と比較し、本シーズンを除きピーク時の患者数が 50 を超えたシーズンはなく、ピーク時の

表1 インフルエンザウイルスHAタンパクにおける サブクレードごとの共通アミノ酸変異

AH1pdm01亜型			
クレード名	サブクレード名	共通するアミノ酸変異	
C.1	C.1.1	P137S, K142R, E224A, D260E, T277A, E356D, I418V, N451H	
	D(C.1.1.1)	D.1	T216A
		D.2	R45K
		D.3	R113K
		D.3	T120A, I372V
	C.1.9	T120A, K169Q	
	C.1.9.3	S83P, I510T	
AH3亜型			
クレード名	サブクレード名	共通するアミノ酸変異	
G	G.1	J(G.1.3.1.1)	I140K, I223V
		J.1	I25V, V347M
	J.2	N122D, K276E	
	J.2.1	F79L, P239S	
	J.2.2	S124N	
B型 Victoria系統			
クレード名	サブクレード名	共通するアミノ酸変異	
A.3	C		△162-164, K136E
			A127T, P144L, K203R
	C.5	D197E	
	C.5.1	E183K	
	C.5.6	D129N	
	C.5.7	E183K, E128G	

患者数は最多であったが、各シーズンの第36週から翌年の第15週までの患者数合計の比較では5番目であった⁴⁾(図1)。

2024年第36週～2025年第13週までに採取され、当所に搬入された232検体に対してインフルエンザウイルスの検出を実施した。シーズン当初より少数ではあるが断続的に検体搬入が続いていた。期間中に検出されたインフルエンザウイルスの亜型・系統は、160検体がAH1pdm09亜型、37検体がAH3亜型、23検体がB型Victoria系統であったことから、今シーズンはAH1pdm09亜型が主流行となったシーズンだったことが明らかとなった。2025年第4週以降はAH3亜型とB型Victoria系統の検出が増加したが大きな流行とはならなかった。このうち1検体のみであるが、医療機関での迅速検査ではA型陽性との情報記載のあった検体からAH3亜型とB型Victoria系統の両方が検出された。研究期間中にB型Yamagata系統は検出されなかった(図1)。

2. インフルエンザウイルスの分離培養結果と薬剤耐性変異検出

全ての検体をMDCK AX-4細胞に接種し、AH1pdm09亜型62株、AH3亜型31株、B Victoria系統9株が得られた。全検体数に対する分離率は44.0%であったが、亜型別に見ると、AH1pdm09亜

型38.9%、AH3亜型83.8%、B Victoria系統39.1%とAH1pdm09亜型とB Victoria系統で分離率は40%を下回った。

分離株のうち、AH1pdm09亜型51株についてNA阻害剤耐性変異の検出を実施した。また、AH1pdm09亜型51株、AH3亜型30株B型Victoria系統9株についてキャップ依存性エンドヌクレアーゼ阻害剤に対する耐性遺伝子変異の検出を実施した。いずれについても検出に用いた全ての分離株において各薬剤に対する耐性変異は見られなかった。

3. インフルエンザウイルス分離株のHA遺伝子系統樹解析

国内における分離株の遺伝子系統樹解析の結果については、国立感染症研究所公表のNextclade定義の命名法によるクレードの記載法に従った^{10,11)}。各亜型、系統におけるクレード表記と各クレードに共通するアミノ酸変異については表1にまとめた。国立感染症研究所からの還元データを除いたAH1pdm09亜型47株、AH3亜型20株、B Victoria系統9株についてHA遺伝子のほぼ全長の塩基配列を決定した。

AH1pdm09亜型については、2024/2025シーズンの分離株は、ほとんどがサブクレードC.1.9の中に形成されたクラスターである、アミノ酸変異S83PとI510Tを共通に有するC.1.9.3に属する結果となった(図2)。その他としては2株がD.3に属し、1株がC.1.9に属した。

AH3亜型について、2024/2025シーズン後半に流行した分離株は、全てがサブクレードJ.2に属し、さらに共通のアミノ酸変異T65KとS124Nを有するJ.2.2に細分化された。J.2.2に属する株の中でもさらにI160Kの変異があるクラスター、I214T、V347M、I529S変異を持つクラスター、S145N変異を有するクラスターに分かれた(図3)。

B型Victoria系統については昨シーズン、今シーズンと2シーズン続けて検出が見られたため、系統樹解析を実施した。Victoria系統については、昨シーズ

表2 インフルエンザウイルス陰性検体からの呼吸器ウイルス検出状況と迅速診断キット情報

検体採取週	検出ウイルス（医療機関報告による迅速診断キットの結果）
2025年 第4週	ヒトメタニューモウイルス（「インフルエンザ陽性」の記載のみ）
第6週	C群ライノウイルス12型（B型インフルエンザ陽性）
第12週	B群ライノウイルス6型（A型インフルエンザ陽性）

ンから大きな変化はなく、サブクレード C.5 に全ての株が属した。最多となったサブクレード C5.1のうちでも、E128Kを持つ一部のクラスターに5株、128番目のアミノ酸変異を持たないクラスターに2株が分岐しており、同位置のアミノ酸変異 E128Gを持つ別のサブクラスター、C.5.7 に1株、E128D、D129Nを持つC.5.6 に1株が属する結果となった。

4. インフルエンザウイルス以外の呼吸器ウイルスの検出

2024/2025 シーズン流行期において、臨床症状からインフルエンザと診断されたが、その患者から採取された上気道由来検体からインフルエンザウイルスが検出されなかった検体は13検体（5.6%）であった。依頼書に記載のあった医療機関での迅速診断キットでの診断結果は、A型インフルエンザ陽性6検体、B型インフルエンザ陽性が4検体、マルチプレックスPCR法（ロシュダイアグノスティックス社 コバス）にて同じくB型インフルエンザ陽性が1検体、キット実施・抗インフルエンザ薬処方に記載からA型、B型いずれかのインフルエンザが陽性と考えられたキット陽性例1検体、キット実施状況不明が1検体であった。

この13検体のうちで、リアルタイムPCR法にて他の呼吸器ウイルスが検出されたのは3検体で、キット実施状況の記載はA型インフルエンザ陽性1検体、B型インフルエンザ陽性1検体、キット陽性例1検体であった（表2）。2検体は型別を実施した結果、2検体ともライノウイルスが検出され、それぞれC群ライノウイルス12型、B群ライノウイルス6型であった。キット陽性例1検体からはヒトメタニューモウイルスが検出された（表2）。

考 察

大阪府内における2024/2025シーズンのインフルエンザの流行は、前シーズンのように流行期が長期間に及ぶことはなかった¹²⁾が、ピーク時の定点あたり患者数は60を超え、過去10シーズンと比較して

も急激な患者数の増加が見られたシーズンとなった。AH1pdm09 亜型がピークを形成し、患者数の減少した2025年の第4週以降、AH3 亜型とB型 Victoria 系統が散見された。前シーズンはAH1pdm09 亜型、AH3 亜型、B型 Victoria 系統が同程度検出されたが、その前の2022/2023シーズンはAH3 亜型の単独流行であり、AH1pdm09 亜型に対する感受性者は多く存在し

たと考えられ、感染者数の増加につながったと考えられた¹³⁾。

当該にインフルエンザ指定提出機関から搬入される検体は、迅速診断キットでインフルエンザ陽性であった患者由来のものが多く、迅速診断結果が表記されていない検体も含めた2024/2025シーズンの232検体に対するインフルエンザウイルスの検出率は93.6%と高値であった。しかしながら、搬入検体のウイルス分離率は44.0%と半数以下であった。新型コロナウイルス感染症の流行以降、2022/2023シーズンの分離率も53.1%と低値であり、理由として、近年、医療機関にて測定機器による抗原定量法やマルチプレックスPCR法の導入による診断例が増加し、界面活性剤を含む前処理用の残液検体が散見されるようになったことが考察された¹³⁾。今回、亜型による分離率に大きく違いがあることより、前処理残液の搬入に加え、細胞表面のレセプターに対するウイルスの感受性の差も考えられた。また、亜型ごとのウイルス排出量の差についてはA型の両亜型では差がなく、B型 Yamagata 系統はA型に比較して排出量は低いという報告がある¹⁴⁾。うがい液からの分離率が低い原因として、希釈によるウイルス濃度の低下に加えて、近年の流行ウイルスでは亜型ごとの感染者のウイルス排出量の差等が存在し、分離率に影響している可能性も今後は検討しなければならない。

国内における遺伝子系統樹解析の結果については、国立感染症研究所から還元されている（非公表還元データ）。それによると、AH1pdm09 亜型ウイルスの分離株については、2024年10月から2025年1月までの解析結果が還元されており、大部分がクレード

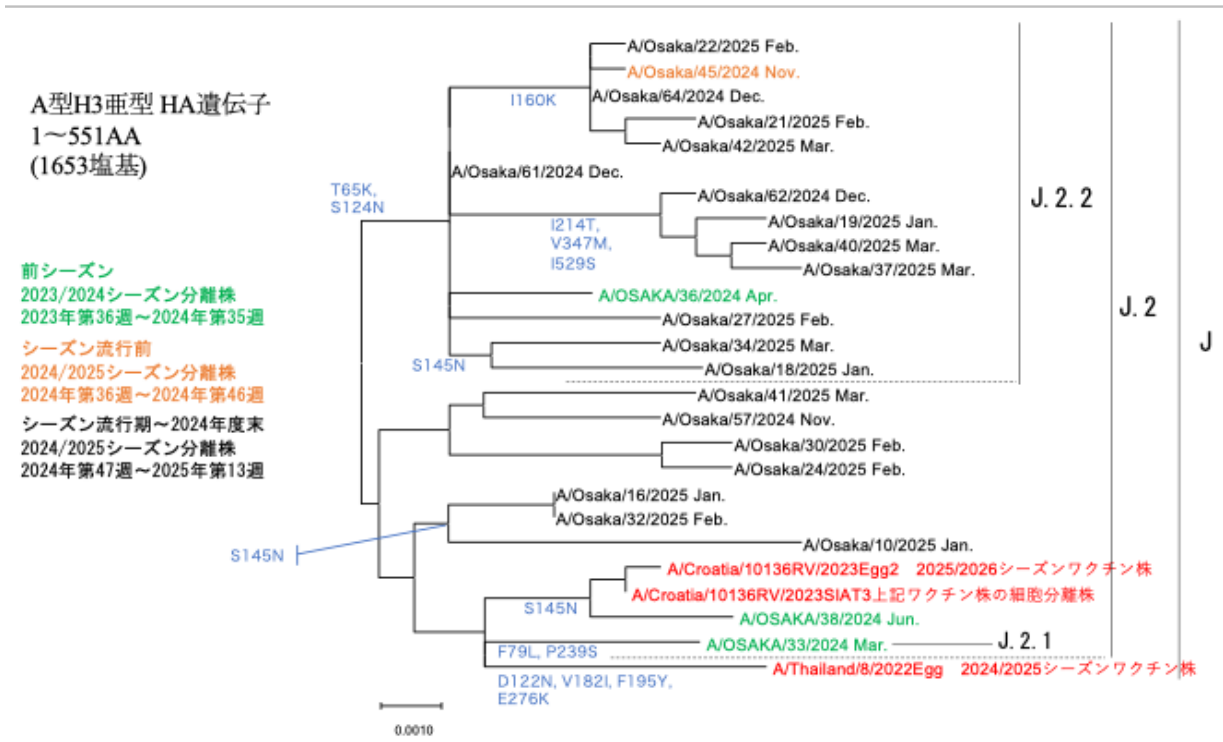


図3 2024/2025シーズンAH3亜型 大阪府分離株のHA全長の遺伝子系統樹解析
各表記、表示は図2と同様

グルタミン (E) については、複数のサブクレードで共通の変異を持つクラスターが確認されている。サブクレード C.5.7 では E からグリシン (G) へ、サブクレード C.5.1 に属する一部の株でも E よりリジン (K) への変異を有するクラスター、C.5.6 でもアスパラギン酸 (D) への変異を持つクラスターが確認されており、大阪府での分離株も同変異を持つ株が検出されている (図4)。現在、B 型 Victoria 系統のウイルスでは、HA タンパクの同位置に何らかの選択圧がかかっている可能性が高く、今後 128 番目のアミノ酸 E からの変異を持つ株が主流株となることが予想された。

WHO のワクチン推奨株選定会議における北半球での 2024/2025 シーズンの流行株の解析の結果では、次シーズン 2025/2026 のワクチン推奨株は、AH3 亜型が変更となり、クレード J.2 に属する A/Croatia/10136RV/2023 となった³⁾。一方、AH1pdm09 亜型および B 型 Victoria 系統については北半球での流行株解析も抗原性に大きな変異はなく、2023/2024 シーズンの推奨株である A/Victoria/4897/2022、B/Austria/1359417/2021 から 3 シーズン連続で変更がなかった^{3,10)}。

2024/2025 シーズンの流行は AH1pdm09 亜型が主流であり、ピーク時は 2024 年末に過去 10 年で最多

となる 66.27 の定点あたり患者報告数であった。後半に AH3 亜型、B 型 Victoria 系統の検出が見られたが規模としては小さいものであった。特に大きな流行とならなかった AH3 亜型、B 型 Victoria 系統については感染機会のなかった感受性個体は多く存在すると考えられ、次シーズンも流行前のワクチン接種が重要と考えられた。

分離されたインフルエンザウイルスの一部について、抗インフルエンザ薬に対する耐性遺伝子変異の検出を行った。大阪府内における第 13 週までのインフルエンザウイルス分離株では耐性遺伝子変異は検出されなかったが、5 月 9 日に更新された全国データを見ると、バロキサビルマルボキシルの耐性遺伝子変異は AH1pdm09 亜型の 669 株のうち愛知県と岡山県からの 1 株ずつ (0.3%)、AH3 亜型 125 株のうち国立感染症研究所からの 2 株 (1.6%) で検出されており、いずれも薬剤投与例からの検出であったと報告されている¹⁵⁾。NA 遺伝子のノイラミニダーゼ阻害薬の耐性変異については AH1pdm09 亜型の 1684 株のうち、青森県、山形県、茨城県、さいたま市、横浜市の衛生研究所から報告された合計 11 株 (0.7%) でオセルタミビルとペラミビルに対して耐性変異株と判定された。そのうちの 6 株がいずれも薬剤未投与例より検出されている¹⁵⁾。抗インフルエンザウイ

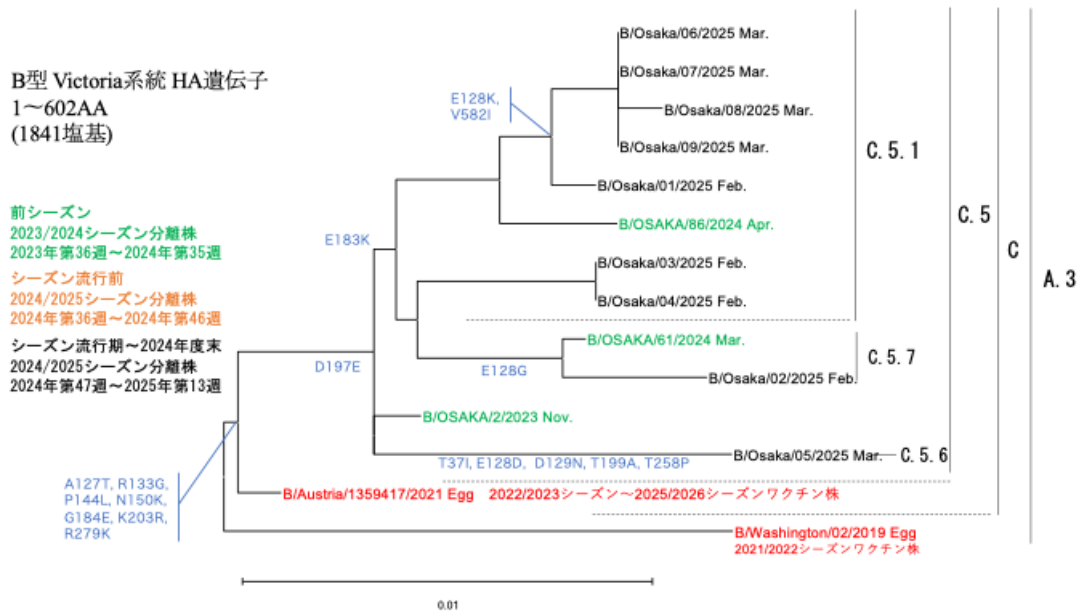


図4 2024/2025シーズンB型Victoria系統 大阪府分離株のHA全長の遺伝子系統樹解析
各表記、表示は図2と同様

ルス薬の使用状況に影響されるが、昨年度もこれらの薬剤に対して耐性遺伝子変異が見つかったものの、耐性株が優位を占める状況とはならなかった。これはウイルスが薬剤の作用部位に変異を獲得することで野生株に比較して増殖力が低下するため¹⁶⁾と考えられるが、バロキサビルマルボキシルについては耐性株の増殖能が野生株と変わらないとのデータもあるため¹⁷⁾、今後耐性変異を有しながら、増殖能も高い変異を獲得する株が出現するのか、引き続きのモニタリングが必要である。

2024/2025のインフルエンザシーズンにおいて、インフルエンザと診断されたがインフルエンザウイルスの分離、遺伝子検出のいずれもが陰性であった検体に付されたインフルエンザの迅速診断キットの結果は、未記載の1例を除き全てキット陽性であり、当課での検出結果との不一致が見られた。一般的にインフルエンザが流行していない時期の迅速診断キットの陽性的中率は低いことが知られている¹⁸⁾。

2025年度以降はCOVID-19を含む急性呼吸器感染症（ARI）サーベイランス体制が整備され、診断名がインフルエンザである臨床検体の搬入は2025年第14週までで終了となった。第15週からは診断名ARIとして搬入された検体に対し当課SOPに基づき多項目検査を実施し、AまたはB型インフルエンザが陽性となった検体について、亜型、系統の判別を実施することとなった。サーベイランス体制の変更により、インフルエンザの流行期における他の呼吸器ウイル

スの検出状況が明らかとなり、本研究で実施してきた検出ウイルスとの関連が注目される。

謝 辞

本研究の一部は、厚生労働行政推進調査事業費補助金「ワクチンの有効性・安全性の疫学的評価と予防接種政策の最適化に資する研究」の一環として行われた。

本研究において、検体採取、情報提供、諸連絡等に携わって頂きました、全ての皆様に深謝致します。

利 益 相 反

開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) 国立健康危機管理研究機構. 感染症情報提供サイト. 「インフルエンザ」.
<https://id-info.jihs.go.jp/diseases/a/influenza/010/index.html>
- 2) 福島若葉. 6歳未満児におけるインフルエンザワクチンの有効性:2013/14 および 2014/15 シーズン (厚生労働省班研究報告として). *IASR* 2016; **37**: 230-231.

- 3) WHO. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2024-2025 northern hemisphere influenza season.
<https://www.who.int/publications/m/item/recommended-composition-of-influenza-virus-vaccines-for-use-in-the-2024-2025-northern-hemisphere-influenza-season>
 - 4) 大阪府感染症情報センター. インフルエンザ関連情報.
<http://www.iph.pref.osaka.jp/infection/influ/shingata.html>
 - 5) 国立感染症研究所. リアルタイム RT-PCR(TaqMan Probe 法)による同定. インフルエンザ診断マニュアル (第5版) 令和5年. 25-30.
 - 6) Hatakeyama S, Sakai-Tagawa Y, Kiso M, Goto H, Kawakami C, Mitamura K, Sugaya N, Suzuki Y, Kawaoka Y. Enhanced expression of an α 2,6-linked sialic acid on MDCK cells improves isolation of human influenza viruses and evaluation of their sensitivity to a neuraminidase inhibitor. *J Clin Microbiol* 2005; **43**: 4139-4146.
 - 7) GISAID (The Global Initiative on Sharing All Influenza Data). Epi Flu™
<http://platform.gisaid.org/epi3/frontend/#79b98>
 - 8) Morikawa S, Hiroi S, Kase T. Detection of respiratory viruses in gargle specimens of healthy children. *J Clin Virol* 2015; **64**: 59-63.
 - 9) Ishiko H, Shimada Y, Yonaha M, Hashimoto O, Hayashi A, Sakae K, Takeda N. Molecular diagnosis of human enteroviruses by phylogeny-based classification by use of the VP4 sequence. *J Infect Dis* 2002; **185**: 744-754.
 - 10) 国立健康危機管理研究機構. 感染症情報提供サイト. インフルエンザウイルス流行株 抗原性解析と遺伝子系統樹 (2024年12月24日).
https://id-info.jihs.go.jp/surveillance/idss/inful/antigen-phylogeny/2024_1/index.html
 - 11) Nextstrain <https://clades.nextstrain.org>
 - 12) 森川佐依子, 大塚真紀, 阿部仁一郎. 大阪府内における 2023/2024 シーズンのインフルエンザ流行状況. 大阪健康安全基盤研究所 研究年報 2024; **8**: 26-35.
 - 13) 森川佐依子, 廣井聡, 阿部仁一郎, 森治代. 大阪府内における 2022/2023 シーズンのインフルエンザ流行状況. 大阪健康安全基盤研究所 研究年報 2023; **7**: 25-33.
 - 14) Mukai E, Fukushima W, Morikawa S, Nakata K, Hiroi S, Fujioka M, Matsushita T, Kubota M, Yagi Y, Takechi T, Takasaki Y, Shindo S, Yamashita Y, Yokoyama T, Kiyomatsu Y, Matsumoto K, Maeda A, Kondo K, Ito K, Kase T, Ohfiji S, Hirota Y. No association between inactivated influenza vaccination and influenza viral load at diagnosis among young Japanese children: An observational study of the 2013/2014 through 2017/2018 influenza seasons. *Influenza Other Respir Viruses* 2023; **17**(10): e13213
 - 15) 国立健康危機管理研究機構. 感染症情報提供サイト. 抗インフルエンザ薬耐性株サーベイランス 2025年5月9日 <https://id-info.jihs.go.jp/surveillance/idss/inful/report/index.html>
 - 16) Duan S, Boltz DA, Seiler P, Li J, Bragstad K, Nielsen LP, Webby RJ, Webster RG, Govorkova EA. Oseltamivir-Resistant Pandemic H1N1/2009 Influenza Virus Possesses Lower Transmissibility and Fitness in Ferrets. *PLoS Pathog* 2010; **6**(7): e1001022.
 - 17) Imai M, Yamashita M, Sasaki-Tagawa Y, Iwatsuki-Horimoto K, Kiso M, Murakami J, Yasuhara A, Takada K, Ito M, Nakajima N, Takahashi K, Lopes TJS, Dutta J, Khan Z, Kriti D, Bakel H, Tokita A, Hagiwara H, Izumida N, Kuroki H, Nishio T, Wada N, Koga M, Adachi E, Jubishi D, Hasegawa H, Kawaoka Y. Influenza A variants with reduced susceptibility to baloxavir isolated from Japanese patients are fit and transmit through respiratory droplets. *Nat Microbiol* 2020; **5**(1): 27-33
 - 18) CDC (Centers for Disease Prevention and Control). Information for healthcare providers on interpretation of influenza testing results when virus are not during influenza season.
<https://www.cdc.gov/flu/hcp/testing-methods/algorithm-results-not-circulating.html>
- WEB サイトの内容は 2025 年 5 月 30 日に確認した。

Epidemic situation of influenza during the 2024/2025 season in Osaka Prefecture

Saeko MORIKAWA, Maki OTSUKA and Niichiro ABE

Influenza virus isolation and viral genome detection from clinical specimens was performed throughout every year to understand the epidemic situation of influenza in Osaka Prefecture. Furthermore, influenza viruses were isolated and the antigenic and genetic properties of the circulating strains were analyzed every winter influenza season.

During the 2024/2025 influenza season in Osaka prefecture, the number of cases per sentinel weekly reached 1.97 in the 46th week of 2024, exceeding 1 as the number of cases per sentinel weekly, which is an indicator of the start of the influenza epidemic season. After that, the number of cases increased rapidly from the 48th week, and the number of cases per sentinel weekly reached 45.75 in the 51st week, entering the trigger/alarm level as above 30. The number of cases peaked at 66.27 in the following the 52nd week, and then quickly decreased due to the New Year holidays. However, it was not until the 15th of 2025 that the number of cases per sentinel weekly decreased below 1. Compared to epidemics over the past 10 years, there has been no season in which the peak number of patients exceeded 50 except for this season, indicating that the total number of patients during the study period was estimated quite high.

AH1pdm09 subtype was major dominant strain 2024/2025 season, otherwise AH3 subtype and the B Victoria lineage were begun to detect from the 4th week of 2025 onwards, which it did not form a major epidemic. Phylogenetic tree analysis of influenza virus HA genome revealed that both subtypes and lineage were divided into multiple clades, similar to those found throughout the country.

We also tested 13 influenza virus-negative specimens for other 10 respiratory viruses. Respiratory viruses other than influenza virus were detected in three samples, rhinovirus was detected in two samples. Another specimen was infected with human metapneumovirus.

Key words : influenza virus, infectious agents surveillance, respiratory virus

大阪府内における蚊媒介ウイルス感染症に対するサーベイランス調査 (2024 年度)

青山幾子, 山元誠司, 馬場 孝, 池森 亮, 佐々木麻綾, 横田正春, 弓指孝博, 山崎一夫

大阪府内では、蚊媒介ウイルス感染症の発生を監視する目的で、媒介蚊および野外で発見された死亡したカラスに対するサーベイランス事業を実施している。

2024 年度は 5 月から 10 月にかけてのべ 289 回蚊の捕集を行った。捕集された雌蚊 (7 種 5,298 匹、541 プール) について蚊媒介ウイルス (デングウイルス、チクングニアウイルス、ジカウイルス、ウエストナイルウイルス、日本脳炎ウイルス) の検出を試みたところ、これらのウイルス遺伝子は検出されなかった。また、死亡カラス 4 羽についてウエストナイルウイルスの検出を試みたが、ウイルス遺伝子は検出されなかった。

キーワード：蚊媒介感染症、媒介蚊、サーベイランス

蚊媒介ウイルス感染症には、デング熱、チクングニア熱、ジカウイルス感染症、ウエストナイル熱、日本脳炎などが含まれる。近年、気候変動や人・物の国際的移動の活発化に伴い、これらの感染症の分布域が拡大し、新たな地域への定着が懸念されており、世界的に公衆衛生上の課題となっている。日本国内においても、デング熱やチクングニア熱などの輸入症例が報告されており、国内での定着や流行への警戒が続いている。2014 年には、東京を中心としたデング熱の国内流行が発生した²⁾。この流行ではヒトスジシマカ (*Aedes (Stegomyia) albopictus*) が媒介蚊であり、同種は都市部を含む広範な地域に分布している。ヒトスジシマカが媒介するウイルス性疾患の多くは「ヒト-蚊-ヒト」の感染サイクルによって流行を引き起こすため、人口密集地である都市部における蚊の分布や季節的な活動動態を把握することは、公衆衛生上きわめて重要である^{3,4)}。また、デング熱などと異なり、ウエストナイル熱のような感染症では、鳥類が自然宿主・増幅動物となることに加え、アカイエカやコガタアカイエカなど大阪府内に生息する複数種の蚊が媒介する。これらのことから、一度国内に侵入した場合、生態系においてウイルスが循環・定着する可能性があり、感染拡

大の予測がより困難となる。したがって、輸入感染症対策として、ヒト-蚊-ヒトの都市型の感染サイクルの監視に加え、広域的な生態系監視の観点も含めた媒介蚊のサーベイランスが求められる^{3,4)}。

大阪府内では、蚊媒介ウイルス感染症の流行状況を把握することを目的として、2003 年度より大阪府・中核市管内において、2005 年度より大阪市において、蚊媒介ウイルス感染症のサーベイランスを継続的に実施している^{4,9)}。ウエストナイルウイルス (*Orthoflavivirus nilense*: WNV) はカラスに高い致死率を示すことが知られており、感受性の高いカラスの死亡をモニタリングすることで、WNV の侵入を早期に検知できる可能性があることから、大阪府内でも厚生労働省の通知に従い¹⁰⁾、死因不明のカラスが同一地点で 2 羽以上確認された場合には、WNV の検査を実施している。これらの取り組みは、媒介蚊の動態把握だけでなく、ウイルスの侵入兆候をいち早く察知するための基盤となる。今後も、持続的かつ広域的な監視体制の重要性は高まっていくと考えられる。本報では、2024 年度に大阪府・大阪市・中核市管内で実施した媒介蚊および死亡カラスに対するサーベイランスの結果について報告する。

調査方法

1. 蚊の捕集地点および調査実施期間

大阪府管内（12：池田市、茨木市、守口市、大東市、藤井寺市、富田林市、和泉市、泉大津市、岸和田市、貝塚市、泉佐野市、阪南市）、大阪市内（14）、中核市である東大阪市内（2）、高槻市内（1）、豊中市内（5）、枚方市内（4）、八尾市内（2）、寝屋川市内（1）および吹田市内（1）に計42カ所の捕集地点を設定し、2024年5月から10月までの期間、のべ289回捕集調査を実施し、各捕集地点における実施回数はそれぞれの自治体の実施要領に従った（図1）。大阪府管内および中核市は、各地点6月第5週から隔週に1回（計8回）の実施を基本とした。但し、東大阪市内と高槻市は10月第1週までの計7回実施し、豊中市C、D、Eはいずれかから毎回1地

点ずつ順に設置地点を変更して実施した。大阪市は毎月1回（計6回）実施した。

2. 蚊の捕集方法

蚊の捕集には CDC ミニライトトラップ（John. W.Hock Company）を使用し、蚊の誘引のためドライアイス（1～2kg）を併用した。トラップの設置は、夕刻16～17時から翌朝9～10時までの約17時間実施した。トラップを設置する高さは地上1.5～2mに設定した。調査日（回収日）の気象状況は、気象庁大阪地点における天候、最高気温、最低気温を参照した¹⁾。また枚方市A、B、C、Dと大阪市E、F、Gでは調査日に8分間ヒト囮法にて蚊を捕集し、CDC ミニライトトラップは使用しなかった。捕集終了時、いずれの方法でも捕集網から蚊が逃げないように注意し、蚊を捕集網ごと凍結した後に、蚊を

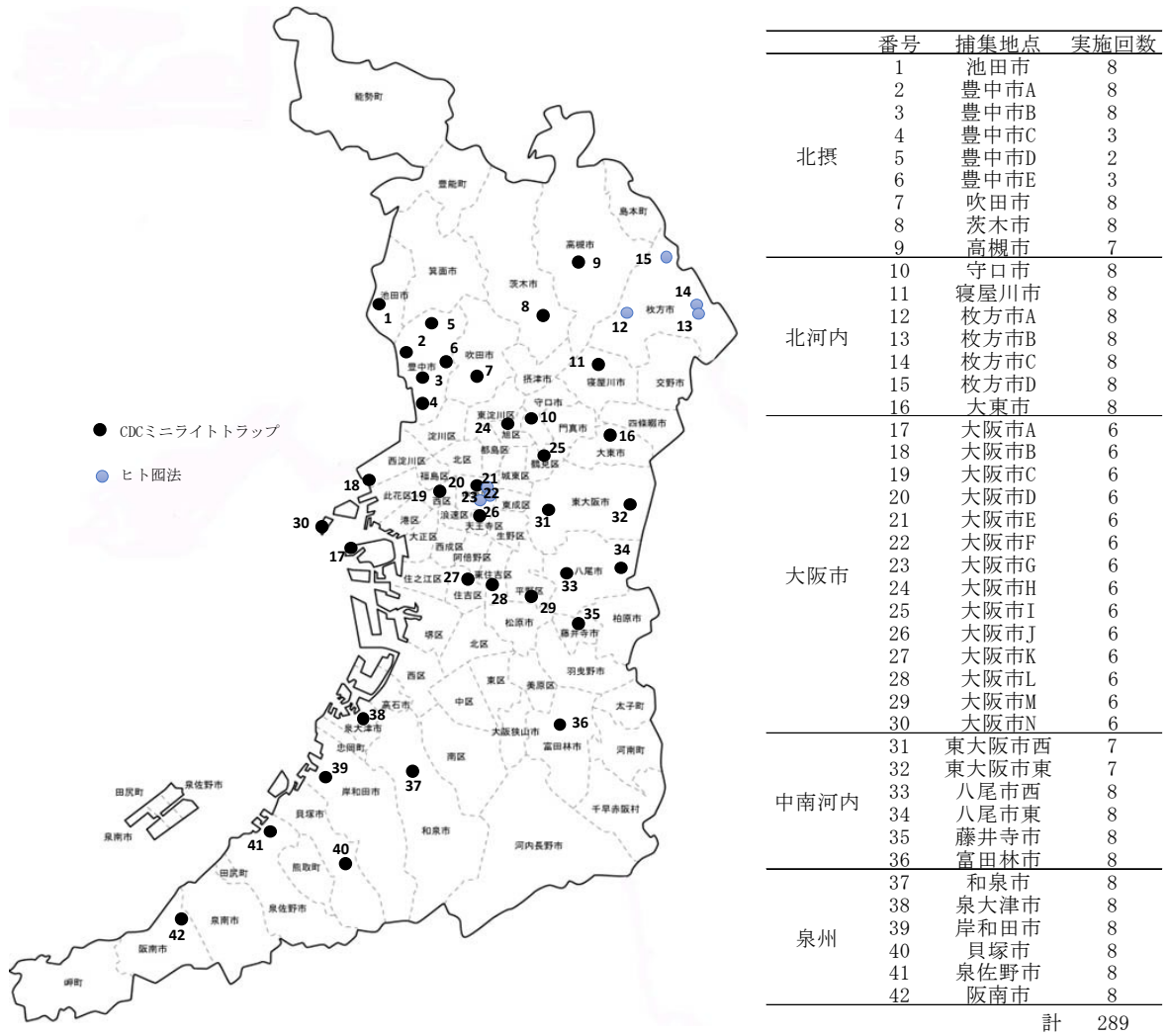


図1 捕集地点と調査実施回数

取り出して実体顕微鏡下で形態学的に雌雄の鑑別および種の同定を行った^{12, 13)}。なおアカイエカ (*Culex pipiens pallens*) とチカイエカ (*Culex pipiens molestus*) については形態学的な同定が困難であるため、それらをまとめてアカイエカ群 (*Culex pipiens complex*) とした。また捕集数については雌のみを計上した。蚊は調査日、調査地点、蚊の種類ごとにプールし、ウイルスを媒介する雌の蚊のみウイルス検査に供した。1 地点 1 種類あたりの捕集数が 50 匹を超えた場合は、最大 50 匹を 1 プールとし、複数のプールに分割した。その後、各検体は遺伝子検査実施まで 4°C で冷蔵保存した。

3. 蚊からのウイルス検出

蚊からのウイルス検出は、蚊媒介ウイルスのうち、フラビウイルス科オルソフラビウイルス属の WNV、日本脳炎ウイルス (*Orthoflavivirus japonicum*:JEV)、デングウイルス (*Orthoflavivirus denguei*:DENV) およびジカウイルス (*Orthoflavivirus zikaense*:ZIKV)、並びにトガウイルス科アルファウイルス属のチクングニアウイルス (*Alphavirus chikungunya*:CHIKV) を対象として実施した。WNV は多種類の蚊が媒介種となるため、捕集された全ての種類の雌蚊について遺伝子検査を実施し、DENV、CHIKV は媒介種となるヒトスジシマカの雌蚊について実施した。

蚊の破碎は、ビーズ入り 2mL チューブ (Precellys Lysing Kit CKMix, Bertin Technologies) に検体を入れ、0.2%ウシ血清アルブミン加ハックス液を 600 μ L 加えた後、ビーズ式ホモジナイザー (Precellys Evolution Touch, Bertin Technologies) で 10 秒間振とうして行った。破碎後、マイクロチューブをスピンドウンしてから破碎液を別のチューブに移し、それを 4°C、10,000 \times g で 10 分間遠心した上清を蚊乳剤とした。このうち 140 μ L から QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) を使用して RNA 60 μ L を抽出した。

WNV、JEV、DENV、ZIKV の遺伝子検査は One step RT-PCR 法で実施した。RNA 抽出液 2.5 μ L に EmeraldAmp[®] PCR Master Mix (TaKaRa) 12.5 μ L、逆転写酵素 (Super Script III, Thermo Fisher Scientific) 0.15 μ L、25 μ M Forward プライマー及び Reverse プライマー各 0.2 μ L、リボヌクレアーゼ阻害剤 (40U/ μ L、TaKaRa) 0.1 μ L を加え、ヌクレアーゼフリー水を加えて最終液量 25 μ L とした。これをサーマルサイクラー (SimpliAmp, Thermo Fisher Scientific) を用い

て、53°C 10 分間の逆転写反応後、92°C 1 分、53°C 1 分、72°C 1 分の反応を 40 回繰り返す、72°C 5 分、72°C 1 分の反応を行った。反応産物 2 μ L を TE 溶液 18 μ L で希釈したものを DNA/RNA 分析用マイクロチップ電気泳動装置 (MultiNA、島津製作所) にて DNA-1000 キット (島津製作所) および GelStar (Lonza) を用いて解析し、陽性コントロールと近位サイズのピークが確認されたものについて、反応産物を 2%アガロース、1 \times TAE 液で電気泳動し、エチジウムブロマイド染色により増幅バンドを再確認した。陽性バンドが確認された場合は、増幅産物のダイレクトシーケンシングを行い、BLAST 相同性検索にてウイルス種を同定した。RT-PCR のプライマーには、オルソフラビウイルス属共通プライマー (FU1/cFD2)¹⁴⁾ を用いた。WNV は FU1/cFD2 で検出可能であるが、検査の精度をあげるため WNV 特異的検出プライマー (WNNY 514/904)¹⁵⁾ も併用した。

CHIKV の遺伝子検査はリアルタイム RT-PCR 法で実施した。DENV も前段の FU1/cFD1 による RT-PCR で検出可能であるが、検査の精度をあげるため、DENV 共通プライマーを用いたリアルタイム RT-PCR 法も併用した。リアルタイム RT-PCR には QuantiTect Probe RT-PCR Kit (QIAGEN) を使い、RNA 抽出液 5 μ L にキット付属の 2 \times QuantiTect Probe RT-PCR Master Mix 12.5 μ L、QuantiTect RT Mix 0.25 μ L と、リボヌクレアーゼ阻害剤 (40U/ μ L、TaKaRa) 0.05 μ L、CHIKV 特異的プライマー・プローブ混合液 1.0 μ L、DENV 共通プライマー・プローブ混合液 1.25 μ L を加え、ヌクレアーゼフリー水にて最終液量 25 μ L に調製した。CHIKV 特異的プライマー・プローブ混合液は Forward プライマー (Taq-Chik607F)、Reverse プライマー (Taq-Chik638P)、プローブ (Taq-Chik672R) が各 5 μ M になるようにあらかじめ調製した¹⁶⁾。DENV 共通プライマー・プローブ混合液は Forward プライマー (DENV1-4_F)、Reverse プライマー 2 種 (DENV1-4_R1、DENV1-4_R2)、プローブ (DENV1-4_P)¹⁷⁾ が各 4 μ M になるようにあらかじめ調製した。これをリアルタイム PCR 装置 (QuantStudio5, Thermo Fisher Scientific) を用いた Multiplex 反応にて、48°C 30 分間の逆転写反応、95°C 10 分反応の後、95°C 15 秒、57°C 1 分の反応を 45 回繰り返す、増幅が見られた場合に陽性とした。

4. カラスからのウイルス検出

死因が不明なカラスの死骸が同地点で2羽以上確認され、死骸の回収時に腐乱やウジの発生がなく新鮮な状態であった場合、WNV検査を実施した。死亡カラスは、解剖して採脳した後、PBS(-)を用いてカラスごとに10%脳乳剤を作製し、4℃、10,000×gで5分間遠心し、その上清を用いて、蚊と同様にRNA抽出並びにオルソフラビウイルス属共通プライマーおよびWNV特異的検出プライマーを用いたRT-PCRを実施し^{14, 15)}、反応産物を2%アガロース、1×TAE液で電気泳動し、エチジウムブロマイド染色により増幅バンドを確認した。

結果

1. 蚊の捕集結果について

2024年度に捕集された雌の蚊は合計7種5,298匹であった。もっとも多く捕集された蚊はヒトスジシマカで3,393匹(64.04%)、次にアカイエカ群が1,655匹(31.24%)であり、この2種で全体の95.3%を占めた(図2)。その他の種として、コガタアカイエカ(*Culex tritaeniorhynchus*)が235匹、オオクロヤブカ(*Armigeres subalbatus*)が5匹、シナハマダラカ(*Anopheles sinensis*)が5匹、カラツイエカ(*Culex bitaeniorhynchus*)が4匹、トラフカクイカ(*Culex (Lutzia) vorax*)が1匹捕集された。

調査全体における捕集数の推移は図3、捕集地点ごとの推移は図4、地点別総捕集数は図5に示した。ヒトスジシマカとアカイエカ群、コガタアカイエカは調査期間全体を通して捕集された。なかでもヒト

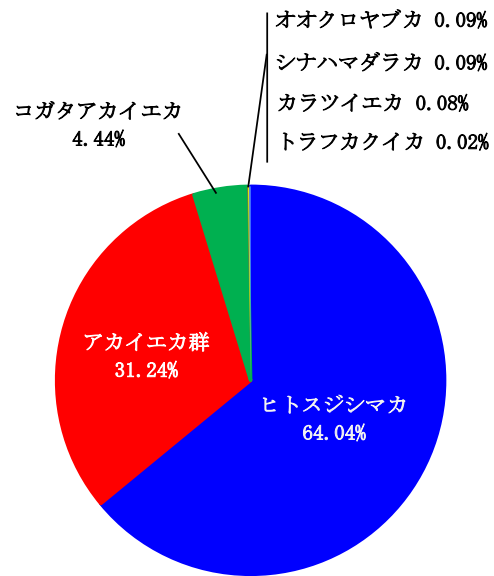


図2 捕集された雌蚊の比率

スジシマカは最も広範囲に分布し、大阪市Nを除く府内すべての捕集地点で捕集された。本種の活動は5月中旬には認められ、7~10月にかけて増減を繰り返しながら10月初旬に一番のピークを示した。捕集地点には、都市公園や郊外の緑地、保健所庁舎周辺の市街地など様々な環境が含まれていたが、どの環境においてもヒトスジシマカは捕集されており、同種の適応性の高さが示された。特に、豊中市A、吹田市、寝屋川市、大阪市D、東大阪市西、藤井寺市、和泉市、泉大津市ではサーベイランス期間全体でヒトスジシマカは150匹を超える多くの捕集があり、これらの地点がヒトスジシマカの繁殖・生息

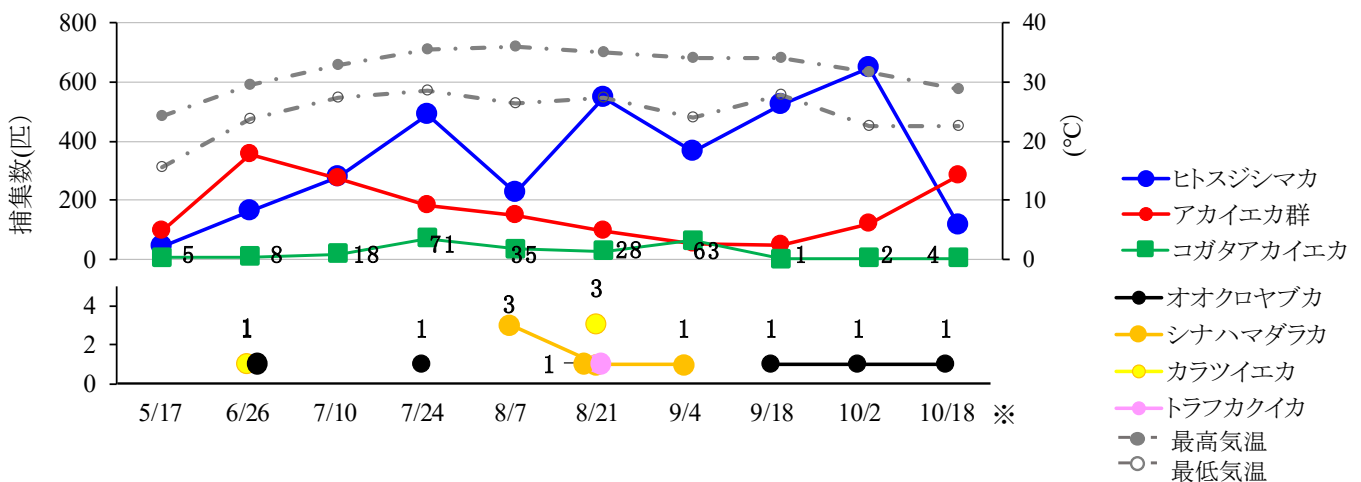


図3 蚊の捕集数の推移(全地点)

※調査日が異なる調査回においては大阪府保健所実施日と、その気温を記載

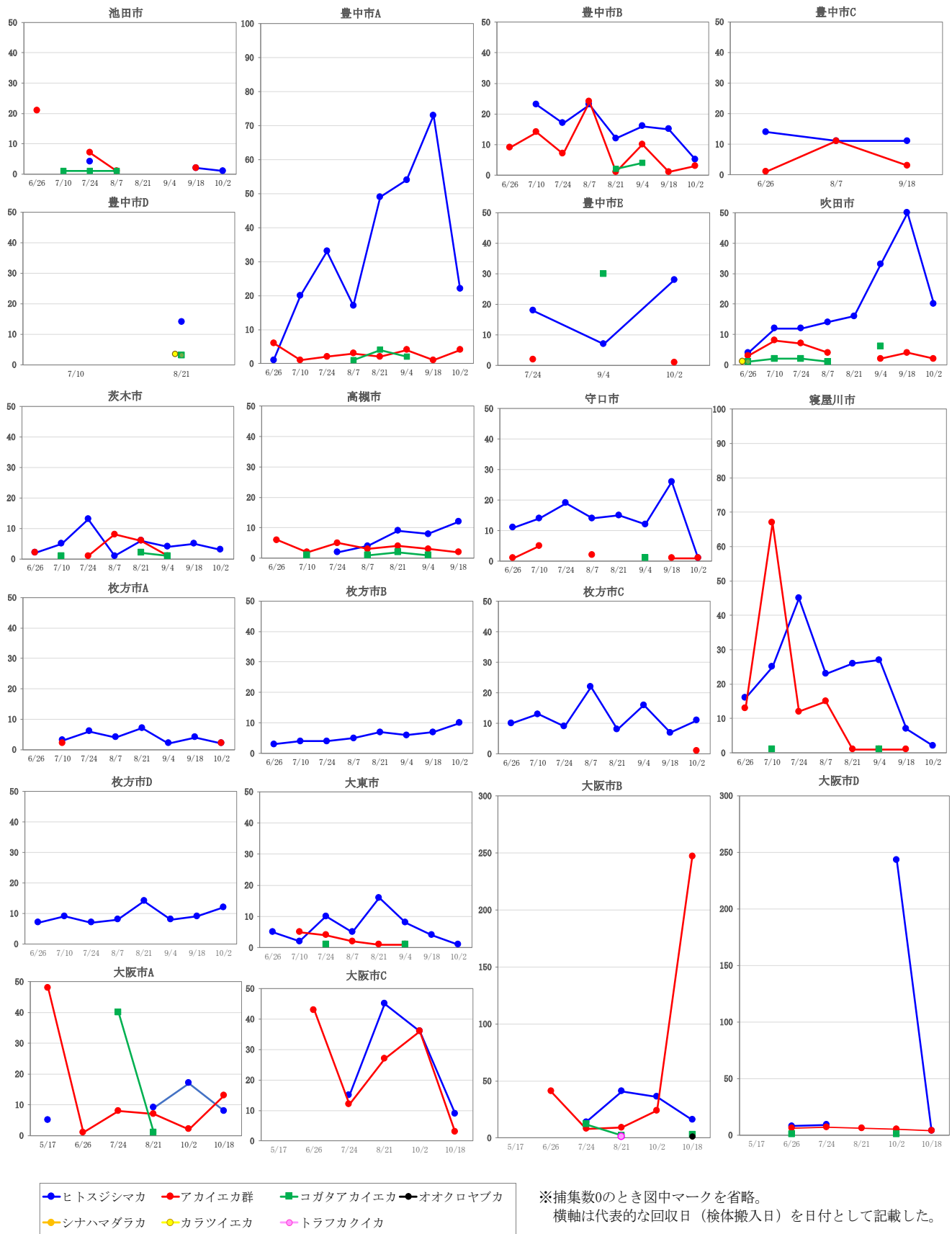


図4-1 各調査地点における雌蚊捕集数の推移

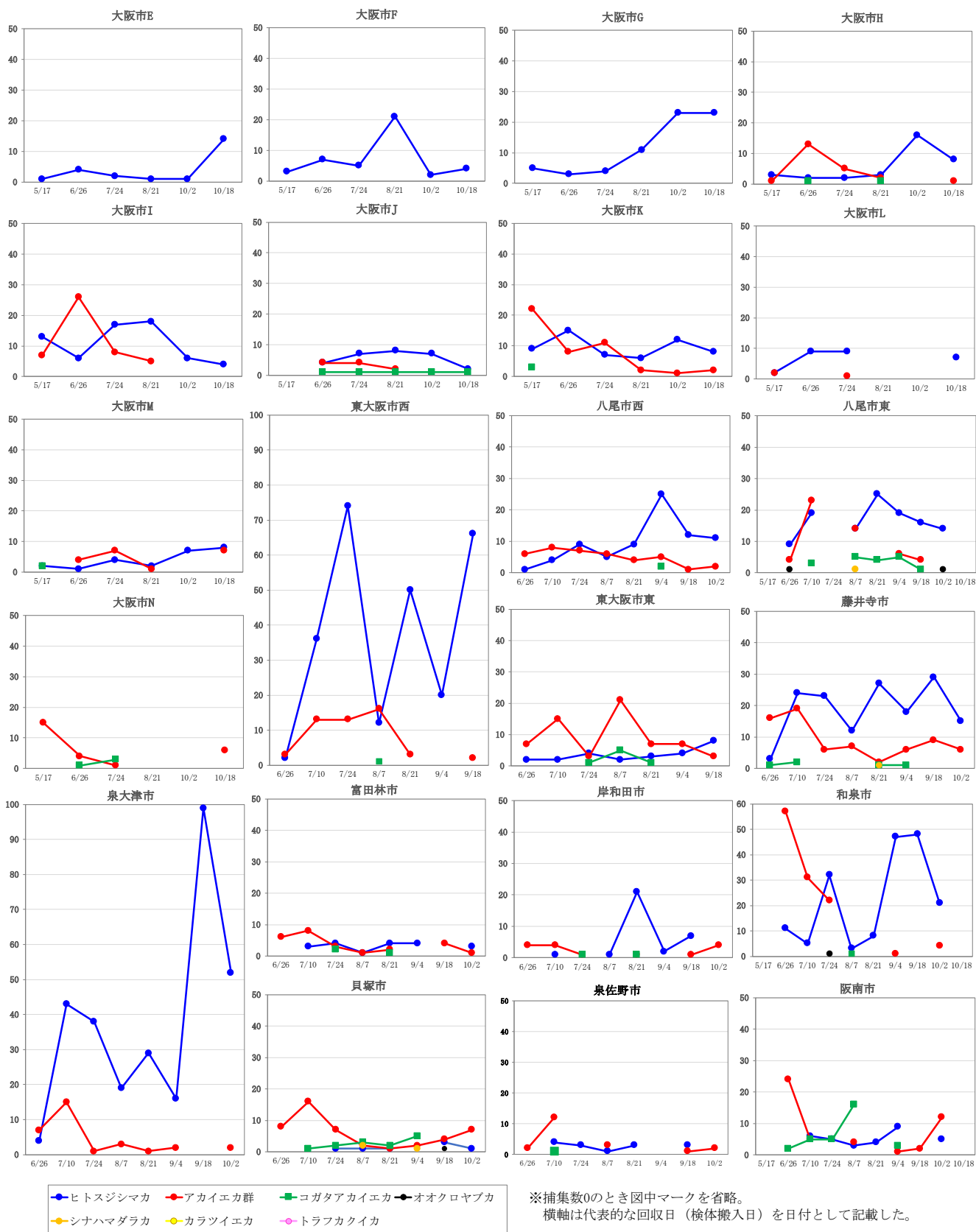


図4-2 各調査地点における雌蚊捕集数の推移

に適した環境であることが示唆された。一方で、大阪市 N では 1 匹も捕集されなかった。当該地点は海水に囲まれた人工島の岸辺に位置し、周辺に居住者がおらず、ヒトの往来も限定的であったと考えられる。ヒトスジシマカは淡水域で繁殖し、吸血対象となるヒトとの接触機会が多い環境を好むことから、本地点はその生息に不向きであったと考えられた。また、周辺では野鳥や渡り鳥の生息が確認されていることから、鳥類を吸血対象と好むアカイエカ群にとっては比較的適した環境であった可能性が示唆された。また、ヒトスジシマカの最大捕集数は 10 月 2 日の大阪市 D における 243 匹で、この時期においても都市部での活動が継続していたことが確認された。

アカイエカ群も 5 月中旬には確認され、調査を開始した 5 月や調査終了の 10 月にピークが見られた地点が複数存在し、調査期間外での蚊の活動が示唆された。また、アカイエカ群は 36 地点で捕集され、アカイエカ群が捕集されなかった 7 地点のうち 6

地点（枚方市 B、C、D、大阪市 E、F、G）ではヒト囮法による調査が行われており、捕集方法の影響が示唆された。また、アカイエカ群の最多捕集数は 10 月 18 日の大阪市 B で確認された 247 匹であった。大阪市 B では 2 シーズン連続で 10 月に最大のピークを記録した。

コガタアカイエカは 30 地点で捕集され、前年よりも捕集地点が増加し、広範囲での発生が確認された。捕集数は少ないものの全期間を通じていずれかの地点で確認され、特定の地点では捕集数の増加が見られた。

一方、オオクロヤブカ（6 月 26 日八尾市東、7 月 24 日和泉市、9 月 18 日貝塚市、10 月 2 日八尾市東、10 月 18 日大阪市 B）や、シナハマダラカ（8 月 7 日八尾市東、貝塚市、8 月 21 日藤井寺市、9 月 4 日貝塚市）、カラツイエカ（6 月 26 日吹田市、8 月 21 日豊中市 D）、トラフカクイカ（8 月 21 日大阪市 B）については、捕集数はわずかであったが、地域における蚊類の多様性を示す結果となった。このうち、

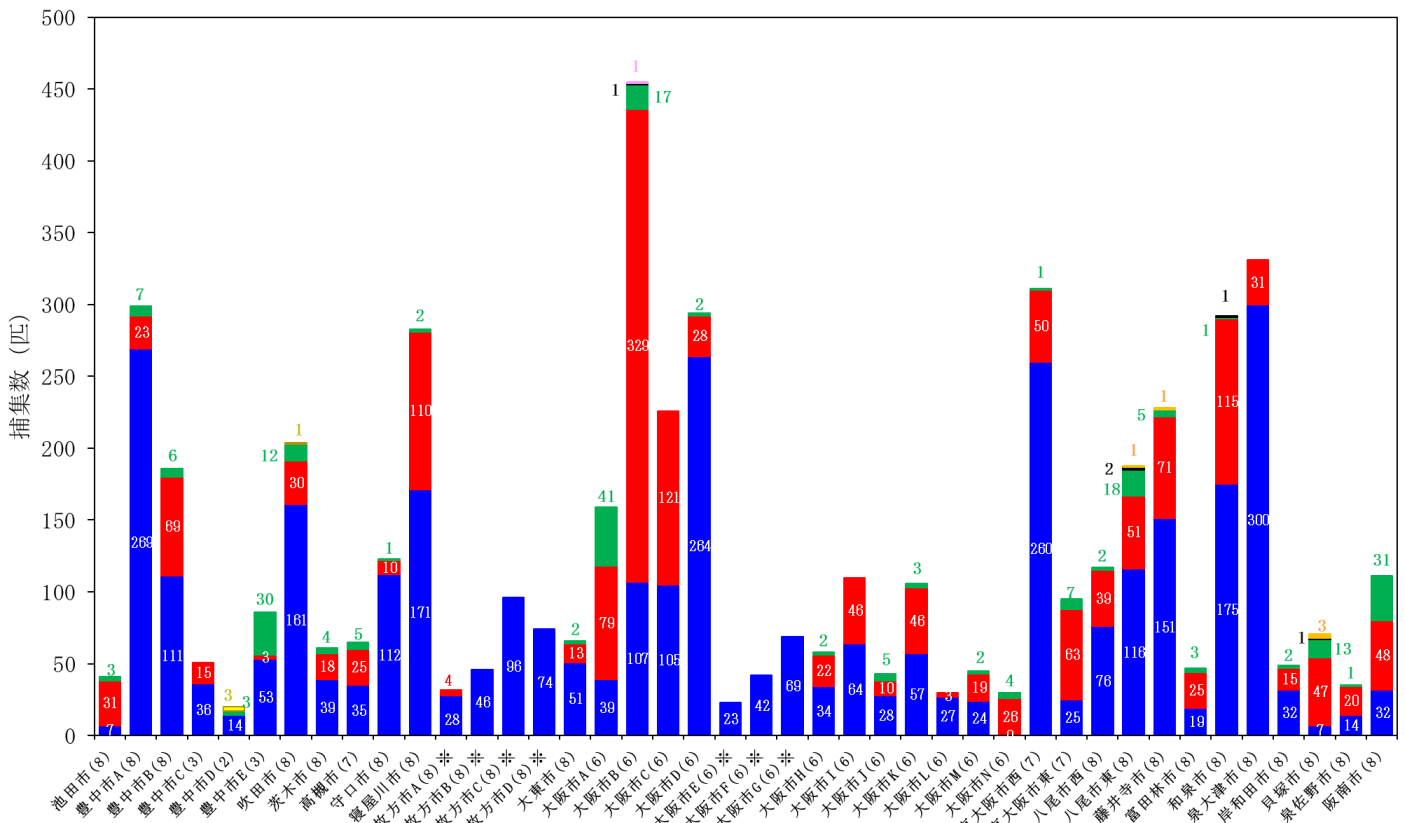


図5 地点別 蚊の捕集数

■ ヒトスジシマカ ■ アカイエカ群 ■ コガタアカイエカ ■ オオクロヤブカ
 ■ シナハマダラカ ■ カラツイエカ ■ トラフカクイカ

地点名に続く () 内はその地点における調査回数を示す ※はヒト囮法実施地点

大阪市B、和泉市、貝塚市の3地点は昨年度に続き5種類以上の種類が記録された。

2. 蚊のウイルス遺伝子検査結果

各地点で捕集された蚊を種類別に分け541プールの乳剤を作製し、WNV、JEV、DENV、ZIKV遺伝子の検出を行った。その結果、すべての検体でこれらのウイルス遺伝子は検出されなかった。またヒトスジシマカの258プールについても、CHIKV、DENV遺伝子は検出されなかった。

3. 死亡カラスのウイルス遺伝子検査結果

2024年度回収されたカラス4羽についてWNV遺伝子の検出を実施したが、いずれも検出されなかった。

考 察

大阪府内の捕集調査でよく捕集される種類はヒトスジシマカ、アカイエカ群、コガタアカイエカの3種であり、これらが大阪府内における蚊媒介感染症対策上、重点的に監視・防除すべき種であると考えられた。

捕集地点には、公的機関の敷地内に設置されたトラップのほか、公園、池、緑地、山裾など自然環境に近い場所も含まれており、住民の生活圏からその周辺までを網羅する形でサーベイランスが実施されている。地点ごとの捕集数や種類の構成にはばらつきが見られたが、これはトラップ設置地点の環境の違いに起因するものと考えられた。

ヒトスジシマカは多くの地点で高頻度に捕集され、特に9月に最大のピークが見られた地点が9地点、10月は2地点存在した。蚊の捕集数のピーク時期はその年の気候条件などに左右され、毎年同じ月にピークを示すとは限らないが、この初秋にも捕集数が増加する傾向は過去の調査でも報告されており、同様の発生パターンを持っていることが示唆された。ヒトスジシマカは、落ち葉などの有機物を含む小さな水域でも繁殖可能であり、梅雨期以降に発生源が増えることが、個体数の増加に寄与していると考えられる。

アカイエカ群は、地点によりピークの時期にばらつきは見られるが、調査開始初期の5~6月と終了期の9~10月にピークを示す傾向がみられた。2024年の大阪では5月の平均気温は19.4℃(最高24.4℃、

最低15.1℃)と比較しても、10月は22.1℃(最高26.4℃、最低18.8℃)と高めであり¹¹⁾、蚊の活動に適した気象条件が長く継続したことも、秋季の発生に影響を与えた可能性がある。地球温暖化に伴う気温上昇が続くなか、今後も蚊の発生時期が拡大し、蚊媒介感染症に対する警戒期間が延長される可能性が考えられる。

コガタアカイエカは、前年の19地点から今年度は30地点へと捕集地点が増加し、個体数も増加傾向を示した。水田や用水路など農耕地周辺に多く見られる種であり、都市部では生息域が少ないと考えられるが、今年度は複数の地点で確認され、生息状況の変化が示唆された。気象条件や調査環境の影響も考えられるが、明確な要因は特定できず、引き続き経年的な動向の監視が必要である。

ヒト匝法を用いた地点では捕集された蚊の88~100%がヒトスジシマカであった。ヒトスジシマカはヒトへの吸血指向性が高く、ヒトの足元などに集まりやすい性質を持ち、ヒト匝法を実施する日中が活動時間帯となるため、ヒト匝法での捕集効率が良いのに対し、アカイエカ群は鳥類指向性が高く、活動時間帯は夜間が主となるためヒト匝法での効率が良くないと考えられる。このことから、デング熱、チクングニア熱、ジカウイルス感染症など、ヒト-蚊-ヒトの感染環を形成する疾患のリスク評価や対策において、ヒト匝法は有効な手法であると考えられる。一方、ウエストナイル熱はアカイエカ群などの*Culex*属が主要な媒介種であり¹⁴⁾、ウエストナイル熱の侵入を想定した対策を考える場合、ヒト匝法とライトトラップなどを併用した蚊の捕集が重要となると考えられた。

また、本年度も国内には定着していないDENV、CHIKV、ZIKV、WNVについて、いずれも検出されず、これまでのサーベイランス結果と一致したことから、現時点では府内におけるウイルスの定着や蔓延のリスクは低いと考えられた。ただし、都市部でのヒトスジシマカの高頻度検出やヒトスジシマカやアカイエカ群の秋季における活動継続は、輸入感染症発生時のリスク増加要因となり得るため、今後も継続的な監視と啓発活動が求められる。

大阪府内では、2019年ラグビーワールドカップなどの過去の国際的イベントに加え、2025年4月~10月まで開催の日本国際博覧会(大阪・関西万博)など、大規模イベントを契機とした契機とした国内外からの来訪者の増加が見込まれ、蚊媒介感染症への

備えが引き続き重要視されてきた。蚊媒介感染症は、媒介蚊の存在に加えて、病原体を保有する増幅動物や感染者の流入によって拡散しうるため、媒介蚊の分布状況を把握することは、感染拡大防止の観点から極めて重要である。都市部を含む府内全域における媒介蚊の分布・活動状況の把握や、海外からのウイルス侵入を早期に察知するための広域的なサーベイランス体制の維持・強化は、今後さらに重要になると考えられる。

なお、本サーベイランスにおいて捕集された蚊の多くは、保健所の環境衛生監視員によりあらかじめ同定された後、当所において再同定・確認されており、このプロセスは現場職員の同定技術の維持・向上に寄与している。府内各地に同定技術を有する人材が配置されていることは、有事の際の媒介蚊対策を迅速かつ的確に進める上で重要な基盤である。さらに、サーベイランスの成果や知見は、毎年実施されている大阪府蚊媒介感染症対策訓練にも反映されており、実践的な連携体制の強化につながっている。今後は、媒介蚊の生態や分布に関する情報の収集・分析を継続的に行うとともに、行政・関係機関・住民への教育啓発を一層推進し、地域に根差した感染症対策の体制強化を図ることが求められる。

謝 辞

本調査は、大阪健康安全基盤研究所と大阪府健康医療部生活衛生環境衛生課および各保健所の協力のもとに大阪府健康医療部保健医療室感染症対策課（現医療・感染症対策課）の事業として、また大阪市健康局健康推進部生活衛生課、生活衛生監視事務所の協力のもとに大阪市保健所感染症対策課の事業として実施されたものであり、調査に関与した多くの方々に深謝致します。また、データのご協力頂いた東大阪市保健所、高槻市保健所、豊中市保健所、枚方市保健所、八尾市保健所、寝屋川市保健所、吹田市保健所の関係者の方々に深くお礼申し上げます。

利 益 相 反

開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) 国立健康危機管理研究機構. 感染症発生動向調査週報.
<https://id-info.jihs.go.jp/surveillance/idwr/index.html>
- 2) 東京都福祉保健局. 東京都蚊媒介感染症対策会議報告書 2014
<https://www.mhlw.go.jp/file/05-Shingikai-10601000-Daijinkanboukouseikagakuka-Kouseikagakuka/0000071097.pdf>
- 3) . 蚊媒介感染症
<https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/0000164483.html>
- 4) . 蚊媒介感染症に関する特定感染症予防指針
<https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/001091242.pdf>
- 5) 弓指孝博, 瀧 幾子, 齋藤浩一, 伊藤房子, 石田誠良, 倉持 隆, 大竹 徹, 奥野良信. 大阪府におけるウエストナイル熱に関する蚊のサーベイランス調査 (平成 16 年度報告). *大阪府立公衆衛生研究所研究報告* 2004; **42**: 57-63.
- 6) 瀧 幾子, 弓指孝博, 吉田永祥, 田中智之, 大竹徹, 奥野良信. 大阪府の住宅地域における蚊の分布調査. *大阪府立公衆衛生研究所所報* 2004; **42**: 65-70.
- 7) 青山幾子, 山元誠司, 山口敬治, 石川温子, 弓指孝博. 大阪府における蚊媒介性ウイルス感染症に対するサーベイランス調査 (2016 年度). *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2017; **1**: 29-35.
- 8) 後藤 薫, 改田 厚, 久保英幸, 阿部仁一郎, 入谷展弘, 小笠原準, 山崎一夫, 高倉耕一, 北野雅昭, 長谷 篤. 大阪市域において 2005 年から 2009 年に実施したウエストナイルウイルス保有蚊調査. *大阪市立環境科学研究所報告* 2011; **73**: 7-14.
- 9) 青山幾子, 山元誠司, 馬場 孝, 池森 亮, 横田正春, 弓指孝博, 山崎一夫. 大阪府内における蚊媒介ウイルス感染症に対するサーベイランス調査 (2023 年度). *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2024; **8**: 36-46.
- 10) 厚生労働省健康局結核感染症課長通知 (2002 年 12 月 13 日). ウエストナイル熱の流行予測のための死亡カラス情報の収集等について.
https://www.mhlw.go.jp/web/t_doc?dataId=00tb8583&dataType=1&pageNo=1
- 11) 気象庁. 過去のデータ検索
<https://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>

- 12) 弓指孝博, 瀧幾子. ウエストナイル熱 (脳炎). 大阪府立公衆衛生研究所感染症解析プロジェクト委員会編 感染症検査マニュアル第Ⅲ集 2004; 1-13.
- 13) ウエストナイル熱媒介蚊対策研究会. ウエストナイル熱媒介蚊対策ガイドライン. 日本環境衛生センター. 2003; 36-41.
- 14) Kuno G, Chang GJ, Tsuchiya KR, Karabatsos N, Cropp CB. Phylogeny of the Genus Flavivirus. *J Virol* 1998; **72**(1): 73-83.
- 15) 国立感染症研究所. ウエストナイルウイルス病原体検査マニュアル (第4版) .
<https://www.niid.jihs.go.jp/assets/img/vir1/div2/WNVLbotest.pdf>
- 16) 国立感染症研究所. チクングニアウイルス検査マニュアル Ver1.1.
<https://id-info.jihs.go.jp/relevant/manual/010/CHIKV.v1.1.pdf>
- 17) 内田悠太, 森 功次, 吉田 勲, 原田幸子, 鈴木愛, 糟谷 文, 小杉知宏, 千葉隆司, 貞升健志. 感染症媒介蚊サーベイランスにおけるウイルス検査法の検討. *東京都健康安全研究センター年報* 2020; **71**: 55-59.

WEB サイトの内容は 2025 年 6 月 3 日に確認した。

Mosquito-borne virus surveillance in Osaka Prefecture (Fiscal 2024 report)

Ikuko AOYAMA, Seiji YAMAMOTO, Takashi BABA, Ryo IKEMORI, Maaya SASAKI,
Masaharu YOKOTA, Takahiro YUMISASHI and Kazuo YAMAZAKI

Surveillance programs are being conducted in Osaka Prefecture to monitor the invasion of mosquito-borne arboviruses such as dengue virus (DENV), chikungunya virus (CHIKV), Zika virus (ZIKV), West Nile virus (WNV), and domestic Japanese encephalitis virus (JEV). In 2024, 541 mosquito pools from 5,298 female mosquitoes (seven species) were collected at 42 points in Osaka Prefecture from May to October and tested negative for DENV, CHIKV, ZIKV, WNV, and JEV. In addition, four dead wild crows tested negative for the WNV.

Key words : mosquito-borne infection, vector mosquitoes, surveillance.

大阪市においてクドア属粘液胞子虫が関与したと疑われる有症事例と 流通する海産魚における粘液胞子虫の検出状況

馬場 孝^a, 垣本 愛^b, 平尾真大^b, 小西敦子^b, 前原智史^b

大阪市内で2022年7月にクドア属粘液胞子虫の関与が疑われる有症事例が2件発生した。事例1の喫食残品の炙りマグロ（クロマグロ若魚・ヨコワ）からムツボシクドア *Kudoa hexapunctata* が、事例2の喫食残品の寿司ネタ（マダイ）からイワタクドア *K. iwatai* が検出された。これらは大阪府内でナナホシクドア *K. septempunctata* 以外のクドア属粘液胞子虫が喫食残品から確認された初めての有症事例である。これら粘液胞子虫の寄生状況を調べる目的で、大阪府内に流通する鮮魚を調べたところ、クロマグロ成魚の27%（14/52尾）、若魚の88%（14/16尾）、キハダマグロの25%（14/56尾）からKhの遺伝子が、サワラの100%（25/25尾）から *K. konishiae* の遺伝子が検出された。

キーワード：ムツボシクドア、イワタクドア、マグロ、マダイ、食中毒

クドア属は主として海産魚に寄生する粘液胞子虫である。ナナホシクドア *Kudoa septempunctata*（以下Ks）が高密度に寄生したヒラメを生食した場合、喫食後数時間で一過性の嘔吐や下痢症状を引き起こすことがある（クドア食中毒¹⁻²）。同じクドア属のムツボシクドア *K. hexapunctata*（Kh）³⁻¹¹、イワタクドア *K. iwatai*（Ki）¹²⁻¹⁹、キハダクドア *K. neothunni*（Kn）^{8, 20}やクドア属に近縁なハタメダマムシ *Uncapsula seriola*（Us）^{7, 14, 16, 17, 21-25}においても、有症事例での喫食残品や患者便からそれぞれ検出されており、病因物質として疑われている。これらのうちKhについては、ヒト結腸由来Caco-2細胞に対して毒性を示すことが報告され⁵、有症事例との関連性が示唆されている。しかし、Khを含め、Ki、Kn、Usは食中毒病因物質に指定されていない。これらの有症事例との関連が疑われているクドア属粘液胞子虫（以下クドア）およびメダマムシ属粘液胞子虫の情報は、まだ限られているため、情報の蓄積や実態把握が求められている²⁶。鮮魚における疫学的な調査もまた限られており^{4-5, 7, 27-30}、粘液胞子虫の寄生実態は十分明らかになっていない。

大阪市内においてKsを検出した事例は、過去に

知られているが³¹⁻³⁶、Ks以外のクドアによる有症事例はこれまでに報告されていない。2022年7月大阪市内において、クドアの関与が疑われる有症事例が2件発生した。本研究では、これらの有症事例に関して報告するとともに、近年他地域でも有症事例の喫食残品として報告されているマグロ類およびサワラにおいて、粘液胞子虫の寄生実態を把握することを目的とした。

材 料 と 方 法

1. 有症事例 1

2022年7月上旬、大阪市内で販売された炙りマグロを喫食した3グループ7名のうち5名が下痢や嘔吐などの症状を呈した。潜伏期間は4~9.5時間でクドアが原因と疑われたが、大阪市内に患者はいない、または検便の協力が得られず、糞便検体は搬入されなかった。喫食残品として、冷凍保管されていた炙りマグロ（天然クロマグロ若魚（ヨコワ）：長崎県産）が1検体搬入された。

a 大阪健康安全基盤研究所微生物部ウイルス課

b 大阪市中心卸売市場食品衛生検査所

2. 有症事例 2

2022 年 7 月下旬、大阪市内で開催された宴会において、提供された寿司を喫食した 80 名のうち、1 グループ 5 名が下痢や嘔吐の症状を呈した。潜伏期間は 4~10 時間でクドアが原因と疑われ、糞便 1 検体（発症 7 日後の 8/4 に採取）が搬入された。凍結処理されていなかった生食用鮮魚介類が原因と疑われ、喫食残品として、冷凍保管されていた寿司ネタのタイ（養殖マダイ：和歌山県産）がしゃり玉とともに 2 検体搬入された。

3. 粘液胞子虫の寄生実態調査の対象魚種

粘液胞子虫の寄生状況を調べる目的で、2024 年 6 月から 2025 年 3 月にかけて、大阪府内に流通する鮮魚を検査材料とした。本研究での対象魚種は、Kh による有症事例報告があるクロマグロ（成魚 52 検体、若魚 16 検体）とキハダマグロ（56 検体）、Kh による有症事例報告が見当たらないメバチマグロ（28 検体）、ミナミマグロ（7 検体）、ビンナガマグロ（1 検体）、Ki による有症事例報告があるサワラ（25 検体）とした。本報告では、標準和名であるキハダ、メバチ、ビンナガにマグロを加えて表記した。

4. 顕微鏡検査

有症事例由来検体においては、平成 28 年 4 月 27 日付厚生労働省生活衛生局生活衛生・食品安全部監視安全課長通知「*Kudoa septempunctata* の検査法について」5.顕微鏡検査法 に準じて定量検査を実施した。

流通鮮魚の調査においては、通知法と一部異なる方法で孢子数を算出した。すなわち、血球計算盤を用いた 4 区画のシストの計数において、1 区画に孢子が 1 つでも認められた場合でも有効とみなした。その場合、4 区画の計数値の平均値が 0.25 となる。通知法では、この平均値を 5 以上で有効としているため、本調査では、それよりも 20 倍高い 5.0×10^3 個/g を検出下限とした。顕微鏡検査の後、長期常温保管する必要があったため、検体の一部を 99.5%エタノールに浸漬して、遺伝子検査まで保管した。

5. 遺伝子検査

前述通知の検査法および平成 26 年 5 月 26 日付厚生労働省医薬食品局食品安全部・監視安全課食中毒被害情報管理室「食中毒患者便からの *Kudoa septempunctata* 遺伝子検出法（参考）について」に準

じて、魚肉検体・糞便から DNA を抽出した。ただし、流通鮮魚の調査におけるエタノール固定試料については、脱水により正確な湿重量を量ることが困難であったため、約 25mg を使用した。DNA 抽出には Blood & Tissue Kit (Qiagen) と QIAamp Fast DNA stool Mini Kit (Qiagen) を使用した。

有症事例 1 のマグロにおいては、Kh および Kn 各々に特異的なリアルタイム PCR 法を実施し^{5),7)}、有症事例 2 のマダイおよび糞便において Ki を疑う検査については、クドアの保存領域である 18SrDNA を標的としたリアルタイム PCR 法によりスクリーニングを実施した^{5),7)}。スクリーニングで陽性だった場合、28S リボソーム RNA をコードする 28SrDNA 領域についてコンベンショナル PCR を行った²⁾。その後、ダイレクトシーケンスを行い、得られた塩基配列について、NCBI の BLAST を用いて相同性検索を実施した。

流通マグロ類の調査においては、大部分の検体に対して、上記と同様のスクリーニングを実施した^{5),7)}。スクリーニング陰性となった検体は遺伝子検査陰性と判定し、Kh および Kn 特異的なリアルタイム PCR 法は実施しなかった。スクリーニング陽性となった検体と一部の検体（顕微鏡検査で明らかに陽性の場合・検査時の検体数が少なかった場合など）については Kh および Kn 各々に特異的なリアルタイム PCR 法を実施した^{5),7)}。スクリーニングの結果が陽性で Kh および Kn 特異的なリアルタイム PCR 法が陰性だった一部の検体については、これまでの検出傾向から Kh の可能性が高く、またその検出限界付近であることが Ct 値から考えられたため、別の方法であるコンベンショナル PCR を実施して種同定を実施し³⁰⁾、遺伝子検査陽性とした。

流通サワラの調査においては、上記と同様のスクリーニングを実施した^{5),7)}。陽性検体に対して、ミトコンドリアシトクローム c オキシダーゼサブユニット 1 遺伝子 (*cox1*) の部分配列を基に MEGA12 を用いて最尤法によって系統樹解析を実施し、種の同定を行った³⁸⁾。

クドア属特異的、Kh 特異的リアルタイム PCR 試験系の検出感度が不明なため、孢子数を計数した検体から抽出した DNA を用いて検討した。前者の試験系にはサワラ (ID230 : 4.5×10^4 個/g) を、後者の試験系にはクロマグロ若魚 (ID344 : 3.8×10^6 個/g) を使用した。抽出 DNA をそれぞれ 10^{-1} から 10^{-7} まで段階希釈して実験に供した。

結 果

1. 有症事例由来検体

事例1の炙りマグロから6つの極嚢を有するクドアが観察された(図1)。孢子数は 1.4×10^8 個/gであり、特異的リアルタイムPCRではKhのみ陽性でそのコピー数は 2.4×10^{11} /gであった(別表1)。



図1 事例1のクロマグロ若魚(ヨコワ)の炙りから確認されたムツボシクドアのシュードシストと孢子(右下)。6個の極嚢が観察できる。

事例2のマダイの寿司2貫のうち1貫のネタ検体から直径1~2mmのシストが3個確認された(図2)。シスト1個をスライドガラス上で潰し、光学顕微鏡で観察したところ、4つの極嚢を有するクドアが確認された(図3)。他1個のシストについて孢子数を計数したところ、 1.5×10^6 個/シストであった(別表1)。28SrDNAのダイレクトシーケンスによって得られた塩基配列761塩基対(LC886092)を用いて相同性検索を実施した結果、日本近海産および中国浙江省産、韓国産Kiの同配列と100%一致したことから、本事例のクドアはKiと同定された。肉眼的にシストを確認できない筋肉からは、クドアの遺伝子は検出されなかった。なお、患者便からはクドアの遺伝子は検出されなかった。

2. 流通マグロ類およびサワラにおける粘液孢子虫の検出状況

顕微鏡検査において、クロマグロ成魚における粘液孢子虫の陽性率は29%(15/52)、若魚では69%(11/16)であり、その孢子数は成魚と若魚で 5.0×10^3

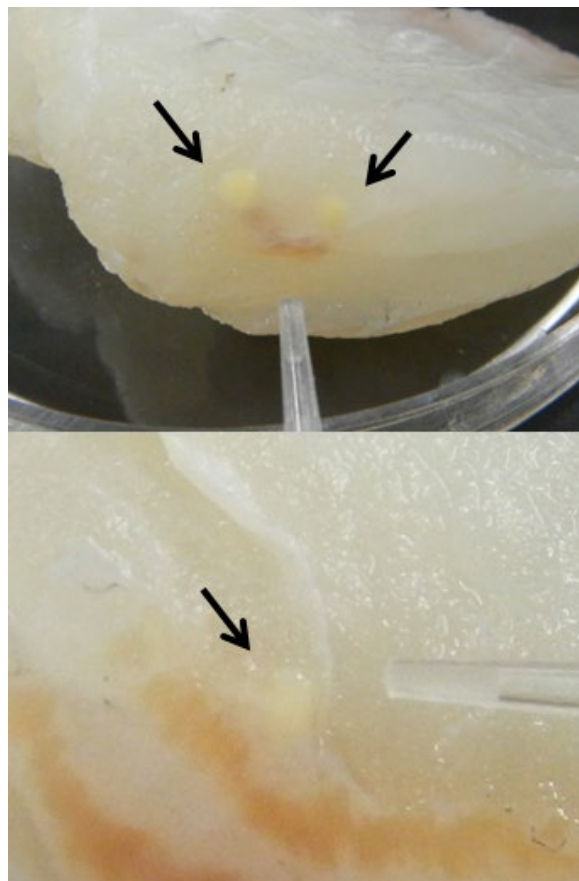


図2 事例2のマダイ切り身の外観とシスト3個(矢印)。

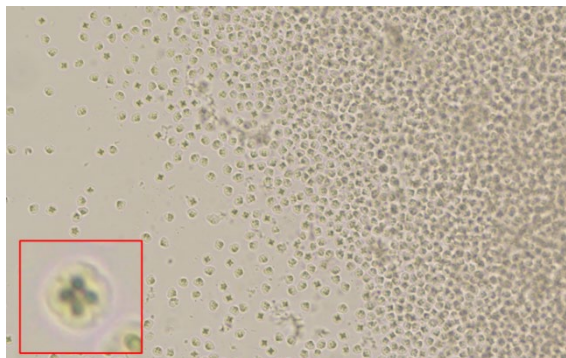


図3 事例2のシストを潰して光学顕微鏡で観察された孢子とその拡大(左下)。4個の極嚢が観察できる。

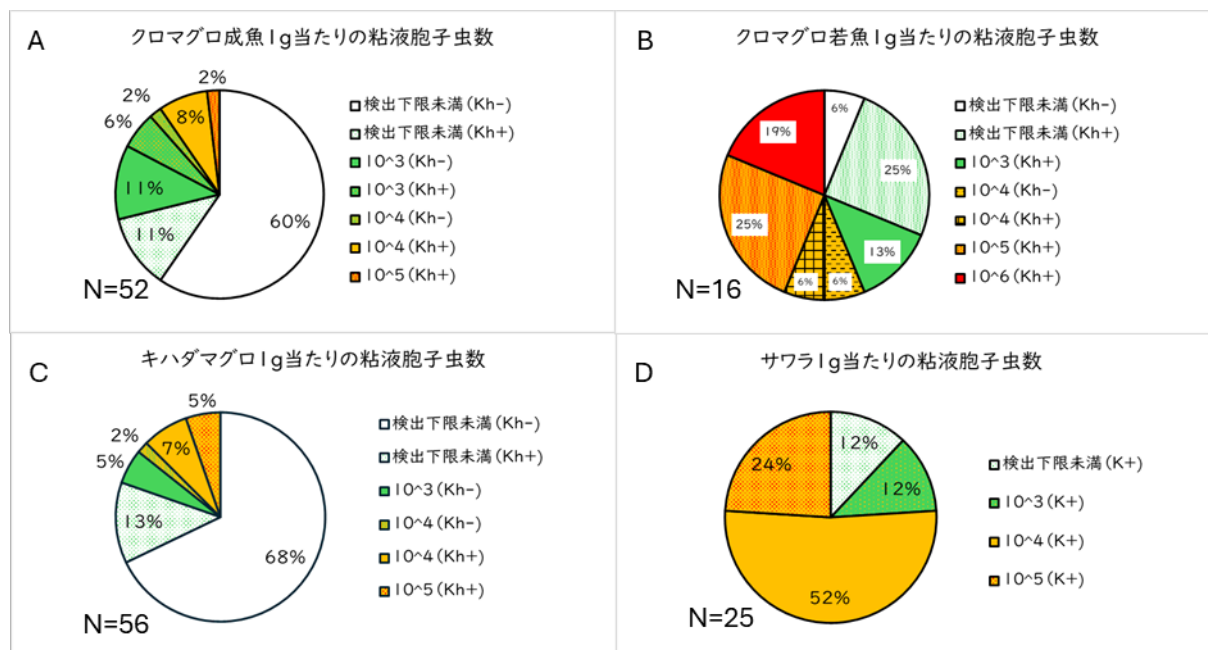


図4 検出胞子数のオーダーごとに占める検体の割合。A：クロマグロ成魚、B：クロマグロ若魚（ヨコワ）、C：キハダマグロ、D：サワラ。（）内は遺伝子検査の結果を示す。

表1 流通鮮魚における粘液胞子虫の検出状況と陽性率

魚種	学名	検体数	顕微鏡検査（陽性）		顕微鏡検査（陰性）		顕微鏡検査陽性率（%）	遺伝子検査陽性率（%）
			遺伝子検査（陽性）	遺伝子検査（陰性）	遺伝子検査（陽性）	遺伝子検査（陰性）		
クロマグロ 成魚 ^{*1}	<i>Thunnus orientalis</i>	52	8	7	6	31	29	27
クロマグロ 若魚	または <i>Thunnus thynnus</i>	16	10	1	4	1	69	88
キハダマグロ ^{*2}	<i>Thunnus albacares</i>	56	7	4	7	38	20	25
メバチマグロ ^{*3}	<i>Thunnus obesus</i>	28	0	4	0	24	14	0
ミナミマグロ ^{*4}	<i>Thunnus maccoyii</i>	7	0	1	0	6	14	0
ピンナガマグロ	<i>Thunnus alalunga</i>	1	0	0	0	1	0	0
サワラ	<i>Scomberomorus niphonius</i>	25	22	0	3	0	88	100

*1 国外産2検体含む；*2 国外産24検体含む；*3 国外産26検体含む；*4 国外産3検体含む

個～3.8×10⁶個/g あった（表1、図4A、B、別表1）。一方、遺伝子検査では、検出された胞子数の程度によっては、顕微鏡検査の結果で陽性または陰性の検体が逆の結果になるなど、両検査法で成績が異なる検体があった。遺伝子検査による Kh 陽性率は、成魚では 27%（14/52）、若魚では 88%（14/16）と、若魚の方が高かった（表1）。

キハダマグロにおいては、顕微鏡検査の陽性率は 20%（11/56）であり、胞子数は 5.0×10³ 個～5.8×10⁵ 個/g 程度であった（表1、図4C、別表2）。遺伝子

検査による Kh 陽性率は 25%（14/56）であった（表1）。

一方、メバチマグロ（28）、ミナミマグロ（7）、ピンナガマグロ（1）からは、クドア様の胞子がわずかに確認された（5.0×10³ 個～1.0×10⁴ 個/g）ものの、クドアの遺伝子は検出されなかった（表1、別表3）。また、Kn の遺伝子は、調査した流通マグロ類すべてから検出されなかった（別表1-3）。

サワラでは切り身表面に異常を認めなかったが、顕微鏡観察では、6 個の極嚢を有する胞子が確認さ

れ(図5)、その陽性率は88% (22/25) であった(表1、別表4)。胞子数は 5.0×10^3 個 $\sim 2.5 \times 10^5$ 個/g 程度であり、陽性検体の約半数は 10^4 個/g 程度であった(図4D)。遺伝子検査によるクドア陽性率は100% (25/25) であった(表1)。*cox1* の系統樹解析の結果、陽性検体から検出されたクドアはすべて *K. konishiae* (Kk) であった(図6)。Kk は新潟県 \sim 福井県の日本海側、三重県、和歌山県の太平洋側のサワラから検出された(別表4)。

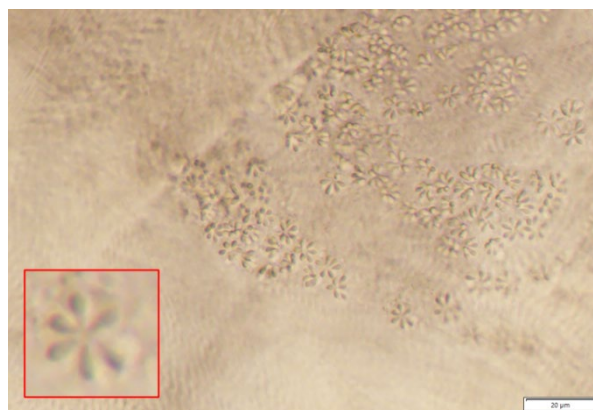


図5 サワラから確認された *Kudoa konishiae* の胞子とその拡大(左下)。6 個の極囊が観察できる。

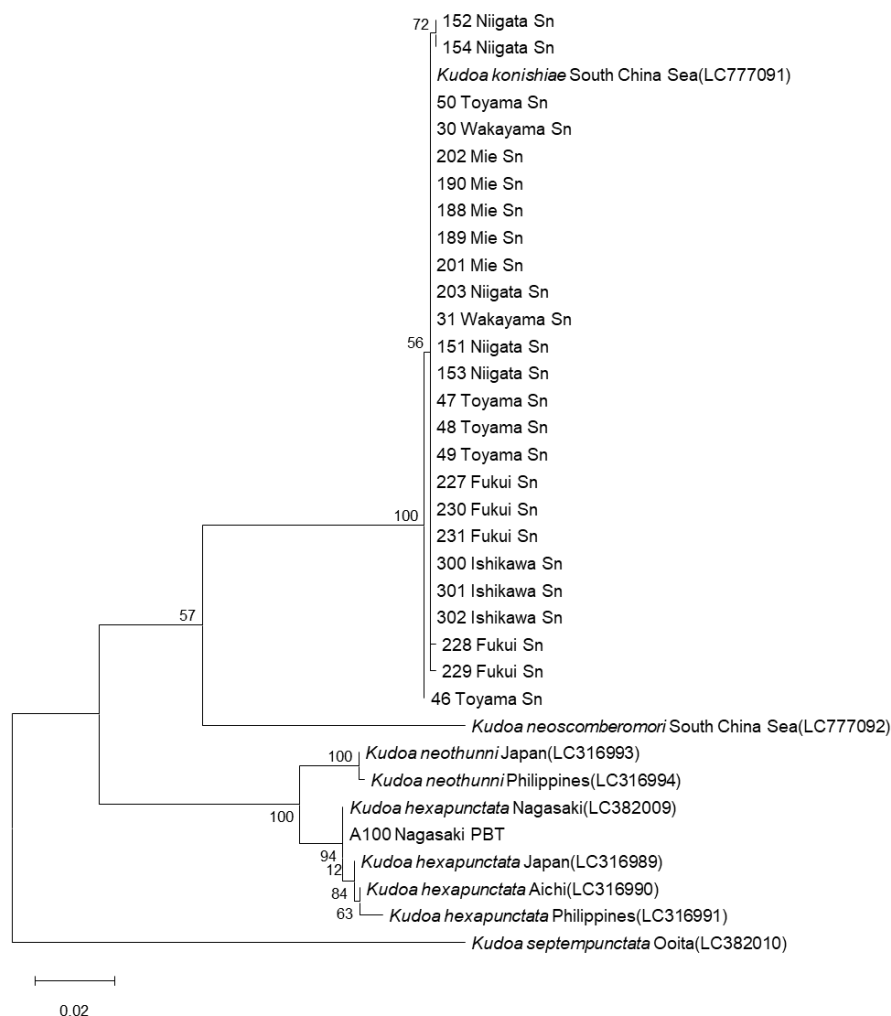


図6 ミトコンドリア DNA*cox1* 領域に基づいた分子系統樹(最尤法で構築)。ID 番号、産地、宿主(Sn はサワラ、PBT はクロマグロ)を示す。参照配列の宿主は省略した。

3. リアルタイム PCR の検出感度と Kh 特異的コンベンショナル PCR の有用性

クドア属特異的、Kh 特異的リアルタイム PCR 試験系について、孢子数を計数した検体から抽出した DNA を用いて、 10^{-1} から 10^{-7} まで段階希釈したサンプルを検査した結果、クドア属および Kh 特異的リアルタイム PCR 試験系ともに 10^{-1} から 10^{-5} 希釈まで陽性が確認されたが、 10^{-6} 希釈からは陰性となった (図 7)。 10^{-5} 希釈時のチューブ当たりの孢子数はクドア属特異的 PCR、Kh 特異的 PCR それぞれ、 4.5×10^4 個、 4.1×10^2 個であり、検出下限と推定された。

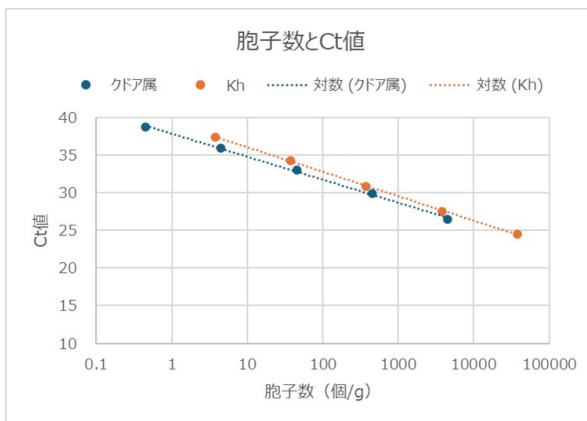


図7 孢子数計数済の検体由来 DNA を用いたスクリーニング用クドア属特異的リアルタイム PCR および Kh 特異的リアルタイム PCR の検出限界。

クドア属特異的リアルタイム PCR で陽性となり Kh 特異的リアルタイム PCR で陰性となった検体は 1 検体 (ID373 キハダマグロ由来) であった。その検体と比較のために他の 5 検体について、Arai et al.(2020)³⁰⁾の方法を参考に 1st PCR を実施したところ、Kh 特異的リアルタイム PCR の Ct 値が 35.1 以下の検体については増幅が見込まれる 197 bp の産物が確認された (図 8)。20 倍希釈した 1st PCR 産物を用いて 2nd PCR を実施したところ、Ct 値が 35 以上のものでも増幅し (図 8)、当該検体のクドアは Kh と確認された。

考 察

1. 既報の有症事例との比較

(1) 発生時期・潜伏期間について

Kh によると考えられている有症事例の発生は、

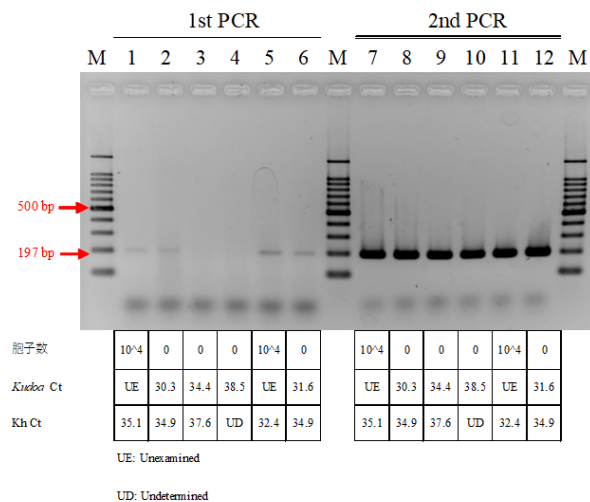


図 8 クドア属特異的リアルタイム PCR で陽性となったが、Kh 特異的リアルタイム PCR で陰性となった検体について (レーン 4 と 10)、コンベンショナル PCR を実施した泳動像。検鏡により確認されたものについては、スクリーニングを実施していない (レーン 1, 5, 7, 11: Unexamined)。M はサイズスタンダードを示す。Kh であれば 197bp が増幅される³⁰⁾。

新潟県では、6 月に 1 件、7 月に 3 件、8 月に 1 件、9 月に 1 件^{3), 6)}、東京都では 6~7 月に多く⁷⁾、夏季に多い傾向がある。事例 1 はこれらの知見の最も発生している時期に合致した。Ki によると考えられている有症事例の発生は、7 月に 1 件、8 月に 3 件、9 月に 2 件、11 月に 1 件、12 月に 2 件と通年的な傾向である^{14-15), 18-19), 39)}。Ki は様々な魚種に寄生することが知られており⁴⁰⁾、それらの魚種に応じて旬や流通量も多様であることによると考えられる。

事例 1 の潜伏期間である 4~9.5 時間について、先行研究では、2~12 時間と報告されている^{3), 6), 9), 11)}。事例 2 の潜伏期間である 4~10 時間について、先行研究では、2~21 時間と報告されており^{15), 18-19)}、2 つの事例において、どちらも既報の範囲内であり大きな矛盾はなかった。

(2) 孢子数およびコピー数

過去の有症事例における喫食残品の Kh の孢子数およびコピー数は、 $7.2 \times 10^5 \sim 4.9 \times 10^7$ 個/g、 $4.2 \times 10^8 \sim 2.9 \times 10^{10}$ コピー/g と報告されている^{3), 5), 7)}。本事例 1 では、孢子数は既報の最大値の 2~3 倍、コピー数は約 10 倍であり、発症するには十分な密度の孢子

数であったと考えられた。

Ki のシスト 1 個当たりの孢子数は、スズキにおいて 6.1×10^5 、サワラにおいて 5.3×10^6 と報告されている¹⁹⁾。また、筋肉 1g 当たりの Ki についてはスズキにおいて 8.25×10^7 個/g と報告されている¹⁸⁾。本事例 2 の孢子数はこれらの値の範囲内であり、既報の結果を裏付けた。Ki のシストは目視で確認できるため、3 枚下ろしの切り身等で発見した場合はシストを除くことができると考えられるが、魚肉内部にシストがある場合は見逃され、すべてのシストを取り除くことは困難であると考えられる。また、シストのない筋肉部からも Ki の孢子や遺伝子を検出した事例があるため⁴¹⁻⁴²⁾、シストが確認されたものは廃棄あるいは冷凍加熱後の提供が望ましい¹⁹⁾。発症には摂取した孢子数が関係することから⁴³⁾、今後は喫食残品等でのシストの数や密度を計数する必要があると考えられる。事例 2 の患者便からクドア属が検出されなかった理由としては、採便が発症日から 1 週間程度経ってから実施されたためと考えられる。患者便からのクドア属の検出については、発症後 3 日程度で検出率が下がることが知られており³⁾、発症から早期の検体採取が望ましい。

(3)Ki の宿主について

有症事例の喫食残品から Ki が検出された魚種として、ヘダイ¹²⁾、イシダイ¹⁵⁻¹⁶⁾、クロダイ¹⁶⁾、スズキ⁷⁾、¹³⁻¹⁴⁾、¹⁸⁻¹⁹⁾、サワラ¹⁹⁾が知られているが、マダイからの検出は国内では未報告であった。マダイは養殖天然問わず広く流通し、消費量も多い最もポピュラーな魚種の一つであるため、注意が必要である。

一方、有症事例の喫食残品からではなく、日本を含む東アジア近海産の魚から Ki が確認された宿主として、イシガキダイ⁴⁴⁾、マダイ⁴⁴⁻⁴⁷⁾、クロダイ¹⁶⁾、⁴⁵⁾、⁴⁸⁻⁴⁹⁾、キチヌ^{13,42)}、ブリ⁵⁰⁾、サワラ⁵¹⁾、スズキ¹³⁾、⁴¹⁾、⁴⁹⁾、⁵²⁾、マゴチ⁴⁸⁾、⁵³⁻⁵⁴⁾、フウセイ⁵⁵⁾があり、コイチから発見されたシストも Ki と考えられている^{40,48)}。今後は、有症事例においてこれらの魚種の喫食歴があれば、Ki の可能性を考慮する必要がある。また、上記のように Ki は、宿主特異性が低いと考えられており、他の魚種からも確認される可能性は十分に考えられる。

2. 流通マグロ類およびサワラにおける粘液孢子虫の検出状況

Suzuki et al.(2015)⁹⁾は、クロマグロの Kh 陽性率と

して成魚において 10.4% (7/67)、若魚において 64.4% (67/104) と報告しており、また外国産のメバチマグロやミナミマグロから Kh は検出されなかったと報告している。本調査での Kh 陽性率は、これらの結果より少し高かったが同様の傾向であった。しかし、成魚からの Kh 陽性率が 90% (26/29) という調査結果もあり³⁰⁾、検出方法の違いが原因かもしれないが、さらなる調査が望まれる。東京都においてはクロマグロ成魚の喫食による有症事例は発生しておらず⁷⁾、またマグロは成長するとともに Kh が検出されなくなるため⁵⁾、今のところ過剰に心配する必要はないと考えられる。クロマグロの Kn 陽性率は、10% (3/29) と報告されているが³⁰⁾、本研究では検出されなかった。Kn を疑う有症事例もある⁸⁾、²⁰⁾ことから、引き続き調査が必要である。

一方、キハダマグロにおける Kh の陽性率は 11%(1/9)⁵⁾、75% (3/4)³⁰⁾と報告されているが、検体数が少なく、情報が不足している。滝沢ら (2024)¹¹⁾によると、111 名もの患者を出した Kh の事例で原因食品とされたキハダマグロは輸入品であり、漁獲から冷凍されることなく流通し提供されたことがわかっている。近年、韓国で養殖されたクロマグロから Kh が検出されており⁵⁶⁾、今後は生の輸入品を対象とした検査も実施することが望ましい。本研究では台湾産キハダマグロから Kh が検出されたが、冷凍品であった。クロマグロにおける本結果や Suzuki et al.(2015)⁹⁾の知見を考慮すると、今後は若魚(いわゆるキメジ)における情報の蓄積が望まれる。

サワラにおいては、Ki を疑う有症事例が発生している¹⁹⁾。Kk は、山口県および鹿児島県産のサワラから初めて報告され³⁸⁾、近年、フィリピン海や南シナ海広東省湛江市においても確認されている⁵⁷⁾が、国内他海域の分布は明らかではなかった。本研究では、日本海中部、太平洋側中部においても Kk が確認され、広く分布することが示唆された。Kk のヒトへの病原性や発症に至る孢子数は不明であるが、高い陽性率と孢子密度を考慮すると、生で大量に喫食するのは注意した方が良くもしい。また、クドアが疑われる有症事例でサワラの喫食歴がある場合、喫食残品の検査において Ks や Kh と同様に、肉眼観察では見逃す可能性がある Kk にも注意を払う必要がある。

3.リアルタイム PCR の検出感度と Kh 特異的コンベンショナル PCR の有用性

本研究では、クドア属特異的および Kh 特異的リアルタイム PCR の試験系について 10^5 希釈まで増幅が確認された。この実験では計数後の検体から抽出した DNA を使用しているため、計算上は 1g 当たり数個の孢子でも検出できると推測された。ただし、本調査では、DNA 抽出の際の検体量においてエタノール固定による脱水を考慮していないこと、複数検体で試験していないこと、複数回繰り返していないことから、未固定の検体を用いて再試験が必要と考えている。

2nd PCR によって増幅を確認する方法は、Us でも使用されており²⁴⁾、Kh 特異的コンベンショナル PCR 法³⁰⁾を 2 回実施すれば、Kh 特異的リアルタイム PCR で検出限界付近のものであっても陽性か陰性かを確認することができると考えられる。

本結果では、孢子数が約 10^5 個/g 以下のマグロ特に成魚では、Ct 値に大きなばらつきがみられた(別表 1,2)。また、顕微鏡検査において検出下限未満と判定されたものの中には、Ct 値が最小 23.6 のものもあるなど、両検査法の結果に乖離が生じた。その原因として、同一個体内における部位間による Ct 値の違い⁵⁾や、同一部位検体内における局所的なシェードシストあるいは孢子の偏りが考えられる。また、マグロの成長により Kh が検出されなくなることが報告されているため⁵⁾、孢子は消失したが、残存した DNA を検出した可能性も考えられる。成魚の検査を実施する際には、いくつかの部位を混ぜるなどの対策が必要である。Ks の顕微鏡観察による孢子数の検出限界は、通知に基づくと 10^5 個/g とされており、ばらつきが大きくなるという点において、Kh もこの検出限界にしたがうことが望ましいと考えられた。

本研究は、地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所倫理審査委員会の承認を得て(承認番号 1808-04-4)、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」を順守して実施したものである。

謝 辞

本調査にあたり疫学情報の収集にご協力いただきました大阪市健康局生活衛生課食品衛生グループの皆様、大阪市保健所食品衛生監視員の方々に感謝いたします。

開示すべき利益相反はない。

別表1 有症事例由来検体および流通クロマグロにおける粘液胞子虫の孢子数と Ct 値

ID	検鏡日	魚種	備考	状態	天然/養殖	産地	孢子数/g	K Ct値 ^{*2}	Kn Ct値	Kn Ct値
A100	2022/7/8	クロマグロ	ヨコワ	炙り	天然	長崎	1.4×10 ⁸	UE	15.7	UD
A105	2022/8/8	マダイ	寿司ネタ1のシストのない筋肉	生	養殖	和歌山	*	UD	UE	UE
A106	2022/8/8	マダイ	寿司ネタ1のシスト	生	養殖	和歌山	1.5×10 ⁶ *1	18.7	UE	UE
A108	2022/8/8	マダイ	寿司ネタ2のシストのない筋肉	生	養殖	和歌山	*	UD	UE	UE
61	2024/6/18	クロマグロ		生	不明	鳥取	4.5×10 ⁴	UE	27.8	UD
87	2024/7/18	クロマグロ		生	養殖	三重	1.0×10 ⁴	UE	UD	UD
88	2024/7/18	クロマグロ		生	不明	北海道	5.0×10 ³	UE	31.8	UD
96	2024/7/25	クロマグロ		生	養殖	長崎	5.0×10 ³	UD	UD	UD
97	2024/7/25	クロマグロ		冷凍	養殖	マルタ	*	UD	UE	UE
98	2024/8/1	クロマグロ		生	天然	宮城	*	39.4	37.8	UD
99	2024/8/1	クロマグロ		生	養殖	三重	*	UD	UE	UE
104	2024/8/8	クロマグロ		生	天然	宮城	5.0×10 ³	UD	UD	UD
105	2024/8/8	クロマグロ		生	養殖	三重	*	UD	UE	UE
110	2024/8/22	クロマグロ		生	養殖	三重	5.0×10 ³	UD	UE	UE
114	2024/8/22	クロマグロ		冷凍	養殖	マルタ	*	UD	UE	UE
120	2024/8/29	クロマグロ		生	養殖	長崎	*	UD	UE	UE
126	2024/9/5	クロマグロ		生	養殖	三重	*	UD	UE	UE
127	2024/9/5	クロマグロ		生	天然	宮城	*	UD	UE	UE
130	2024/9/12	クロマグロ		生	天然	青森	5.0×10 ³	UD	UD	UD
132	2024/9/12	クロマグロ		生	養殖	愛媛	5.0×10 ³	UD	UD	UD
140	2024/9/19	クロマグロ		生	養殖	三重	*	UD	UE	UE
141	2024/9/26	クロマグロ		生	養殖	長崎	*	UD	UE	UE
148	2024/10/3	クロマグロ		生	天然	宮城	*	32.5	34.3	UD
149	2024/10/3	クロマグロ		生	養殖	長崎	*	33.9	35.3	UD
204	2024/10/10	クロマグロ		生	天然	宮城	*	35.3	35.9	UD
205	2024/10/10	クロマグロ		生	養殖	宮城	*	UD	UE	UE
210	2024/10/17	クロマグロ		生	天然	宮城	*	UD	UE	UE
212	2024/10/17	クロマグロ		生	養殖	長崎	*	UD	UE	UE
218	2024/10/24	クロマグロ		生	養殖	長崎	*	UD	UE	UE
219	2024/10/24	クロマグロ		生	天然	宮城	*	UD	UE	UE
222	2024/10/31	クロマグロ		生	養殖	長崎	*	UD	UE	UE
223	2024/10/31	クロマグロ		生	天然	宮城	*	UD	UE	UE
225	2024/10/31	クロマグロ		生	天然	青森	5.0×10 ³	31.4	32.9	UD
245	2024/11/5	クロマグロ	ヨコワ	生	天然	鳥取	1.0×10 ⁴	29.6	32.6	UD
246	2024/11/5	クロマグロ	ヨコワ	生	天然	鳥取	*	32.4	35.5	UD
247	2024/11/5	クロマグロ	ヨコワ	生	天然	鳥取	*	33.4	36.6	UD
263	2024/11/14	クロマグロ		生	養殖	長崎	*	UD	UE	UE
264	2024/11/14	クロマグロ		生	天然	宮城	6.0×10 ⁴	32.8	35.2	UD
268	2024/11/21	クロマグロ		生	養殖	長崎	1.5×10 ⁴	34.0	35.5	UD
273	2024/11/28	クロマグロ		生	養殖	三重	*	UD	UE	UE
277	2024/12/5	クロマグロ		生	養殖	長崎	*	UD	UE	UE
278	2024/12/5	クロマグロ		生	天然	宮城	1.5×10 ⁵	35.0	37.8	UD
280	2024/12/12	クロマグロ		生	養殖	三重	*	34.8	35.2	UD
322	2025/1/16	クロマグロ		生	養殖	和歌山	*	UD	UE	UE
324	2025/1/16	クロマグロ		生	天然	富山	*	UD	UE	UE
328	2025/1/23	クロマグロ		生	天然	高知	*	UD	UE	UE
329	2025/1/23	クロマグロ		生	養殖	三重	*	UD	UE	UE
332	2025/1/30	クロマグロ		生	養殖	長崎	*	UD	UE	UE
334	2025/2/1	クロマグロ	ヨコワ	生	天然	富山	*	UD	UE	UE
335	2025/2/1	クロマグロ	ヨコワ	生	天然	富山	5.0×10 ³	21.1	28.2	UD
336	2025/2/1	クロマグロ	ヨコワ	生	天然	富山	*	25.5	28.9	UD
337	2025/2/1	クロマグロ	ヨコワ	生	天然	富山	1.0×10 ⁴	UE	UD	UD
338	2025/2/6	クロマグロ		生	養殖	和歌山	*	UD	UE	UE
339	2025/2/6	クロマグロ		生	養殖	三重	5.0×10 ³	UE	UD	UD
343	2025/2/7	クロマグロ	ヨコワ	生	天然	富山	1.0×10 ⁶	UE	24.0	UD
344	2025/2/7	クロマグロ	ヨコワ	生	天然	富山	3.8×10 ⁶	UE	22.6	UD
345	2025/2/7	クロマグロ	ヨコワ	生	天然	富山	6.9×10 ⁵	UE	22.6	UD
346	2025/2/7	クロマグロ	ヨコワ	生	天然	富山	1.6×10 ⁶	UE	25.4	UD
347	2025/2/8	クロマグロ	ヨコワ	生	天然	富山	3.8×10 ⁵	UE	22.1	UD
348	2025/2/8	クロマグロ	ヨコワ	生	天然	富山	3.1×10 ⁵	UE	23.7	UD
349	2025/2/12	クロマグロ	ヨコワ	生	天然	長崎	*	20.5	23.6	UD
350	2025/2/12	クロマグロ	ヨコワ	生	天然	長崎	1.0×10 ⁴	UE	26.0	UD
352	2025/2/13	クロマグロ		生	天然	宮城	1.5×10 ⁴	UE	35.1	UD
353	2025/2/13	クロマグロ		生	養殖	三重	*	30.3	34.9	UD
355	2025/2/15	クロマグロ	ヨコワ	生	天然	長崎	1.0×10 ⁵	UE	23.6	UD
362	2025/2/20	クロマグロ		生	養殖	三重	*	UD	UE	UE
363	2025/2/20	クロマグロ		生	天然	宮城	*	UD	UE	UE
366	2025/2/27	クロマグロ		生	養殖	長崎	*	UD	UE	UE
374	2025/3/6	クロマグロ		生	養殖	長崎	*	UD	UE	UE
375	2025/3/6	クロマグロ		生	養殖	大分	*	UD	UE	UE
378	2025/3/13	クロマグロ		生	養殖	長崎	*	UD	UE	UE
379	2025/3/13	クロマグロ		生	天然	宮城	*	31.6	34.9	UD

*は検出下限未満を示す

*1シスト1個当たりの孢子数

*2クドア属特異的リアルタイムPCRにおけるCt値

UEは検査を実施していないこと、UDは検査を実施してCt値が得られなかったことを示す

別表2 流通キハダマグロにおける粘液胞子虫の胞子数と Ct 値

ID	検鏡日	魚種	状態	天然/養殖	産地	胞子数/g	K Ct値*1	Kh Ct値	Kn Ct値
68	2024/6/18	キハダマグロ	生	不明	沖縄	*	UE	UD	UD
74	2024/6/25	キハダマグロ	生	不明	宮崎	5.8×10 ⁵	UE	23.5	UD
82	2024/6/25	キハダマグロ	生	不明	静岡	2.5×10 ⁴	UE	37.0	UD
83	2024/6/25	キハダマグロ	冷凍	不明	台湾	5.6×10 ⁵	UE	26.2	UD
85	2024/7/18	キハダマグロ	冷凍	天然	韓国	*	UE	UD	UD
86	2024/7/18	キハダマグロ	生	天然	宮崎	5.0×10 ³	UE	UD	UD
92	2024/7/25	キハダマグロ	冷凍	天然	韓国	*	UE	UD	UD
95	2024/7/25	キハダマグロ	生	天然	オーストラリア	*	UD	UE	UE
101	2024/8/1	キハダマグロ	生	天然	宮崎	*	UD	UE	UE
102	2024/8/1	キハダマグロ	冷凍	天然	台湾	*	UD	UE	UE
107	2024/8/8	キハダマグロ	生	天然	高知	1.0×10 ⁴	UD	UD	UD
108	2024/8/8	キハダマグロ	冷凍	天然	台湾	*	UD	UE	UE
111	2024/8/22	キハダマグロ	生	天然	千葉	*	UD	UE	UE
113	2024/8/22	キハダマグロ	冷凍	天然	台湾	*	UD	UE	UE
121	2024/8/29	キハダマグロ	生	天然	静岡	*	34.7	35.4	UD
123	2024/8/29	キハダマグロ	冷凍	天然	台湾	*	UD	UE	UE
125	2024/9/5	キハダマグロ	生	天然	沖縄	*	UD	UE	UE
129	2024/9/5	キハダマグロ	冷凍	天然	台湾	*	UD	UE	UE
131	2024/9/12	キハダマグロ	生	天然	宮城	*	UD	UE	UE
135	2024/9/12	キハダマグロ	冷凍	天然	台湾	*	UD	UD	UD
137	2024/9/19	キハダマグロ	冷凍	天然	台湾	5.0×10 ³	UD	UD	UD
139	2024/9/19	キハダマグロ	生	天然	静岡	8.0×10 ⁴	37.4	38.3	UD
142	2024/9/26	キハダマグロ	生	天然	オーストラリア	*	UD	UE	UE
145	2024/9/26	キハダマグロ	冷凍	天然	台湾	*	UD	UE	UE
150	2024/10/3	キハダマグロ	生	天然	宮城	*	37.5	37.6	UD
206	2024/10/10	キハダマグロ	生	天然	長崎	*	UD	UE	UE
208	2024/10/10	キハダマグロ	冷凍	天然	台湾	*	UD	UE	UE
211	2024/10/17	キハダマグロ	生	天然	高知	*	UD	UE	UE
214	2024/10/17	キハダマグロ	冷凍	天然	台湾	*	UD	UE	UE
215	2024/10/24	キハダマグロ	冷凍	天然	台湾	*	UD	UE	UE
217	2024/10/24	キハダマグロ	生	天然	オーストラリア	*	UD	UE	UE
224	2024/10/31	キハダマグロ	生	天然	高知	1.8×10 ⁵	23.7	25.2	UD
226	2024/10/31	キハダマグロ	冷凍	天然	台湾	*	UD	UE	UE
265	2024/11/14	キハダマグロ	生	天然	高知	3.5×10 ⁴	31.9	34.1	UD
267	2024/11/21	キハダマグロ	冷凍	天然	静岡	*	UD	UE	UE
269	2024/11/21	キハダマグロ	生	天然	千葉	*	37.3	36.2	UD
271	2024/11/28	キハダマグロ	冷凍	天然	静岡	*	UD	UE	UE
274	2024/11/28	キハダマグロ	生	天然	オーストラリア	*	UD	UE	UE
276	2024/12/5	キハダマグロ	冷凍	天然	静岡	*	UD	UE	UE
279	2024/12/5	キハダマグロ	生	天然	千葉	*	UD	UD	UD
281	2024/12/12	キハダマグロ	生	天然	宮崎	*	UD	UE	UE
283	2024/12/12	キハダマグロ	冷凍	天然	台湾	*	UD	UE	UE
323	2025/1/17	キハダマグロ	生	天然	宮崎	5.0×10 ³	23.3	25.3	UD
327	2025/1/23	キハダマグロ	生	天然	宮崎	*	UE	UD	UD
331	2025/1/30	キハダマグロ	生	天然	宮崎	*	23.5	27.4	UD
333	2025/1/30	キハダマグロ	冷凍	天然	台湾	*	UD	UE	UE
340	2025/2/6	キハダマグロ	生	天然	宮崎	*	UD	UE	UE
342	2025/2/6	キハダマグロ	冷凍	天然	静岡	5.0×10 ³	UE	UD	UD
354	2025/2/13	キハダマグロ	生	天然	沖縄	*	34.4	37.6	UD
361	2025/2/20	キハダマグロ	生	天然	千葉	*	UD	UE	UE
364	2025/2/20	キハダマグロ	冷凍	天然	韓国	*	UD	UE	UE
367	2025/2/27	キハダマグロ	生	天然	千葉	*	UD	UE	UE
369	2025/2/27	キハダマグロ	冷凍	天然	台湾	*	UD	UE	UE
373	2025/3/6	キハダマグロ	冷凍	天然	台湾	*	38.5	UD	UD
376	2025/3/6	キハダマグロ	生	天然	宮崎	9.5×10 ⁴	UE	32.4	UD
380	2025/3/13	キハダマグロ	生	天然	千葉	*	UD	UE	UE

*は検出下限未満を示す

*1クドア属特異的リアルタイムPCRにおけるCt値

UEは検査を実施していないこと、UDは検査を実施してCt値が得られなかったことを示す

別表3 流通メバチマグロ・ミナミマグロ・ビンナガマグロにおける粘液胞子虫の孢子数と Ct 値

ID	検鏡日	魚種	状態	天然/養殖	産地	孢子数/g	K Ct値 ^{*1}	Kh Ct値	Kn Ct値
72	2024/6/25	メバチマグロ	生	不明	オーストラリア	*	UE	UD	UD
73	2024/6/25	メバチマグロ	生	不明	オーストラリア	1.0×10^4	UE	UD	UD
84	2024/7/18	メバチマグロ	冷凍	天然	韓国	*	UE	UD	UD
91	2024/7/25	メバチマグロ	冷凍	天然	韓国	*	UE	UD	UD
103	2024/8/1	メバチマグロ	冷凍	天然	韓国	*	UD	UE	UE
112	2024/8/22	メバチマグロ	冷凍	天然	台湾	*	UD	UE	UE
122	2024/8/29	メバチマグロ	冷凍	天然	韓国	*	UD	UE	UE
128	2024/9/5	メバチマグロ	冷凍	天然	静岡県	*	UD	UE	UE
133	2024/9/12	メバチマグロ	冷凍	天然	韓国	5.0×10^3	UD	UE	UE
136	2024/9/19	メバチマグロ	冷凍	天然	台湾	*	UD	UE	UE
143	2024/9/26	メバチマグロ	生	天然	インドネシア	*	UD	UE	UE
144	2024/9/26	メバチマグロ	冷凍	天然	台湾	*	UD	UE	UE
146	2024/10/3	メバチマグロ	冷凍	天然	台湾	*	UD	UE	UE
147	2024/10/3	メバチマグロ	冷凍	天然	台湾	5.0×10^3	UD	UE	UE
207	2024/10/10	メバチマグロ	冷凍	天然	台湾	*	UD	UE	UE
209	2024/10/17	メバチマグロ	冷凍	天然	韓国	*	UD	UE	UE
216	2024/10/24	メバチマグロ	冷凍	天然	韓国	*	UD	UE	UE
261	2024/11/14	メバチマグロ	冷凍	天然	韓国	*	UD	UE	UE
262	2024/11/14	メバチマグロ	生	天然	宮城県	*	UD	UE	UE
266	2024/11/21	メバチマグロ	冷凍	天然	韓国	*	UD	UE	UE
270	2024/11/28	メバチマグロ	冷凍	天然	韓国	*	UD	UE	UE
275	2024/12/5	メバチマグロ	冷凍	天然	韓国	*	UD	UE	UE
321	2025/1/16	メバチマグロ	冷凍	天然	韓国	*	UD	UE	UE
325	2025/1/23	メバチマグロ	冷凍	天然	韓国	*	UD	UE	UE
330	2025/1/30	メバチマグロ	冷凍	天然	台湾	*	UD	UE	UE
351	2025/2/13	メバチマグロ	冷凍	天然	台湾	*	UD	UE	UE
372	2025/3/6	メバチマグロ	冷凍	天然	台湾	5.0×10^3	UD	UE	UE
377	2025/3/13	メバチマグロ	生	天然	台湾	*	UD	UE	UE
89	2024/7/18	ミナミマグロ	生	天然	ニュージーランド*	*	UE	UD	UD
90	2024/7/18	ミナミマグロ	冷凍	天然	日本	*	UE	UD	UD
94	2024/7/25	ミナミマグロ	冷凍	天然	日本	5.0×10^3	UE	UD	UD
100	2024/8/1	ミナミマグロ	生	天然	オーストラリア	*	UD	UE	UE
106	2024/8/8	ミナミマグロ	生	天然	オーストラリア	*	UD	UE	UE
138	2024/9/19	ミナミマグロ	冷凍	天然	静岡	*	UD	UE	UE
282	2024/12/12	ミナミマグロ	冷凍	天然	静岡	*	UD	UE	UE
5463	2025/5/23 ^{*2}	ピンナガマグロ	生	天然	和歌山	*	UD	UE	UE

*は検出下限未満を示す

*1クドア属特異的リアルタイムPCRにおけるCt値

*2入手日は2025/3/19

UEは検査を実施していないこと、UDは検査を実施してCt値が得られなかったことを示す

別表4 流通サワラにおける粘液胞子虫の孢子数と Ct 値

ID	検鏡日	魚種	成魚/若魚	状態	天然/養殖	産地	孢子数/g	K Ct値* ¹	Kh Ct値	Kn Ct値
30	2024/4/12	サワラ		生	天然	和歌山	*	29.4	UE	UE
31	2024/4/12	サワラ		生	天然	和歌山	*	23.8	UE	UE
46	2024/5/8	サワラ	サゴシ	生	天然	富山	1.2×10 ⁵	26.2	UE	UE
47	2024/5/8	サワラ	サゴシ	生	天然	富山	1.6×10 ⁵	24.1	UE	UE
48	2024/5/8	サワラ	サゴシ	生	天然	富山	1.5×10 ⁴	27.5	UE	UE
49	2024/5/8	サワラ	サゴシ	生	天然	富山	1.0×10 ⁴	27.5	UE	UE
50	2024/5/8	サワラ	サゴシ	生	天然	富山	2.5×10 ⁵	26.3	UE	UE
151	2024/10/3	サワラ		生	天然	新潟	2.4×10 ⁵	25.0	UE	UE
152	2024/10/3	サワラ		生	天然	新潟	8.0×10 ⁴	23.6	UE	UE
153	2024/10/3	サワラ		生	天然	新潟	8.0×10 ⁴	24.3	UE	UE
154	2024/10/3	サワラ		生	天然	新潟	7.0×10 ⁴	24.8	UE	UE
188	2024/10/7	サワラ		生	天然	三重	1.3×10 ⁵	26.3	UE	UE
189	2024/10/7	サワラ		生	天然	三重	8.0×10 ⁴	25.6	UE	UE
190	2024/10/7	サワラ		生	天然	三重	2.5×10 ⁴	28.9	UE	UE
201	2024/10/7	サワラ		生	天然	三重	1.5×10 ⁴	27.1	UE	UE
202	2024/10/7	サワラ		生	天然	三重	5.5×10 ⁴	25.0	UE	UE
203	2024/10/7	サワラ		生	天然	新潟	1.0×10 ⁴	27.6	UE	UE
227	2024/11/5	サワラ		生	天然	福井	7.0×10 ⁴	23.8	UE	UE
228	2024/11/5	サワラ		生	天然	福井	1.5×10 ⁵	25.8	UE	UE
229	2024/11/5	サワラ		生	天然	福井	5.0×10 ³	25.7	UE	UE
230	2024/11/5	サワラ		生	天然	福井	4.5×10 ⁴	23.4	UE	UE
231	2024/11/5	サワラ		生	天然	福井	2.0×10 ⁴	25.9	UE	UE
300	2025/1/16	サワラ		生	天然	石川	5.0×10 ³	25.1	UE	UE
301	2025/1/16	サワラ		生	天然	石川	5.0×10 ³	28.2	UE	UE
302	2025/1/16	サワラ		生	天然	石川	*	24.8	UE	UE

*は検出下限未満を示す

*1クドア属特異的リアルタイムPCRにおけるCt値

UEは検査を実施していないこと、UDは検査を実施してCt値が得られなかったことを示す

文 献

- 1) Kawai T, Sekizuka T, Yahata Y, Kuroda M, Kumeda Y, Iijima Y, Kamata Y, Sugita-Konishi Y, Ohnishi T. Identification of *Kudoa septempunctata* as the causative agent of novel food poisoning outbreaks in Japan by consumption of *Paralichthys olivaceus* in raw fish. *Clini Inf Dis* 2012; **54**: 1046-1052.
- 2) Harada T, Kawai T, Jinnai M, Ohnishi T, Sugita-Konishi Y, Kumeda Y. Detection of *Kudoa septempunctata* 18S ribosomal DNA in patient fecal samples from novel food-borne outbreaks caused by consumption of raw olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *J Clin Microbiol* 2012; **50**: 2964-2968.
- 3) 川瀬雅雄, 吉岡丹, 細谷美佳子, 紫竹美和子. *Kudoa hexapunctata* 寄生メジマグロが原因と疑われる有症事例と患者便検査に関する検討. *日本食品微生物学会雑誌* 2015; **32**: 48-53.
- 4) 宝田智沙, 佐々木祐, 廣島愛弓, 市場監視係一同, 衣笠俊之, 岡本菜月, 鈴木淳, 村田理恵. マグロ類の粘液胞子虫(クドア属)の寄生実態調査. *食品衛生研究* 2015; **65**: 39-45.
- 5) Suzuki J, Murata R, Yokoyama H, Sadamasu K, Kai A. Detection rate of diarrhoea-causing *Kudoa hexapunctata* in Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* from Japanese waters. *Int J Food Microbiol* 2015; **194**: 1-6.
- 6) 川瀬雅雄, 猪又明日香, 木村有紀, 白幡祐子, 紫竹美和子, 岡田涼, 安齋久恵. *Kudoa hexapunctata* が原因と疑われる有症事例の発生—新潟県. *病原微生物検出情報* 2016; **37**: 238.
- 7) 鈴木淳. 都内の粘液胞子虫がかかわる有症事例と魚介類の感染実態調査. *日本食品微生物学会雑誌* 2017; **34**: 84-88.
- 8) 野田万希子, 山口智博, 酢谷奈津, 門倉由紀子, 奥田智子, 小山由美子, 水野卓也, 後藤黄太郎, 小林香夫. 食中毒・有症苦情事例のヒラメ及びマグロ検体から検出されたクドア属粘液胞子虫の形態学的特徴と遺伝子配列による種同定. *岐阜県保健環境研究所報* 2016; **24**: 1-6.
- 9) Tachibana T, Watarai T. A novel case of food poisoning caused by the consumption of Pacific bluefin tuna infected with *Kudoa hexapunctata*. *Clin Case Rep* 2021; **9**: e04222
- 10) Takashima Y, Suda T, Oishi N, Matsushita E. A rare case of food poisoning by *Kudoa hexapunctata*. *BMJ Case Rep* 2021; **14**: e246111.
- 11) 滝沢和央, 八巻裕一, 星智樹, 佐藤千尋, 高野美紀子, 橋本正行, 大西貴弘. *Kudoa hexapunctata* が原因と疑われる食中毒事例の発生—福島市. *病原微生物検出情報* 2024; **45**: 68-69.
- 12) 鈴木淳, 日向綾子, 村田理恵, 貞升健志, 甲斐明美. 東京都内で発生したクドアが原因と考えられる下痢症について. *病原微生物検出情報* 2012; **33**: 153-155.
- 13) 青山奈都子, 渡邊朋恵, 道越勇樹, 佐原啓二, 川森文彦. クドア・セブテンプクタータ以外のクドアが病因物質と疑われた有症事例について. *麻布大学雑誌* 2015; **26**: 67.
- 14) 鈴木淳, 村田理恵, 新開敬行, 貞升健志. 都内で発生したクドアによる食中毒事例. *Clinical Parasitology* 2015; **26**: 104-106.
- 15) 中堂園文子, 御供田睦代, 岩元由佳, 穂積和佳, 石谷完二, 岩切忠文. 食中毒疑い事例から検出した *Kudoa iwatai* の一事例. *Ann. Rep. Kagoshima Pref. Inst. for E. R. and P. H.* 2015; **16**: 60-62.
- 16) 大西貴弘, 都丸亜希子, 吉成知也, 鎌田洋一, 小西良子. 生鮮魚介類の生食に関連した有症苦情事例残品に含まれる粘液胞子虫の検出. *日本食品微生物学会雑誌* 2016; **33**: 150-154.
- 17) 鈴木淳, 日向綾子, 村田理恵, 新開敬行, 貞升健志. 都内における粘液胞子虫が原因と推定された下痢症事例. *Clini Parasitol* 2016; **27**: 54-56.
- 18) 塚田竜介, 井川由樹子, 小野諭子, 和田純子, 北條博夫, 小平満, 大西貴弘. *Kudoa iwatai* が原因と疑われた有症苦情事例について—長野県. *病原微生物検出情報* 2018; **39**: 224-225.
- 19) 浅沼貴文, 竹原裕代, 柴田瑞葉, 佐藤葉子, 島村好彦, 永井幹美, 山本秀樹, 高橋直人, 小野田早恵, 鈴木史恵, 金澤裕司, 木下純, 八木謙二. *Kudoa iwatai* が原因と疑われる有症事例の背景と啓発の必要性について. *病原微生物検出情報* 2022; **43**: 97-99.
- 20) 田崎穂波, 竹村明浩, 堀田千恵美, 追立のり子, 西嶋陽奈, 福井聡子, 松本真侑, 吉森和宏, 小川知子, 鈴木淳. *Kudoa neothunni* の感染したキハダマグロが原因食品疑われた有症事例. *千葉県衛研年報* 2018; **67**: 51-54.
- 21) Yokoyama H, Abe N, Maehara T, Suzuki J. First record of *Unicapsula seriola* (Myxozoa:

- Multivalvulida) from the muscle of Malabar grouper *Epinephelus malabaricus* in Japan. *Parasitol Int* 2014; **63**: 561-566.
- 22) 丸山暁人, 藤田愛理, 池上絵理子, 野島誠治, 難波利元, 田渕文子. カンパチに寄生した *Kudoa* 属に近縁な粘液胞子虫 *Unicapsula seriolae* の関与が疑われる集団有症事例ー広島県. *病原微生物検出情報* 2018; **39**: 225-226.
- 23) 大西貴弘, 小原徹也, 新井沙倉, 吉成知也, 小西良子. 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. *食品衛生学雑誌* 2018; **59**: 24-29.
- 24) 綿引正則, 内田薫, 加藤智子, 金谷潤一, 木全恵子, 磯部順子. クドア属粘液胞子虫の18S リボソーム RNA 遺伝子を広く検出PCR法を用いて *Unicapsula seriolae* を検出した有症苦情事例. *日本食品微生物学会雑誌* 2019; **36**: 110-114.
- 25) 古賀舞香, 中野朝美, 田上紗弥加, 光安志織, 松永典久, 佐野由紀子. 粘液胞子虫 *Unicapsula seriolae* の関与が疑われる集団有症事例ー福岡市. *病原微生物検出情報* 2021; **42**: 287-288.
- 26) 八木田健司. クドア食中毒の現在と今後の問題. *病原微生物検出情報* 2025; **46**: 12-13.
- 27) Abe N, Maehara T. Molecular characterization of kudoid parasites (Myxozoa: Multivalvulida) from somatic muscles of Pacific blue fin (*Thunnus orientalis*) and yellowfin (*T. albacores*) tuna. *Acta Parasitologica* 2013; **58**: 226-230.
- 28) Jeon CH, Do JW, Nam JW, Kim UH, Kim JH. Development of PCR method for detection of *Kudoa iwatai* (Myxozoa: Multivalvulida) from rock bream *Oplegnathus fasciatus*. *Parasitol Res* 2017; **116**: 789-796.
- 29) Kasai A, Tsuduki H, Jimenez LA, Li YC, Tanaka S, Sato H. Incidence of three *Kudoa* spp., *K. neothunni*, *K. hexapunctata*, and *K. thunni* (Myxosporidia: Multivalvulidae), in *Thunnus* tunas distributed in the western Pacific Ocean. *Parasitol Res* 2017; **116**: 1137-1150.
- 30) Arai S, Yoshinari T, Terajima J, Hara-Kudo Y, Ohnishi T. Detection of *Kudoa hexapunctata* and *Kudoa neothunni* from retail raw tuna in Japan using a novel duplex polymerase chain reaction. *Parasitol Int* 2020; **75**: 102048.
- 31) 長谷篤, 小笠原準, 中村寛海, 和田崇之, 梅田薫, 入谷展弘, 久保英幸, 改田厚, 関口純一郎, 阿部仁一郎, 濱田信夫, 大山み乃り, 平山照雄, 後藤薫. 2011年に大阪市内の食中毒原因調査において検出された下痢原性微生物. *大阪市立環科研報告 平成23年度* 2012; **74**: 11-16.
- 32) 長谷篤, 小笠原準, 中村寛海, 和田崇之, 梅田薫, 山本香織, 入谷展弘, 阿部仁一郎, 久保英幸, 改田厚, 山元誠司, 平山照雄, 平井有紀, 後藤薫. 2012年に大阪市内の食中毒原因調査において検出された下痢原性微生物と主な事件の概要. *大阪市立環科研報告 平成24年度* 2013; **75**: 23-29.
- 33) 西尾孝之, 中村寛海, 小笠原準, 梅田薫, 山本香織, 入谷展弘, 阿部仁一郎, 久保英幸, 改田厚, 山元誠司, 平山照雄, 平井有紀, 高倉耕一, 後藤薫, 長谷篤. 2013年に大阪市内の食中毒原因調査において検出された下痢原性微生物と主な事件の概要. *大阪市立環科研報告 平成25年度* 2014; **76**: 7-13.
- 34) 西尾孝之, 中村寛海, 梅田薫, 山本香織, 入谷展弘, 阿部仁一郎, 久保英幸, 改田厚, 山元誠司, 平山照雄, 平井有紀, 北野雅昭, 後藤薫, 長谷篤. 2014年に大阪市内の食中毒原因調査において検出された下痢原性微生物と主な事件の概要. *大阪市立環科研報告 平成26年度* 2015; **77**: 1-6.
- 35) 中村寛海, 後藤薫, 山本香織, 入谷展弘, 阿部仁一郎, 久保英幸, 改田厚, 上林大起, 山元誠司, 平山照雄, 平井有紀, 山崎一夫, 長谷篤, 西尾孝之, 小笠原準. 2015年に大阪市内の食中毒原因調査において検出された下痢原性微生物. *大阪市立環科研報告 平成27年度* 2016; **78**: 13-20.
- 36) 中村寛海, 後藤薫, 梅田薫, 山本香織, 平井佑治, 福田昭, 阿部仁一郎, 久保英幸, 改田厚, 山元誠司, 馬場孝, 平井有紀, 江川和孝, 長谷篤, 秋吉充子, 柴川紗恵子, 山崎一夫, 小笠原準. 2018年に大阪市内の食中毒原因調査で検出された下痢原性微生物. *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2019; **3**: 34-39.
- 37) Yokoyama H, Suzuki J, Shirakashi S. *Kudoa hexapunctata* n. sp. (Myxozoa: Multivalvulida) from the somatic muscle of Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* and re-description of *K. neothunni* in yellowfin tuna *T. albacores*. *Parasitol Int*. 2014; **63**:

- 571-579.
- 38) Sakai H, Kato E, Sakaguchi S, Setsuda A, Sato H. Morphological and molecular genetic characterization of *Kudoa konishiae* n. sp. (Myxosporaea: Multivalvulida) in the muscle of Japanese Spanish mackerel (*Scomberomorus niphonius*). *Parasitol Res* 2018; **117**: 893-904.
 - 39) 鈴木淳. 魚類からの粘液胞子虫の検出状況. *日本食品微生物学会雑誌* 2012; **29**: 65-67.
 - 40) 佐藤宏, 笠井亨浩. 日本ならびにその近海で記録されたクドア属粘液胞子虫 (1930~2016) . *Jpn. J. Vet. Parasitol.* 2016; **15**: 111-137.
 - 41) Iida-Aoyama N, Harada T, Kawai T, Yokoyama H, Kawatsu K. Development of a Real-Time PCR assay for detection of *Kudoa iwatai* (Myxosporaea: Multivalvulida) in Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*). *J food protection* 2018; **81**: 1346-1350.
 - 42) 浅沼貴文, 竹原裕代, 柴田瑞葉, 佐藤葉子, 島村好彦, 永井幹美, 山本秀樹. クドア・イワタイが原因と疑われる有症事例に関する予防・啓発の試みについて. *食品衛生研究*. 2022; **72**: 43-48.
 - 43) Yahata Y, Sugita-Konishi Y, Onishi T, Toyokawa T, Nakamura N, Taniguchi K, Okabe N. *Kudoa septempunctata*-induced gastroenteritis in humans after flounder consumption in Japan: a case-controlled study. *Jpn. J. Infect. Dis* 2015; **68**: 119-123.
 - 44) 江草周三, 塩満捷夫. マダイとイシガキダイの体側筋寄生クドアおよびトラフグの囲心腔と心臓寄生クドアについて. *魚病研究* 1983; **18**: 163-171.
 - 45) 江草周三. 多殻類粘液胞子虫とくにクドア類について. *魚病研究* 1986; **21**: 261-274.
 - 46) Diamant A, Ucko M, Papema I, Colorni I, Lipshitz A. *Kudoa iwatai* (Myxosporaea: Multivalvulida) in wild and cultured fish in the red sea: redescription and molecular phylogeny. *J. Parasitol.* **91**: 1175-1189.
 - 47) 横山博. 新魚病図鑑第3版. 緑書房; 2022. 191.
 - 48) 桃山和夫, 天社こずえ. 山口県沿岸域および湖沼河川で採集された異様な外観を呈する天然魚介類の寄生虫およびその他の異常. *山口県水産研究センター研究報告*. 2006; **4**: 153-161.
 - 49) Matsukane Y, Sato H, Tanaka S, Kamata Y, Sugita-Konishi Y. *Kudoa iwatai* and two novel *Kudoa* spp., *K. trachuri* n. sp. and *K. thunni* n. sp. (Myxosporaea: Multivalvulida), from daily consumed marine fish in western Japan. *Parasitol Res* 2011; **108**: 913-926.
 - 50) 杉山昭博, 横山博, 小川和夫. 沖縄県内における奄美クドア症の疫学的調査. *魚病研究* 1999; **34**: 39-43.
 - 51) 横山博. クドア症. *魚病研究*. 2016; **51**: 163-168.
 - 52) 佐藤宏. 食中毒の新たな寄生虫性病原体として注目される粘液胞子虫の生物学. *山口獣医学雑誌* 2011; **38**: 1-26.
 - 53) 阿部仁一郎, 前原智史, 樫野雅弥, 大山み乃り. 鮮魚に見出された寄生虫の形態学的観察とシーケンス解析による同定. *大阪市立環科研報告* 2011; **73**: 29-37.
 - 54) Kasai A, Li YC, Setsuda A, Mafie E, Sato H. Genetic characterization of *Kudoa iwatai* and *Kudoa trachuri* in commercial marine fish (*Platycephalus* sp. and *Trachurus japonicus*) for human consumption. *Jpn. J. Vet. Parasitol.* 2015; **14**: 22-30.
 - 55) Li XB, He J, Ma RR, Sun FY, Wu WX, Luo HM, Bai LH, Qian D. Morphological characterization and molecular phylogenetic analysis of *Kudoa iwatai* from large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) as a new host in China. *Animals* 2022; **12**: 1145.
 - 56) Kang G, Choi KM, Cho DH, Joo MS, Heo MJ, Woo WS, Park CI. The first detection of *Kudoa hexapunctata* in farmed pacific bluefin tuna in South Korea, *Thunnus orientalis* (Temminck and Schlegel, 1844). *Animals* 2020; **10**: 1705.
 - 57) Li YC, Inoue K, Zhang JY, Sato H. Description of three new species of *Kudoa* Meglitsch, 1947 (Myxozoa: Multivalvulida) in commercial marine fishes from southern China, and new host records. *Folia Parasitologica* 2024; **71**: 018

Two cases of food poisoning suspected to be related to *Kudoa* in Osaka City and detection of myxosporean parasites in marine fishes

Takashi BABA^a, Ai KAKIMOTO^b, Masahiro HIRAO^b, Atsuko KONISHI^b and Tomofumi MAEHARA^b

In July 2022, two symptomatic cases of food poisoning suspected to be caused by *Kudoa* myxosporea were reported in Osaka. In Case 1, *Kudoa hexapunctata* was detected in the leftover grilled tuna (*Thunnus orientalis*: young Pacific bluefin tuna), and in case 2, *K. iwatai* was detected in the leftover sushi (*Pagrus major*: red sea bream). These are thought to be the first symptomatic cases in Osaka Prefecture, where *Kudoa* species other than *Kudoa septempunctata* were confirmed in leftover foods. Fresh fish sold in the Osaka Prefecture were examined to determine the rate of myxosporean parasite contamination. The *K. hexapunctata* gene was detected in 27% (14/52) of adult, 88% (14/16) of juveniles bluefin tuna, and 25% (14/56) of yellowfin tuna (*Thunnus albacare*). And the *K. konishiae* gene was detected in 100% (25/25) of Spanish mackerel (*Scomberomorus niphonius*).

Key-words: *Kudoa hexapunctata*, *Kudoa iwatai*, Pacific bluefin tuna, Red Sea bream, Food poisoning

a Osaka Institute of Public Health

b Osaka Municipal Central Wholesale Market Food Sanitation Inspection Laboratory

通気蒸留装置-アルカリ滴定法を用いた食品中の亜硫酸分析法の妥当性確認

野村千枝, 柿本 葉, 藤原拓也, 徳永佑亮, 山崎朋美, 新矢将尚

食品中に残留する亜硫酸の分析法の妥当性確認を行った。5種類の食品（かんぴょう、乾燥りんご、白ワイン、白花豆煮豆、スポーツ飲料）を用いて添加回収試験を実施した結果、真度は74~94%、併行精度は1.5~7.6%、室内精度は3.7~8.9%と、食品中の食品添加物分析法の妥当性確認ガイドラインの目標値を満たしたため本法は検査に適用可能と考えられた。

キーワード：食品、亜硫酸、通気蒸留装置、アルカリ滴定法、妥当性確認

二酸化硫黄および亜硫酸塩類（以下、亜硫酸）は漂白、殺菌などの作用があることから、亜硫酸ナトリウム、次亜硫酸ナトリウム、二酸化硫黄（以下、SO₂）、ピロ亜硫酸カリウム、ピロ亜硫酸ナトリウム、亜硫酸水素アンモニウム水の6品目が漂白剤、保存料、または酸化防止剤として食品添加物に指定されている¹⁾。亜硫酸は、使用基準により食品中の残存量がSO₂として規制されている。厚生労働省通知²⁾では、抽出は通気蒸留装置を用い、定量は高濃度（SO₂として約0.1 g/kg以上）ではアルカリ滴定法、低濃度（SO₂として約0.1 g/kg以下）では比色法を用いることとされている。アルカリ滴定法は、食品試料中の亜硫酸をりん酸酸性下で加熱して生じたSO₂ガスを、過酸化水素溶液中に捕集し、酸化して生成したH₂SO₄をアルカリ液で滴定する方法で、食品中の亜硫酸をSO₂として定量する。アルカリ滴定法は、比色法に比べて操作が簡易であり、試料採取量を増加すれば低濃度側でも適応可能²⁾である。今回、アルカリ滴定法を用いて、2024年に発出された食品中の食品添加物分析法の妥当性確認ガイドライン^{3, 4)}に従い、5種類の食品についてアルカリ滴定法を用いた亜硫酸分析の妥当性確認を行ったので報告する。

実 験 方 法

1. 試料および試薬等

- (1) 試料：亜硫酸の使用表示のないかんぴょう、乾燥りんご、白ワイン、白花豆煮豆、スポーツ飲料を用いた。すべてSO₂が含まれていないことを本法で事前に確認した。
- (2) 標準品：亜硫酸水素ナトリウムは富士フィルム和光純薬製試薬特級を用いた。標準品1.625 gを後述の0.1 mol/L水酸化ナトリウム水溶液に溶解して100 mLとしたものを標準原液とした（SO₂として10,000 µg/mL）。0.1 mol/L水酸化ナトリウム水溶液で希釈し、1,000 µg/mLの標準溶液を調製した。添加回収試験には、10,000 µg/mLの標準原液および1,000 µg/mLの標準溶液を用いた。
- (3) 試薬：水は、Milli-Q製造装置により精製したものを用いた。1 mol/L水酸化ナトリウム（容量分析用）、0.01 mol/L水酸化ナトリウム（容量分析用）、りん酸（特級）、過酸化水素水（特級）、メチルレッド（特級）、メチレンブルー（特級）、エタノール（特級）、n-オクタノール（特級）は富士フィルム和光純薬製を用いた。
- (4) 試液：0.1 mol/L水酸化ナトリウム溶液は、1 mol/L水酸化ナトリウムを水で希釈した。りん酸（1→4）は、りん酸100 mLに水300 mLを加えて調製した。0.3%過酸化水素溶液は、過酸化水素水5 mLに水を加えて500 mLとした。メチルレッド・メチレンブルー試液は、0.2 gのメチルレッドを100 mLのエタノールに溶解した後、0.1 gのメチレンブルーを加えて溶解した。

2. 器具および装置

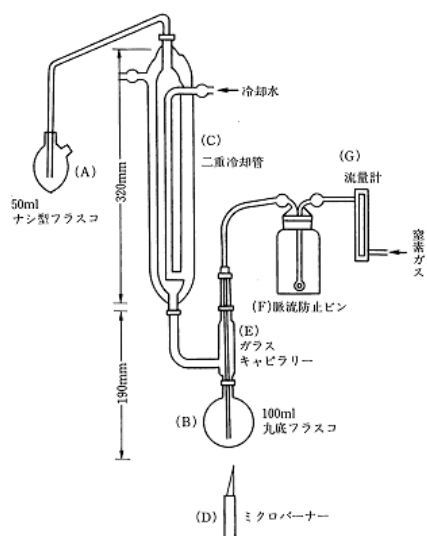
装置は、通気蒸留装置 AR-20（宮本理研工業製）を使用した。ただし、丸底フラスコ（図 1、B）は 150 mL 容のものを用いた。ビュレットは 5 mL（1 目盛：0.02 mL、体積許容誤差：± 0.01 mL）を用いた。

3. 分析法

通知法²⁾に準じ、あらかじめ図 1 の通気蒸留装置を組み立て、ナシ型フラスコ（A）に 0.3%過酸化水素溶液 10 mL を入れ、メチルレッド・メチレンブルー試液 3 滴を加えた。次に 0.01 mol/L 水酸化ナトリウム溶液 1~2 滴を加え、装置に取り付けた。丸底フラスコには試料（1~10 g）を精秤し、水 20 mL およびりん酸（1→4）10 mL を加え、速やかに装置に取り付けた。空気を 0.5~0.6 L/分の速度で通気しながら、マイクロバーナー（図 1、D）の炎の高さを 4~5 cm とし約 10 分間加熱した。次にナシ型フラスコをフラスコ台から外し、試験溶液とした。空試験は、試料の代わりに水 20 mL を用い、同様に操作して空試験溶液とした。試験溶液および空試験溶液を 0.01 mol/L 水酸化ナトリウム溶液で液の色が青みの緑色になるまで滴定し、次式によって試料中の SO₂ 含量（g/kg）を計算した。

$$\text{SO}_2 \text{ 含量 (g/kg)} = (a-b) \times F \times 0.32 \times 1/W$$

a: 試験溶液の滴定量（mL）、b: 空試験溶液の滴定量（mL）、W: 試料採取量（g）、F: 0.01 mol/L 水酸化ナトリウム溶液のファクター、0.32: 0.01 mol/L 水酸化ナトリウム 1 mL は SO₂ 0.32 mg に



相当する。

図 1 通気蒸留装置²⁾

4. 妥当性確認

ガイドライン³⁾に従い、5 種類の食品に、亜硫酸を SO₂ として基準値濃度相当となるよう添加し、2 併行分析を 5 名で 1 日間行った。得られた分析値を解析し、真度および併行ならびに室内精度を推定した。添加濃度は、各食品（かんぴょう、乾燥りんご、白ワイン、白花豆煮豆、スポーツ飲料）それぞれに該当する基準値（かんぴょう 5.0 g/kg、乾燥果実 2.0 g/kg、果実酒 0.35 g/kg、煮豆 0.10 g/kg、その他食品 0.030 g/kg）とした。すなわち、かんぴょう 1 g には 10,000 μg/mL の標準原液を 0.5 mL、乾燥りんご 1 g に 10,000 μg/mL の標準原液を 0.2 mL、白ワイン 10 g に 10,000 μg/mL の標準原液を 0.35 mL、白花豆煮豆 10 g に 10,000 μg/mL の標準原液を 0.1 mL、スポーツ飲料 10 g に 1,000 μg/mL の標準溶液を 0.3 mL 添加した。本法の定量下限値は 0.030 g/kg（10 g のとき）とした。

結果 および 考察

1. 妥当性確認結果

本法を用いて、検査検体として搬入される頻度が高い 5 種類の食品について、2 併行分析を 5 名で 1 日間、添加回収試験を行った。上記方法に従って妥当性確認を実施した結果を表 1 に示した。

真度は 74~94 %、併行精度は 1.5~7.6 %、室内精度は 3.7~8.9 %と、厚生労働省によるガイドライン³⁾で規定する真度 70~120 %の範囲内であり、RSD（併行精度 < 10 %、室内精度 < 15 %）を満たした。

ガイドライン³⁾には、SO₂ は分解しやすい物質とされ、かつ、通知²⁾および注解⁵⁾には、試料採取量を 5 g 以上に増すと、タンパク質や糖を含む食品では膨潤および気泡が生じ、SO₂ 測定値が低くなったり、測定不能となることがある、と記載されている。今回、検討に用いた白花豆煮豆は 10 g を採取し、測定中に泡立ちが見られた。そのため、真度が低くなったと考

えられた。

表1 妥当性確認結果

試料	添加濃度 (g/kg)	試料採取量 (g)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
かんぴょう	5.0	1	83	3.1	5.1
乾燥りんご	2.0	1	85	1.5	3.7
白ワイン	0.35	10	94	7.6	8.9
白花豆煮豆	0.10	10	74	3.9	4.7
スポーツ飲料	0.030	10	84	3.7	5.1

文 献

ま と め

食品中に残留する亜硫酸の分析法の妥当性確認を行った。5種類の食品（かんぴょう、乾燥りんご、白ワイン、白花豆煮豆、スポーツ飲料）に、亜硫酸をSO₂として基準値濃度相当となるよう添加し、2併行分析を5名で1日間行った。添加回収試験の結果、食品中の食品添加物分析法の妥当性確認ガイドラインの目標値を満たした。本法は検査に適用可能と考える。

利 益 相 反

開示すべき利益相反はない。

- (1) 食品添加物等の規格基準（昭和34年厚生省告示370）第2添加物
- (2) 厚生労働省健康・生活衛生局食品基準審査課長及び食品監視安全課長通知“「食品中の食品添加物分析法」の改正について 別添3”令和3年6月24日付け薬生食基発0624第1号/薬生食監発第0624第1号（2021）
- (3) 厚生労働省健康・生活衛生局食品基準審査課長及び食品監視安全課長通知“「食品中の食品添加物分析法の妥当性確認ガイドライン」の作成及び「第2版食品中の食品添加物分析法」の改正について”令和6年3月8日、健生食基発0308第1号・健生食監発0308第1号（2024）
- (4) 厚生労働省健康・生活衛生局食品基準審査課事務連絡“「食品中の食品添加物分析法の妥当性確認ガイドラインに関する質疑応答集（Q&A）」の公表について”令和6年3月8日（2024）
- (5) 日本薬学会編. 衛生試験法・注解. 金原出版株式会社; 2020. 373–378.

Validation study of an analytical method for sulfite residues in foods using an aeration distillation apparatus and alkaline titration

Chie NOMURA, Yo KAKIMOTO, Takuya FUJIWARA, Yusuke TOKUNAGA, Tomomi YAMASAKI and Masanao SHINYA

This study confirmed the validity of an analytical method for detecting sulfite residues in food. A recovery test was conducted using five types of food (dried gourd shavings, dried apples, simmered white beans, white wine, and sports drinks) that were not labeled for the use of sulfur dioxide and sulfites. The validation was performed by five analysts for two parallel runs over one day. The results showed trueness of 74-94 %, repeatability of 1.5-7.6 %, and within-laboratory reproducibility of 3.7-8.9 %, which complied with the criteria for the Validation Guidelines for Food Additive Analytical Methods in Japan.

Keywords: Food, sulfite, aeration oxidation, alkaline titration, validation study

LC-FL 分析によるヒスタミン検査事例の報告

—令和 5 及び 6 年度における大阪府及び府内中核市の依頼検査について—

粟津 薫, 福井直樹, 永吉晴奈, 山口瑞香, 松井啓史, 白川育子, 山口進康

当研究所では、大阪府及び府内中核市からの依頼に基づき、食品中のヒスタミン検査を LC-FL 分析により実施している。本報告では、LC-FL 分析法の改良結果とともに、令和 5 年度及び令和 6 年度に実施した市場流通品及び食中毒事例に関する検査結果を示す。分析においては、試料をトリクロロ酢酸で抽出後、固相抽出カートリッジカラムにより精製し、フルオレスカミンによる誘導体化を経て、誘導体化ヒスタミンの定量を行った。その結果、一部の市場流通品及び食中毒事例の検体からヒスタミンが検出された。検出された食品は、うるめいわし丸干し、いわし甘露煮、さんまみりん干し、はまちの煮付け、はまちのフライ、あじみりん干しであり、いずれも厚生労働省が公表する食中毒統計において、ヒスタミン食中毒の原因食品として報告されている魚種であった。

キーワード：ヒスタミン、食中毒、水産加工食品、LC-FL、フルオレスカミン

ヒスタミンは、アミノ酸の一種である遊離ヒスチジンが、ヒスタミン生成菌の有するヒスチジン脱炭酸酵素の作用により分解されて生成される。ヒスタミンが高濃度に蓄積した食品を摂取すると、食後数分から 30 分程度で顔面紅潮、口腔内の灼熱感、頭痛、じんましん等の症状を呈することがあるが、重症化する例は少なく、抗ヒスタミン剤の投与によって速やかに回復するとされている。ヒスタミン食中毒の主な原因食品は、遊離ヒスチジン含有量の高いさば、まぐろ、いわし等の魚類であり、これらの魚類には、ヒスタミン生成菌の増殖によって高濃度のヒスタミンが蓄積される場合がある。ヒスタミンは加熱によって分解されないため、高濃度に蓄積された食品に加熱調理を行っても食中毒を発症する可能性がある。

ヒスタミンの生成には細菌が関与するが、食中毒の直接的な原因はヒスタミンそのものであるため、ヒスタミン食中毒は病因物質を化学物質とする食中毒に分類されている。厚生労働省が公表する食中毒統計によると、令和元年から 6 年までのヒスタミン食中毒の発生状況は、年間 2~13 件、患者数は 77~228 名であり、給食施設において食中毒が発生した年には患者数の増加が認められた¹⁾。

国際的な食品規格を定めるコーデックス委員会は、遊離ヒスチジン含有量の高い魚類を原料とする食品を対象に、ヒスタミン濃度の上限値を設定している。冷凍品や缶詰等の水産加工品は、腐敗基準(鮮度低下指標)を 10 mg/100 g、衛生取扱基準(安全性指標)を 20 mg/100 g に設定されている。発酵食品である魚醤は、腐敗基準がなく、衛生取扱基準として 40 mg/100 g が設定されている²⁾。そのほか、米国、EU、カナダ等においても、対象食品や規制値は異なるが、魚類の品質管理及び食中毒の発生防止を目的としてヒスタミン濃度の基準が設定されている³⁾。一方、日本国内で流通する食品に対する規制値は設定されておらず、食中毒の発生時には、不衛生食品の販売等の禁止を定めた食品衛生法第 6 条に基づく措置が講じられる。

食品衛生法第 24 条では、都道府県知事等に対し食品衛生監視指導計画の策定を求めており、ヒスタミン食中毒の発生防止を目的とした市場流通品の検査は、この計画に基づき実施される。また、ヒスタミン食中毒の発生が疑われる際には、原因究明及び再発防止を目的とした検査が実施される。

当研究所では、大阪府及び府内中核市から依頼されるヒスタミン検査について、試料をトリクロロ酢酸で抽出後、固相抽出カートリッジカラムにより精製し、フルオレスカミンによる誘導体化を経て、蛍光検出器付き高速液体クロマトグラフ (LC-FL) により誘導体化ヒスタミンの定量分析を行っている。既報では、LC-FL 分析において移動相にイオンペア試薬を添加したが⁴⁾、本報告では LC システムへの残留を防止するため、イオンペア試薬を添加しない移動相条件を検討した。また、安定した誘導体化条件の確立を目的として、誘導体化試薬と緩衝液の混合比率についても検討した。

さらに、改良した分析法を用いて実施した令和 5 年度及び令和 6 年度のヒスタミン検査事例について報告する。なお、各検査事例の概要や措置内容の一部は自治体の公表情報に基づいて記載したが、出典については公表期間の経過により記載を省略した。

実験方法

既報⁴⁾を一部改変した方法で行った。分析条件及び誘導体化条件は、久保田らの報告⁵⁾を参考にした。

1. 試料

分析法の改良及び市場流通品の検査においては、魚介類加工品から皮、骨、ひれ、内臓、調味液等を可能な限り除去し、筋肉部を採取した。採取した筋肉部はフードプロセッサで粉碎・均質化し、試料とした。食中毒事例の検査は、喫食残品等をフードプロセッサで粉碎・均質化し、試料として用いた。全ての試料は -20°C で保存した。

2. 試薬

標準品：富士フィルム和光純薬 (株) 製試薬特級品のヒスタミン二塩酸塩を用いた。ヒスタミンとして $1,000\ \mu\text{g}/\text{mL}$ になるように $0.1\ \text{mol/L}$ 塩酸溶液に溶解して定容し、標準原液を調製した。標準原液を適宜採取し、 $0.1\ \text{mol/L}$ 塩酸溶液で定容して検量線用標準溶液を調製した。

試薬：富士フィルム和光純薬 (株) 製を用いた。メタノール、アセトニトリル及び酢酸は高速液体クロマトグラフ用、アセトンは残留農薬・PCB 試験用濃縮 $5,000$ 、 $2\ \text{mol/L}$ 塩酸溶液及び $1\ \text{mol/L}$ 水酸化ナトリウム溶液は容量分析用、フルオレスカミンは品

質規格なし、その他は試薬特級品を用いた。

水：メルクミリポア社製 Milli-Q Integral 3 により精製したものをを用いた。

5% トリクロロ酢酸溶液：トリクロロ酢酸 $50\ \text{g}$ を水に溶解し、全量 $1,000\ \text{mL}$ とした。

$0.1\ \text{mol/L}$ 塩酸溶液： $2\ \text{mol/L}$ 塩酸溶液を水で 20 倍に希釈し、調製した。

$0.1\ \text{mol/L}$ リン酸緩衝液 (pH 6.8)：リン酸二水素ナトリウム 2 水和物 $7.8\ \text{g}$ と、リン酸水素二ナトリウム 12 水和物 $17.9\ \text{g}$ を水に溶解し、全量 $1,000\ \text{mL}$ とした。

$0.05\ \text{mol/L}$ リン酸緩衝液 (pH 6.8) 及び $0.025\ \text{mol/L}$ リン酸緩衝液 (pH 6.8)： $0.1\ \text{mol/L}$ リン酸緩衝液 (pH 6.8) をそれぞれ水で 2 倍及び 4 倍に希釈し、調製した。

$0.2\ \text{mol/L}$ ホウ酸緩衝液 (pH 8.9)：ホウ酸 $1.24\ \text{g}$ と $1\ \text{mol/L}$ 水酸化ナトリウム溶液 $10\ \text{mL}$ を水に溶解し、全量 $100\ \text{mL}$ とした。

アンモニア水-メタノール (5:95)：メタノール $95\ \text{mL}$ に、アンモニア水 (28%) $5\ \text{mL}$ を添加して混和した。

0.1% フルオレスカミン・アセトン溶液：フルオレスカミン $10\ \text{mg}$ をアセトンに溶解し、全量 $10\ \text{mL}$ とした。

$0.05\ \text{mol/L}$ 酢酸緩衝液 (pH 6.6)：酢酸ナトリウム $4.0\ \text{g}$ と酢酸 $40\ \mu\text{L}$ を水に溶解し、全量 $1,000\ \text{mL}$ とした。

固相抽出カートリッジカラム：ODS は日本ウォーターズ (株) 製 Sep-Pak Plus C18 $360\ \text{mg}$ を、SCX はアジレント・テクノロジー (株) 製 Bond Elut Jr. SCX $500\ \text{mg}$ を用いた。ODS の下部に SCX を連結し、あらかじめメタノール、水及び $0.05\ \text{mol/L}$ リン酸緩衝液 (pH 6.8) を各 $5\ \text{mL}$ の順に用いてコンディショニングしたものをを用いた。

メンブランフィルター：アドバンテック東洋 (株) 製 DISMIC (親水性 PTFE $13\ \text{mm}\ \phi$ $0.2\ \mu\text{m}$) を用いた。

3. 装置

フードプロセッサはパナソニック (株) 製 MK-K61 または岩谷産業 (株) 製 IFM-S30G、高速ホモジナイザーは KINEMATICA 社製ポリトロン PT3100、高速振とう機は東京理化学器械 (株) 製 CM-1000、遠心分離機はエッペンドルフ・ハイマック・テクノロジーズ (株) 製 CF5RE、ロータリーエバポ

レーターはヤマト科学 (株) 製 REV202M、試験管用ミキサーは Scientific Industries 社製 Vortex GENIE2 を用いた。

高速液体クロマトグラフ及び蛍光検出器はアジレント・テクノロジー (株) 製 1260 Infinity II LC システムを用いた。

4. 分析条件

分析カラム: Inertsil ODS-3 5 μm 4.6 mm ϕ \times 150 mm (GLサイエンス (株))、カラム温度: 40 $^{\circ}\text{C}$ 、流速: 1.0 mL/min、注入量: 10 μL 、サンプルクーラー温度: 15 $^{\circ}\text{C}$ 、移動相: A 液 0.05 mol/L 酢酸緩衝液 (pH 6.6)、B 液アセトニトリル、C 液メタノール、グラジエント条件: 0 分 (A : B : C = 70 : 15 : 15) \rightarrow 5 分 (A : B : C = 60 : 20 : 20) \rightarrow 10 分 (A : B : C = 40 : 30 : 30) \rightarrow 12 分 (A : B : C = 20 : 40 : 40) \rightarrow 14 分 (A : B : C = 20 : 40 : 40) \rightarrow 14.01 分 (A : B : C = 70 : 15 : 15) \rightarrow 20 分 (A : B : C = 70 : 15 : 15)、蛍光検出器: 励起波長 390 nm、蛍光波長 480 nm。

5. 測定溶液の調製

均質化した試料 5 g をポリプロピレン製遠沈管に採取し、5%トリクロロ酢酸溶液 20 mL を加えて高速ホモジナイザーで粉碎抽出を行った。ホモジナイザーのシャフトを、5%トリクロロ酢酸溶液約 5 mL で洗浄し、洗浄液を遠沈管に加えた。次に、10 $^{\circ}\text{C}$ 、3,000 rpm で 10 分間遠心分離を行い、上清を採取した。残留物に 5%トリクロロ酢酸溶液 20 mL を加え、高速振とう機で 5 分間振とう抽出を行った後、同様に遠心分離し、得られた上清を採取した。2 回の抽出で得られた上清を合わせて、ろ紙 (No.5A) でろ過した後、5%トリクロロ酢酸溶液で 50 mL に定容したものを抽出液とした。

抽出液 10 mL をポリプロピレン製遠沈管に採取し、1 mol/L 水酸化ナトリウム溶液約 2.5 mL を加えて pH 5~8 に調整後、0.1 mol/L リン酸緩衝液 (pH 6.8) 10 mL を加えて希釈した。希釈液を 10 $^{\circ}\text{C}$ 、3,000 rpm で 10 分間遠心分離し、得られた上清を ODS の下部に SCX を連結した固相抽出カートリッジカラムに負荷した。連結したカラムを、0.05 mol/L リン酸緩衝液 (pH 6.8) 10 mL で洗浄後、ODS を除去し、SCX を 0.025 mol/L リン酸緩衝液 (pH 6.8)、水及びメタノール各 10 mL の順で洗浄した。SCX から、アンモニア水-メタノール (5 : 95) 10 mL でヒスタミンを溶出し、40 $^{\circ}\text{C}$ の水浴上で減圧濃縮し

た後、窒素ガスを吹き付けて乾固した。得られた残渣を 0.1 mol/L 塩酸溶液 2 mL に溶解し、試験溶液とした。

誘導体化操作は、まず、0.2 mol/L ホウ酸緩衝液 (pH 8.9) 1.4 mL をポリプロピレン製試験管に採取し、検量線用標準溶液または試験溶液 50 μL を加えて試験管用ミキサーで軽く混合した。次に、0.1%フルオレスカミン・アセトン溶液 600 μL を加えて、直ちに澄明な溶液になるまで約 5 秒間試験管用ミキサーで混合した。これをメンブランフィルターでろ過し、測定溶液とした。ヒスタミン濃度が高い試験溶液については、0.1 mol/L 塩酸溶液で適宜希釈したものを誘導体化し、測定溶液とした。

6. 定量試験

ヒスタミンとして 5~100 $\mu\text{g/mL}$ の濃度範囲で検量線用標準溶液を調製し、ピーク面積を用いた絶対検量線法により定量を行った。

定量下限値 (LOQ) は、S/N 比が 10 以上を満たす検量線範囲内の濃度とし、試験溶液中ヒスタミン濃度 5 $\mu\text{g/mL}$ (試料中濃度換算で 10 $\mu\text{g/g}$) を設定した。

7. 添加回収試験

ヒスタミン含有量が定量下限値未満であることを確認した試料に、試料中濃度が 50 $\mu\text{g/g}$ となるようにヒスタミン標準溶液を添加し、試験を実施した。得られた結果から、真度及び併行精度を評価した。

結果

1. 分析法の改良結果

(1) 分析条件

既報⁴⁾では、誘導体化ヒスタミンの分析カラムへの保持を改善する目的で、イオンペア試薬であるテトラブチルアンモニウムブロミドを添加した酢酸緩衝液とメタノールの混合溶液を移動相に用いた。しかし、イオンペア試薬を添加した移動相の使用は、分析前のカラム平衡化や分析後の洗浄に時間を要するほか、LC システム内に残留し、後続の分析に影響を及ぼす可能性がある等の課題があった。

久保田ら⁵⁾は、フルオレスカミンで誘導体化した不揮発性アミン類の LC 分析において、イオンペア試薬を添加しない移動相として、A 液に酢酸緩衝液、B 液にアセトニトリル・メタノールの 1 : 1 混液を

用いたグラジエント溶出を報告している。これを参考に、A 液に酢酸緩衝液、B 液にアセトニトリル、C 液にメタノールを用いて、B 液と C 液の混合比率を 1 : 1 に保ちながら、グラジエント溶出を検討した。

その結果、ヒスタミンは約 6.5 分で溶出し、ヒスタミンと試料由来成分の良好なピーク分離が得られ、イオンペア試薬の添加を不要とする分析条件を確立できた。代表的な試料として、さんま開き干しのクロマトグラムを図 1 に示した。

(2) 誘導体化条件

既報⁴⁾では、試験溶液 50 μ L に対し、0.2 mol/L ホウ酸緩衝液 (pH 9.0) 2.0 mL 及び 0.3 % フルオレスカミン・アセトン溶液 200 μ L を加えて混合し、誘導体化反応を行った。この方法では、澄明な溶液を得るために、試験管用ミキサーによる約 30 秒間の攪拌が必要であった。

久保田ら⁵⁾は、ヒスタミンを含む揮発性アミン類を対象とした、フルオレスカミンによる誘導体化において、プトレシン及びカダベリンの安定した誘導体化条件の確立を目的に、緩衝液及びアセトンの比率、フルオレスカミンの添加量等の反応条件を検討している。これを参考に、試験溶液 50 μ L に対し、0.2 mol/L ホウ酸緩衝液 (pH 8.9) 1.4 mL 及び 0.1 % フルオレスカミン・アセトン溶液 600 μ L を加える条件を採用した。

その結果、約 5 秒間の攪拌により澄明な溶液が得られ、誘導体化反応を迅速に完了することが可能となった。フルオレスカミンは水によって分解されやすい性質を持つため、迅速な反応の完了は、誘導体化ヒスタミンの定量精度に影響を与える要因であると考えられた。

(3) 添加回収試験

魚介類加工品を用いて添加回収試験を実施した結果を表 1 に示した。5 回の試行により得られた真度は 78~88 %、併行精度は 1.6~7.7 %であり、いずれも良好な値を示した。

2. 市場流通品の検査結果

(1) 概要

ヒスタミン食中毒の発生頻度が高い魚介類加工品を中心に、令和 5 年度及び令和 6 年度にかけて、合計 38 検体の検査を実施した。魚種の内訳は、あじ 3 検体、いわし 9 検体、かつお 3 検体、かれい 2 検体、さけ 2 検体、さば 8 検体、さわら 3 検体、さんま 2 検体、ししゃも 1 検体、ぶり 1 検体、ほっけ 2 検体、まぐろ 1 検体、いか 1 検体であった。

(2) 結果

うるめいわし丸干しから 320 μ g/g、いわし甘露煮から 14 μ g/g、さんまみりん干しから 20 μ g/g のヒスタミンを検出した。その他の 35 検体からは、ヒスタミンは検出されなかった (表 2)。

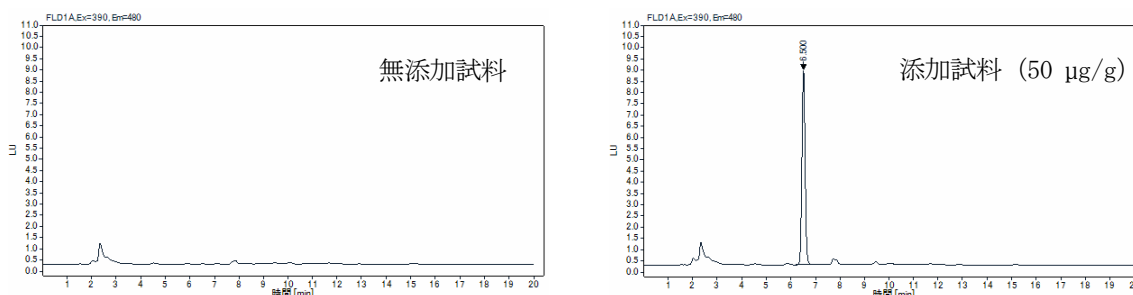


図 1 さんま開き干しのクロマトグラム

表 1 添加回収試験の結果 (n=5)

試料名	真度 (%)	併行精度 (%)
まいわし丸干し	78	7.7
かつおなまり節	79	3.9
塩さば	88	1.6
さばみりん干し	80	2.8
さんま開き干し	80	5.7

表2 市場流通品の検査結果

検体名	検体数	ヒスタミン濃度
まあじ開き干し	1	ND
まあじ丸干し	1	ND
あじみりん干し	1	ND
まいわし丸干し	1	ND
うるめいわし丸干し	1	320 µg/g
しらす干し (微乾燥品)	3	ND
いわししょうゆ煮 (缶詰)	1	ND
いわしみそ煮 (缶詰)	1	ND
いわしかば焼 (容器包装詰加圧加熱殺菌食品)	1	ND
いわし甘露煮 (惣菜)	1	14 µg/g
かつおたたき	1	ND
かつお油漬 (缶詰)	2	ND
かれい西京みそ漬	1	ND
からすかれい煮付け (惣菜)	1	ND
ぎんざけかま塩焼 (惣菜)	1	ND
ぎんざけ西京みそ漬	1	ND
塩さば	3	ND
さば西京みそ漬	1	ND
さば水煮 (缶詰)	1	ND
さば塩焼 (惣菜)	1	ND
さばみぞれ煮 (惣菜)	1	ND
さばみそ煮 (惣菜)	1	ND
さわら西京みそ漬	2	ND
さわら照り焼 (惣菜)	1	ND
さんまみりん干し	1	20 µg/g
さんまかば焼 (容器包装詰加圧加熱殺菌食品)	1	ND
からふとししやも生干し	1	ND
ぶり照り焼 (惣菜)	1	ND
ほっけ開き干し	1	ND
ほっけみりん干し	1	ND
まぐる油漬 (缶詰)	1	ND
まついか (ゆで)	1	ND

ND : <10 µg/g

3. 食中毒事例の検査結果

(1) 事例1

① 概要

令和6年9月、販売店で購入したはまちの切り身を、購入当日に家庭内で煮付けに加熱調理し、成人2名及び未就学児1名が喫食した。成人1名は喫食時に舌がピリピリする感覚を訴え、喫食後30分から1時間程度で、喫食者全員に頭痛、体の発赤、腹

痛、嘔吐、下痢等の症状が認められた。

② 試料

はまちの煮付け：喫食残品1検体

③ 結果

試料から5,000 µg/gのヒスタミンを検出した。喫食残品のはまちの煮付け1切れの重量は35gであったことから、1切れには175mgのヒスタミンが含まれていたと推算された。喫食者全員がはまちの煮付け70～140g(2～4切れ)を喫食しており、ヒスタミンの摂取量は350～700mgと推算された。

症状及び検査結果等から、本事例はヒスタミンを原因とする食中毒と断定された。施設調査の結果、家庭及び販売店におけるはまちの取扱いについて温度管理不良等の問題は認められず、ヒスタミン増加の明確な要因が不明であったため、原因施設の特定には至らなかった。

(2) 事例2

① 概要

令和6年9月、自動車による飲食店営業で調理された弁当を成人52名が喫食し、うち9名に喫食後30分から1時間程度で顔面及び背中への紅潮、じんましん、頭痛、発熱等の症状が認められた。弁当の惣菜には、はまちのフライが含まれていた。

② 試料

はまちのフライ：喫食残品1検体

③ 結果

試料から2,900 µg/gのヒスタミンを検出した。喫食残品のはまちのフライ1切れの重量は67g(フライ衣を含む)であったことから、1切れには194mgのヒスタミンが含まれていたと推算された。患者がはまちのフライ1切れを喫食したと仮定すると、ヒスタミンの摂取量は194mgと推算された。

症状及び検査結果等から、本事例はヒスタミンを原因とする食中毒と断定されたが、原因施設の特定には至らなかった。

(3) 事例3

① 概要

令和6年11月、他県の販売店で購入し、クール便で自宅に発送されたあじみりん干しを家庭内で加熱調理し、成人1名及び未成年1名(10歳代)が喫食した。成人は喫食時に気分不良、顔面紅潮を訴えて喫食を中止したが、喫食後30分で頭痛、悪寒等の症状が認められた。未成年は喫食後1時間程度で全身の発赤、頭痛、悪寒、発熱、呼吸困難等の症状が認められた。

② 試料

あじみりん干し：未調理品：1 検体、調理済品（喫食残品）1 検体

③ 結果

未調理品から 4,400 $\mu\text{g/g}$ 、調理済品（喫食残品）から 5,000 $\mu\text{g/g}$ のヒスタミンを検出した。未調理品のあじみりん干し 1 枚の重量は 138 g であったことから、未調理品 1 枚には 607 mg のヒスタミンが含まれていたと推算された。成人が喫食を中止したことによる調理済品（喫食残品）の重量は 83 g であったことから、喫食量は約 55 g と推定され、ヒスタミンの摂取量は 275 mg と推算された。一方、未成年はあじみりん干し 1 枚全量を喫食しており、摂取量は 607～690 mg と推算された。

製造施設を所管する他県の保健所による調査の結果、調査可能であった購入者 4 グループの計 8 人中、2 グループの計 6 人が当該食品を喫食していた。そのうち 2 グループの計 3 人に、喫食後 1 時間以内に発赤、頭痛、悪寒等の症状が認められた。患者全員が同一施設で製造された当該食品を喫食していたこと、患者宅の残品の検査結果、医師からの食中毒の届出があったことから、本事例はヒスタミンによる食中毒と断定され、当該施設には 3 日間の営業停止処分が科された。

考 察

日本国内の食中毒事例において、食品中のヒスタミン濃度及び概算の喫食量に基づいて推算されたヒスタミンの中毒量は、成人 1 人あたり 22～370 mg と報告されている⁹⁾。FAO/WHO 合同専門家会議では、ヒスタミンの経口摂取における無毒性量（NOAEL）である 50 mg を食中毒の発症の閾値としている。各国の魚類及び水産食品の消費実態調査に基づき、1 食あたりの最大喫食量を 250 g とした上で、発症の閾値（50 mg）を基に、有害な影響が認められないとされる食品中ヒスタミンの最大濃度を 200 $\mu\text{g/g}$ （原典単位は mg/kg ）と定めている⁷⁾。

本報告における食中毒事例 1～3 では、患者が摂取したと推算されるヒスタミン量は、いずれも発症の閾値を大きく上回っており、ヒスタミン食中毒に典型的な症状が認められた。また、市場流通品の検査において、うるめいわし丸干しから 320 $\mu\text{g/g}$ のヒスタミンが検出された。この製品を 157 g 喫食した場合、ヒスタミン摂取量は 50 mg を超えると推算

され、食中毒を発症する可能性があると考えられた。

令和元年から令和 5 年の食中毒統計において、ヒスタミン食中毒の原因魚種は、さば 8 件、ぶり 8 件、かじき 3 件、あじ 2 件、しいら 2 件、まぐろ 2 件、いわし 1 件、かつお 1 件、さんま 1 件、不明 3 件の計 31 件であった⁷⁾。本報告でヒスタミンが検出された 6 検体の魚種は、いわし 2 検体、はまち（ぶりの幼魚）2 検体、さんま 1 検体、あじ 1 検体であり、いずれも過去の食中毒事例で原因食品として報告されている魚種であった。事例ごとの発症率は、事例 1 が 100%（3 名中 3 名）、事例 2 が 17%（52 名中 9 名）、事例 3 が 50%（6 名中 3 名）であった。この差異は、ヒスタミンに汚染された個体や部位の分布の違いが影響した可能性がある⁷⁾と推測された。

魚類におけるヒスタミンの生成には、遊離ヒスチジン含有量、体表面や腸管内に存在するヒスタミン生成菌の種類及び菌数、水揚げから喫食までの流通、加工、調理等の全工程における細菌汚染、保管温度、保管時間等の複数の要因に影響される。これらの要因により、個体や部位ごとにヒスタミン濃度のばらつきが生じると考えられる。また、ヒトが経口摂取したヒスタミンは、小腸で発現する代謝酵素ジアミンオキシダーゼ（DAO）によって分解されるが、ブトレンシンやカダベリン等のアミン類も DAO の基質である。これらのアミン類は、腐敗した魚介類から検出されることがあり、DAO によるヒスタミンの分解を阻害することで、ヒスタミンの毒性を増強する可能性が示唆されている⁷⁾。したがって、食品中のヒスタミン濃度のみならず、他のアミン類の存在も食中毒の発症に影響を与える要因と考えられた。

以上のことから、発症率や残品のヒスタミン濃度と患者が実際に摂取したヒスタミン量に差異が生じる要因は多岐にわたり、正確な中毒量の把握やヒスタミン生成の原因解明には困難が伴うと考えられた。

謝 辞

報告した検査事例は、大阪府健康医療部生活衛生室食の安全推進課及び府保健所、府内中核市保健所と協力して実施したものである。関係各位に深謝いたします。

利益相反

開示すべき利益相反はない。

文献

- 1) 厚生労働省 . 4. 食中毒統計 .
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html
- 2) Codex Alimentarius Commission. CODEX STAN 36-1981, 70-1981, 94-1981, 119-1981, 165-1989, 166-1989, 190-1995, 236-2003, 244-2004, 302-2011, 311-2013.
<https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/codex-texts/list-standards/en/>
- 3) Toda M, Yamamoto M, Uneyama C, Morikawa K. Histamine food poisonings in Japan and other countries. *Bull. Natl. Inst. Health Sci.* 2009; **127**: 31–38.
- 4) Awazu K, Nomura C, Yamaguchi M, Obana H. Determination of histamine in fish and fish products by tandem solid-phase extraction. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hyg. Saf. Sci.)*. 2011; **52**: 199–204.
- 5) Kubota A, Fujii Y, Kaga T, Nishimura K, Ueno K. Determination of nonvolatile amines in foods by HPLC following fluorescamine derivatization. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hyg. Saf. Sci.)*. 2019; **60**: 61–67.
- 6) 井部明広. 食品安全性セミナー1食中毒. 中央法規出版; 2001. 216–227.
- 7) FAO/WHO. Joint FAO/WHO Expert Meeting on the Public Health Risks of Histamine and other Biogenic Amines from Fish and Fishery Products. Joint FAO/WHO Expert Meeting report. 2013.
https://www.fao.org/fileadmin/user_upload/agns/pdf/Histamine/Histamine_AdHocfinal.pdf

WEB サイトの内容は 2026 年 1 月 6 日に確認した。

**Report of the histamine test cases using LC-FL analysis
-Requested inspections for Osaka Prefecture and its core cities in fiscal year 2023 and 2024-**

Kaoru AWAZU, Naoki FUKUI, Haruna NAGAYOSHI, Mizuka YAMAGUCHI,
Hiroshi MATSUI, Ikuko SHIRAKAWA and Nobuyasu YAMAGUCHI

This report presents histamine testing cases conducted using Liquid Chromatography-Florescence (LC-FL) analysis at our laboratory during the fiscal years 2023 and 2024, and was commissioned by Osaka Prefecture and its core cities. The analyses encompassed commercially distributed products as part of a public health surveillance initiative as well as suspected causative foods associated with food poisoning incidents, with the aim of identifying sources and preventing recurrence. In both contexts, the derivatized histamine was quantitatively analyzed using LC-FL, following purification using solid-phase extraction cartridge columns.

Histamine was detected in several samples, including both marketed products and those linked to food poisoning. The positive samples were whole dried round Pacific herring (urumeiwashi-maruboshi), sardines stewed in soy sauce and sugar (iwashi-kanroni), semi-dried Pacific saury fillets seasoned with sweet cooking rice wine (sanma-mirinboshi), boiled young yellowtail (hamachi-nitsuke), fried young yellowtail (hamachi-furai), and semi-dried horse mackerel seasoned with sweet cooking rice wine (aji-mirinboshi). These species are recognized as common sources of histamine food poisoning according to statistics published by Japan's Ministry of Health, Labor, and Welfare.

Key words : histamine, food poisoning, processed sea foods, LC-FL, fluorescamine

強壮効果を標榜するいわゆる健康食品から医薬品成分を検出した事例

—タダラフィル及びクロロプレタダラフィルの検出—

坂本裕介, 東 雄貴, 浅田安紀子, 阪井貴之, 田中未紗, 土井崇広, 田上貴臣

いわゆる「健康食品」について、医薬品成分を含むものは無承認無許可医薬品とみなされ、取り締まりの対象となる。大阪府及び大阪市では、管内で流通している健康食品による健康被害の未然防止及び拡大防止を図ることを目的として製品の買上調査を実施している。

当研究所で、2024 年度に強壮効果又は痩身効果を有する医薬品成分から 40 成分を対象として試験検査を実施したところ、1 品目から 2 種の医薬品成分を検出した。それらの成分は、液体クロマトグラフ-フォトダイオードアレイ検出器、ガスクロマトグラフ-質量分析計および液体クロマトグラフ-四重極飛行時間型質量分析計の分析結果からタダラフィル及びクロロプレタダラフィルであると同定され、それらの含有量はそれぞれ 1 包あたり約 8 mg、0.2 mg であると推定された。

キーワード：健康食品、無承認無許可医薬品、PDE5 阻害剤、タダラフィル、クロロプレタダラフィル

いわゆる「健康食品」には、法律上の明確な定義は存在しない。一方、医薬品は「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律(薬機法)」により、その範囲および取扱いが明確に規定されている。日本では、経口摂取されるもので医薬品に該当しないものは、すべて「食品」として扱われる¹⁾。近年、健康志向の高まりを背景に、健康の維持・増進をうたう健康食品が、世界中で流通している。しかし、違法に医薬品成分を含有する健康食品(無承認無許可医薬品)が、毎年報告される²⁻¹²⁾。最近では、ステロイドを含む健康茶¹³⁾がメディア等で大きく報道されるなど、健康食品が原因となる保健衛生上の危機が顕在化する事例も目立ってきている。健康食品の摂取によって生じた重篤な有害事象の要因として、無承認無許可医薬品に含まれる医薬品成分の存在が指摘されている¹⁴⁻¹⁸⁾。

違法な健康食品による健康被害の未然防止及び拡大防止を図ることを目的として、大阪府及び大阪市では流通する健康食品の買上調査を実施している。当研究所では、大阪府・市の依頼を受け、強壮効果または痩身効果を有する医薬品成分から 40 成分を対象としてスクリーニング分析を行っている。大阪健康安全基盤研究所衛生化学部医薬品課

過去には、強壮あるいは痩身効果を標榜する製品からジメチルジチオノルカルボデナフィル、ノルカルボデナフィル及びビンポセチン等を検出した¹⁹⁻²³⁾。

今回、大阪府が 2024 年度に実施した買上調査 24 品目のうち、1 品目からタダラフィル及びクロロプレタダラフィルが検出された事例について報告する。

実 験 方 法

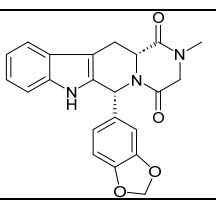
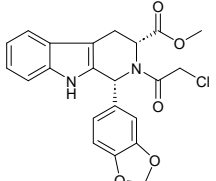
1. 試薬

標準品として用いたタダラフィルは Sigma-Aldrich 社、クロロプレタダラフィルは TLC PharmaChem 社から購入した。アセトニトリル、ギ酸及びメタノールは LC/MS 用を、トリエチルアミン及び酢酸エチルは試薬特級をそれぞれ富士フィルム和光純薬社から購入した。水は Merck Millipore 社製の Elix Advantage-10 で調製した。

2. 試料

店頭販売で試買した製品(6 包/箱、シロップ状)のうち 1 包を試料とした。

表 タダラフィル及びクロロプレタダラフィルの構造

物質名	分子量	構造
タダラフィル C ₂₂ H ₁₉ N ₃ O ₄	389.40	
クロロプレ タダラフィル C ₂₂ H ₁₉ ClN ₂ O ₅	426.85	

3. 装置

液体クロマトグラフィーフォトダイオードアレイ検出器 (LC/PDA) は島津製作所社製 Nexera-i LC-2040C 3D Plus を用いた。ガスクロマトグラフィー質量分析計 (GC/MS) は Agilent Technologies 社製 GC8890/7000MSD を用いた。液体クロマトグラフィー四重極飛行時間型質量分析計 (LC/Q-TOF MS) は Agilent Technologies 社製 6546 LC/Q-TOF MS を用いた。

4. 標準溶液の調製

タダラフィル: タダラフィルをアセトニトリルで溶解し、標準原液とした (1004 µg/mL)。この溶液をアセトニトリル、0.1%ギ酸水溶液あるいは0.1%ギ酸含有 50%アセトニトリル溶液で適宜希釈したものを標準溶液とした。

クロロプレタダラフィル: クロロプレタダラフィルをアセトニトリルで溶解し、標準原液とした (190 µg/mL)。この溶液を 0.1%ギ酸水溶液または0.1%ギ酸含有 50%アセトニトリル溶液で適宜希釈したものを標準溶液とした。

5. 試料溶液の調製

検体 (9.8 g/包) の半分をメタノールで溶解させた後、溶液をエバポレーターで濃縮・乾固した。残渣に 0.1%ギ酸水溶液 25 mL を加え、さらにメタノールを加えて正確に 50 mL とした。全量を遠心分離 (3500 rpm (2300×g)、5分) し、上澄み液をメンブレンフィルター (Membrane Solutions 社製、メンブレン材質; グラスファイバー、孔径; 1.0 µm) でろ

過したものを試料原液とした。試料原液を 0.1%ギ酸水溶液あるいは0.1%ギ酸含有 50%アセトニトリル溶液で適宜希釈するか試料原液を試料溶液とした。また、試料原液を溶媒留去し、1%トリエチルアミン含有酢酸エチル 1000 µL の溶解液に対して水 1000 µL で分液操作を行い、回収した酢酸エチル層に同量の1%トリエチルアミン含有酢酸エチルを加えたものを GC/MS 用試料溶液とした (試料原液に対して2倍希釈)。

6. 機器分析の測定条件

各機器の測定条件は既報²⁴⁻²⁶⁾を一部改変して実施した。

(1) LC/PDA

移動相 A; 0.1%ギ酸水溶液/0.1%ギ酸含有アセトニトリル混液 (4:1)、移動相 B; 0.1%ギ酸水溶液/0.1%ギ酸含有アセトニトリル混液 (2:3)、カラム; COSMOSIL Packed Column 3C18-EB (ナカライテスク社製、4.6 mm×250 mm、3 µm)、ガードカラム; COSMOSIL Guard Column (ナカライテスク社製、4.6 mm×10 mm、3 µm)、カラム温度; 40°C、注入量; 50 µL、流量; 0.8 mL/min、グラジエント条件; A:B=100:0 (0 min) →0:100 (50–55 min) →100:0 (56–91 min)

PDA 測定波長; 190–400 nm

(2) GC/MS

キャリアガス; ヘリウム、カラム; HP-5 MS (Agilent Technologies 社製、30 m×0.25 mm、膜厚 0.25 µm)、注入方法; スプリットレス法、注入口温度; 250°C、注入量; 1 µL、流量; 1 mL/min、昇温条件; 50°C (1 min 保持) →25°C/min→150°C→10°C/min→300°C (25 min 保持)

イオン化法; 電子イオン化法 (EI)、測定モード; positive scan モード (質量電荷比 m/z 41–550)、イオン源温度; 230°C

(3) LC/Q-TOF MS

移動相 A; 0.1%ギ酸水溶液、移動相 B; 0.1%ギ酸含有アセトニトリル、カラム; ACQUITY UPLC HSS T3 (Waters 社製、2.1 mm×100 mm、1.8 µm)、カラム温度; 40°C、注入量; 1–2 µL、流量; 0.3 mL/min、グラジエント条件; A:B=65:35 (0–4 min) →25:75 (16 min) →10:90 (17–22 min) →65:35 (22.1–32 min)

イオン化法; エレクトロスプレーイオン化 (ESI) 法、測定モード; positive scan モード (m/z 100–1700)、

キャピラリー電圧; 3500 V、乾燥ガス流量; 8 L/min、乾燥ガス温度; 350°C、フラグメンター電圧; 175 V MS/MS 測定モード; Product ion scan モード (m/z 50–1000)、コリジョンエネルギー (CE); 10 eV、15 eV

結果

1. タダラフィルの検出

(1) LC/PDA 分析と含有量の推定

試料溶液を分析した結果、ピーク (保持時間: 約 31 分) を検出した。観察されたピークの紫外吸収スペクトルは 199、283 nm 付近に極大吸収波長をもっていた。そのピークの保持時間及び紫外吸収スペクトルはタダラフィル標準溶液の結果と一致していた (図 1)。また、試料溶液と標準溶液のピーク面積値から以下の計算式を用いて含有量を算出した。

1 検体あたりのタダラフィルの含有量 (mg)

$$= (A/B) \times (C/D) \times E$$

A: 標準溶液の濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

B: 標準溶液のピーク面積

C: 試料溶液のピーク面積

D: 試料溶液の濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

E: 試料溶液の内容容量 (mg)

その結果、1 検体あたり約 8 mg のタダラフィルが含まれていると推定された。

(2) GC/MS 分析

試料溶液を分析した結果、標準溶液の抽出イオンクロマトグラム (m/z 389) と同一保持時間 (約 36 min) にピークを確認した。当該ピークの質量スペクトルをみると、両者に共通して m/z 262 のプロダクトイオンが観察された (図 2)。

(3) LC/Q-TOF MS 分析

試料溶液を分析した結果、検出されたピークにつ

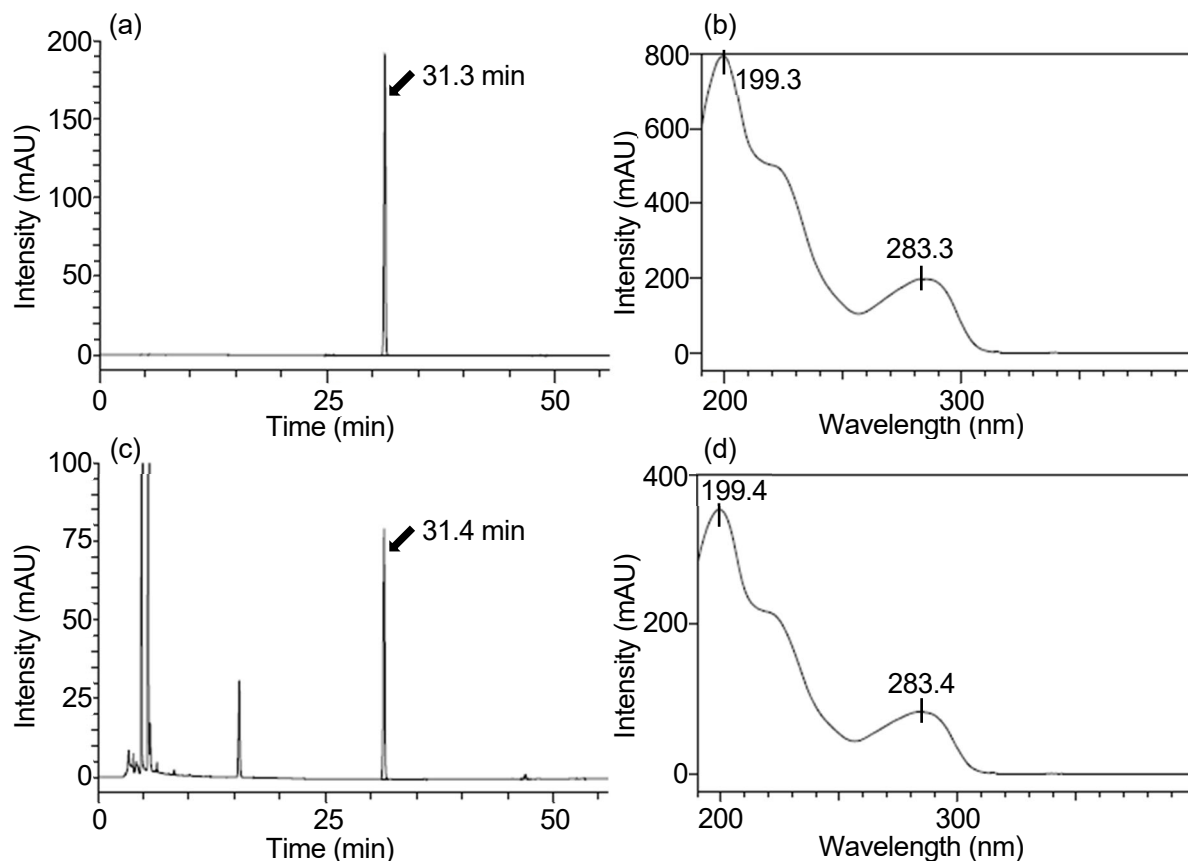


図 1 LC/PDA で得たタダラフィル標準溶液と試料溶液のクロマトグラム及び紫外吸収スペクトル (a) 標準溶液 (20 $\mu\text{g/mL}$ 、0.1% ギ酸水溶液) のクロマトグラム (検出波長 280 nm)、(b) 標準溶液の紫外吸収スペクトル、(c) 試料溶液 (試料原液の 10 倍希釈液) のクロマトグラム (検出波長 280 nm)、(d) 試料溶液の紫外吸収スペクトル

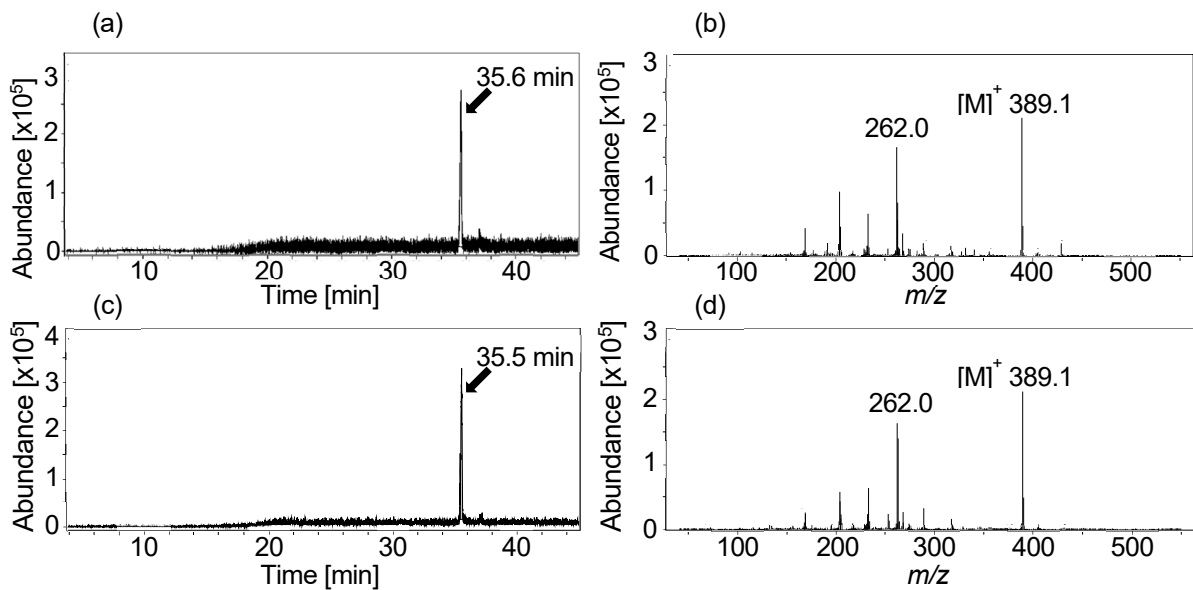


図2 GC/MS で得たタダラフィル標準溶液と試料溶液のクロマトグラム及び質量スペクトル
 (a) 標準溶液 (50 $\mu\text{g/mL}$ 、アセトニトリル溶液) の抽出イオンクロマトグラム (m/z 389.0)、(b) 標準溶液の質量スペクトル (35.5-35.6 min)、(c) 試料溶液の抽出イオンクロマトグラム (m/z 389.0)、(d) 試料溶液の質量スペクトル (35.4-35.6 min)

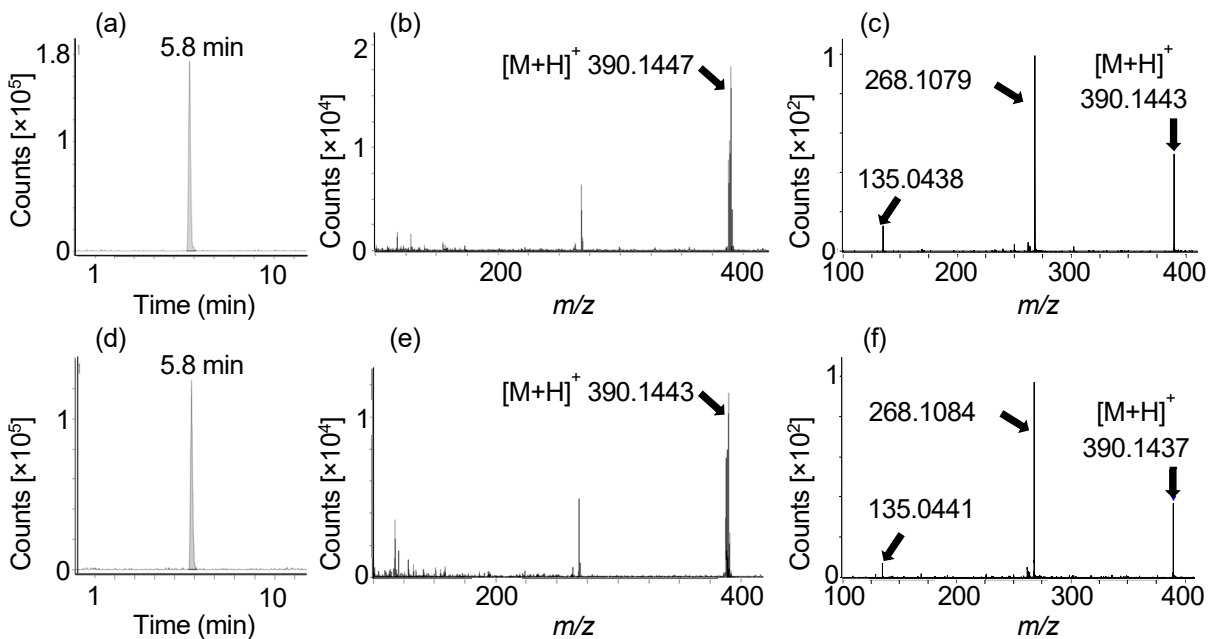


図3 LC/Q-TOF MS で得たタダラフィル標準溶液と試料溶液のクロマトグラム及び質量スペクトル
 (a) 標準溶液 (0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、0.1%ギ酸含有 50%アセトニトリル溶液) の抽出イオンクロマトグラム (m/z 390.1448)、(b) 標準溶液の質量スペクトル (5.7-5.8 min)、(c) 標準溶液のプロダクトイオンスペクトル (5.7-5.8 min、10 eV)、(d) 試料溶液 (試料原液の 2000 倍希釈液) の抽出イオンクロマトグラム (m/z 390.1448)、(e) 試料溶液の質量スペクトル (5.8-5.9 min)、(f) 試料溶液のプロダクトイオンスペクトル (5.8-5.9 min、10 eV)

いて、その保持時間及び質量スペクトルが標準溶液と一致した (図3)。次いで、 m/z 390.1448 をプリカーサーイオンとして、CE を 10 eV で MS/MS 分析

したところ、プロダクトイオン: m/z 268.1084、135.0441 が観察された。伊達らの報告では、図4の通り、 m/z 268 のイオンは4環とベンゾジオキソ-

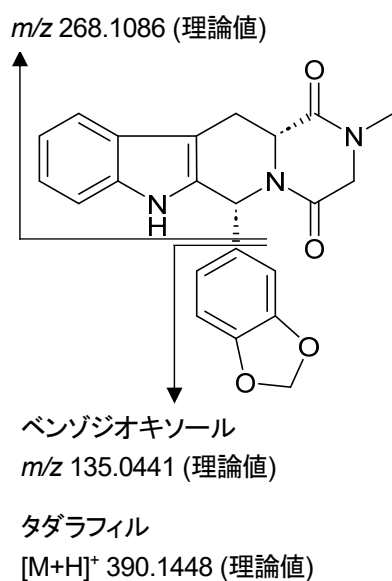


図4 タダラフィルのプロダクトイオンの構造

ルが結合した部分で開裂した4環部分の構造を示し、 m/z 135のイオンはベンゾジオキソール由来と推察²⁷⁾しており、タダラフィル由来の特異的なイオンを示唆する結果を得た。

2. クロロプレタダラフィルの検出

(1) LC/PDA 分析並びに含有量の推定

1.(1)と同様に試料溶液を分析した結果、ピーク(約47 min)を検出した。観察されたピークの紫外吸収スペクトルは281 nm付近に極大吸収波長をもっていた。そのピークの保持時間及び紫外吸収スペクトルはクロロプレタダラフィル標準溶液と一致していた(図5)。また、試料溶液と標準溶液のピーク面積値から1検体あたり約0.2 mgのクロロプレタダラフィルが含まれていると推定された。なお、含有量の算出には1.(1)と同じ式を用いた。

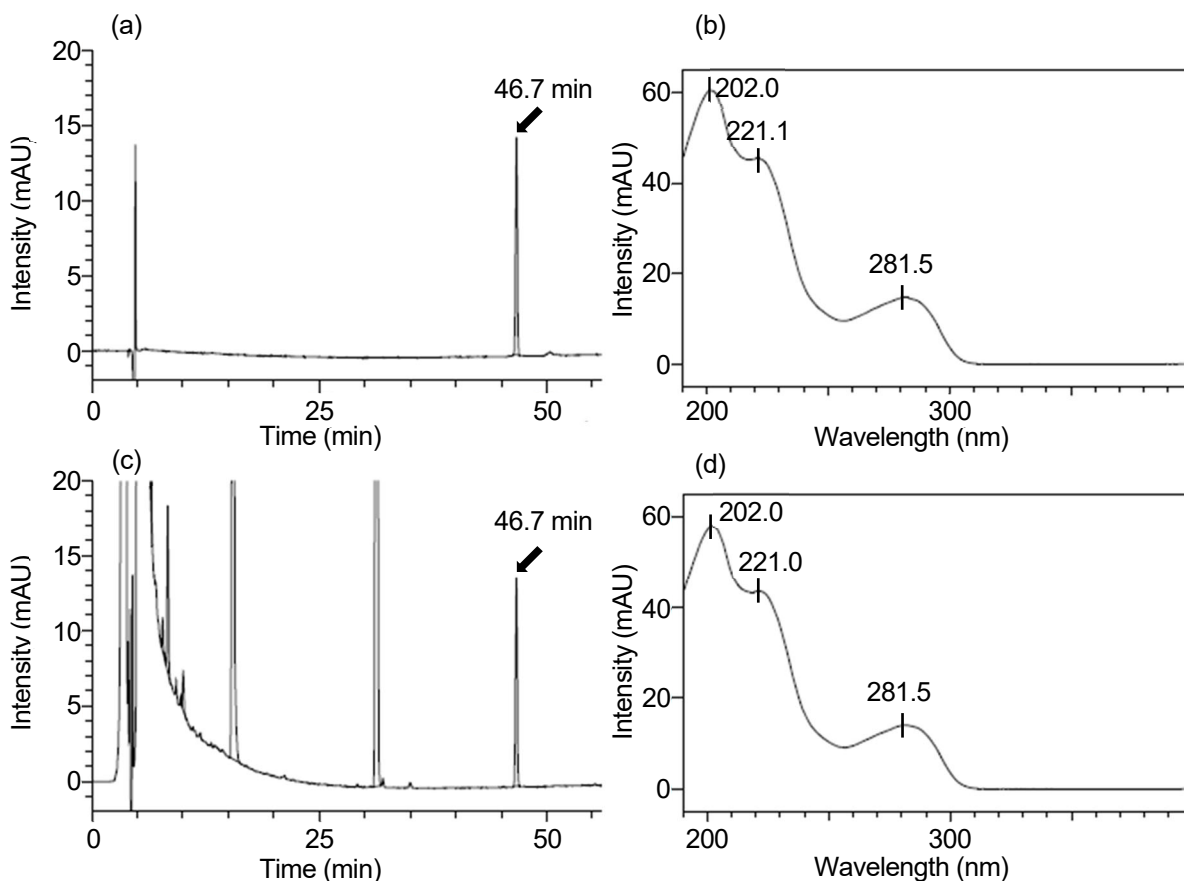


図5 LC/PDAで得たクロロプレタダラフィル標準溶液と試料溶液のクロマトグラム及び紫外吸収スペクトル

(a) 標準溶液 (1.9 $\mu\text{g/mL}$, 0.1% ギ酸水溶液) のクロマトグラム (検出波長 280 nm)、(b) 標準溶液の紫外吸収スペクトル、(c) 試料溶液 (試料原液) のクロマトグラム (検出波長 280 nm)、(d) 試料溶液の紫外吸収スペクトル

(2) LC/Q-TOF MS 分析

試料溶液を分析した結果、検出されたピークについて、その保持時間及び質量スペクトルが標準溶液と一致した (図 6)。次に、 m/z 427.1055 をプリカー

サイオンとして、CE を 15 eV で MS/MS 分析したところ、 m/z 334.1077 および 135.0440 が観察され、クロロプレタダラフィルの構造式に一致するプロダクトイオンが高い質量精度で確認された (図 6、7)。

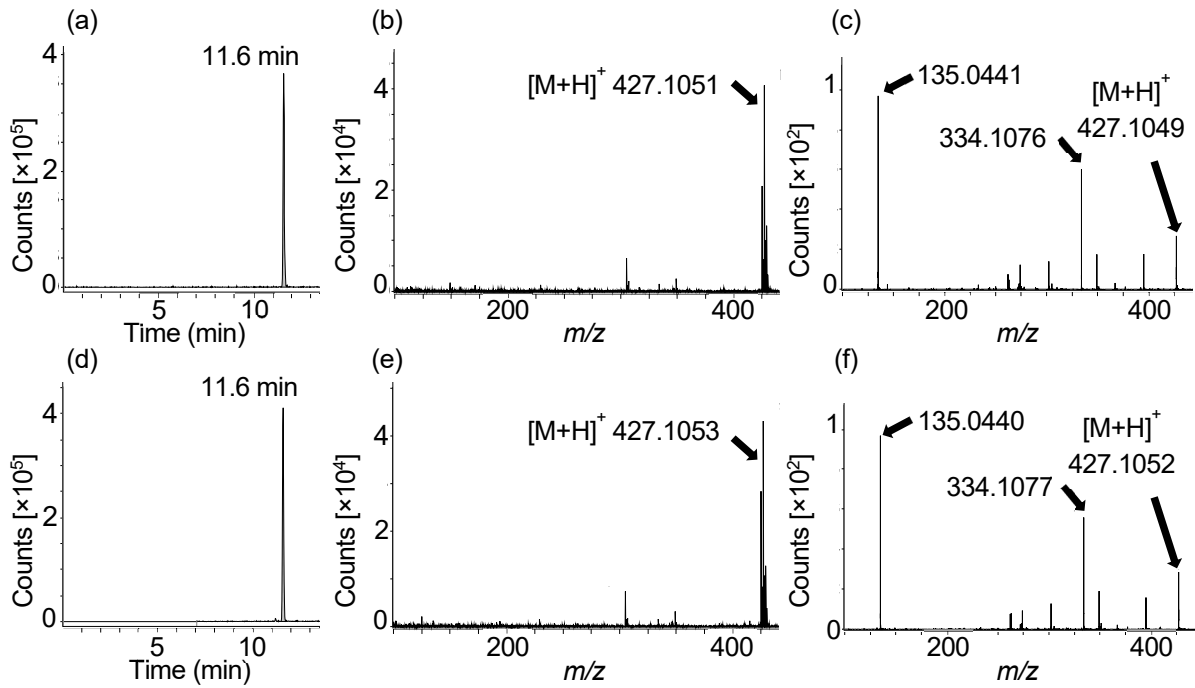
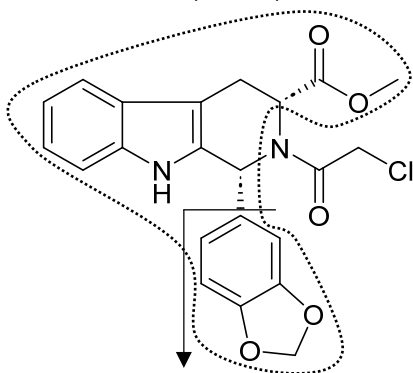


図 6 LC/Q-TOF MS で得たクロロプレタダラフィル標準溶液と試料溶液のクロマトグラム及び質量スペクトル

(a) 標準溶液 (0.1 $\mu\text{g/mL}$ 、0.1%ギ酸含有 50%アセトニトリル溶液) の抽出イオンクロマトグラム (m/z 427.1055)、(b) 標準溶液の質量スペクトル (11.6 min)、(c) 標準溶液のプロダクトイオンスペクトル (11.6 min、15 eV)、(d) 試料溶液 (試料原液の 20 倍希釈液) の抽出イオンクロマトグラム (m/z 427.1055)、(e) 試料溶液の質量スペクトル (11.6 min)、(f) 試料溶液のプロダクトイオンスペクトル (11.6 min、15 eV)

m/z 334.1074 (理論値)



m/z 135.0441 (理論値)

クロロプレタダラフィル

$[M+H]^+$ 427.1055 (理論値)

図 7 クロロプレタダラフィルのプロダクトイオンの構造

3. 報道発表

本件は 2024 年 9 月 19 日付で大阪府から府民に対し、使用中止等について注意喚起された²⁸⁾。

考 察

本製品には、ホスホジエステラーゼ 5 (PDE5) 阻害薬やその構造類似体を含む旨の表示はなかったが、実際にはタダラフィル及びクロロプレタダラフィルが含まれていた。人が経口摂取する物が医薬品に該当するかどうかの判断は、「医薬品の範囲に関する基準」(令和 2 年 3 月 31 日付 厚生労働省医薬・生活衛生局長通知 薬生発 0331 第 33 号)に基づいて行われる。タダラフィルおよびクロロプレタダラフィルは、同通知の別添「専ら医薬品として使用される成分本質 (原材料) リスト (専医リスト)」に例

示されており、医薬品に該当する成分である。したがって、本製品は薬機法上、医薬品として製造・販売等に関する規制を受けるべきものであるにもかかわらず、食品として販売されていたため、指導・取締りの対象となる。

タダラフィルは、PDE5 阻害作用により血管拡張を起こし、治療効果を発揮する勃起不全治療薬で、副作用として頭痛、筋肉痛、紅潮、消化不良及び下肢痛などがある^{29,32)}。PDE5 阻害剤の投与でまれに心筋梗塞や発作が報告されている^{31,32)}。本邦では、タダラフィルが医療用医薬品として、2007年7月に承認された。しかし、調査で買上げた本製品は、医薬品として承認されたものではなく、医薬品成分が違法に混入された健康食品であるため、安全性が担保されない。本製品には、タダラフィルが医療用医薬品としての通常使用(1日1回2.5~20mg錠)に相当する量が配合されている。タダラフィルの医薬品製剤は、硝酸剤または一酸化窒素供与剤との併用は禁忌となっている^{30,31,33,34)}。そのため、腎障害のある患者や硝酸剤等を服用している患者が、知らずに本製品を服用すると、降圧作用を増強³¹⁾し、重篤な有害事象を発生する可能性が極めて高くなる。クロロプレタダラフィルについては、医薬品として国内で承認されていない。タダラフィルの構造を一部改変しても活性が保たれることが報告されており^{35,36)}、構造改変体であるクロロプレタダラフィルも類似の作用を示すと考えられる。この製品の安全性が、十分に調査されていないことから、消費者の健康にリスクをもたらす可能性が考えられる。

健康被害の未然防止及び拡大防止を図るべく、このような無承認無許可医薬品を市場から排除する必要がある。そのため、健康食品に配合される可能性が高い医薬品成分の動向を調査し、検査を継続的に実施できる体制の確保、積極的な情報提供が重要である。

利益相反

開示すべき利益相反はない。

文献

1) 医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律。昭和35年法律第145号。(最終改正：令和6年12月12日)

2) 米国食品医薬品局 (FDA). One Source Nutrition, Inc. Issues Voluntary Nationwide Recall of Vitality Capsules Due to Presence of Undeclared Sildenafil and Tadalafil. 2025年2月20日.

<https://www.fda.gov/safety/recalls-market-withdrawals-safety-alerts/one-source-nutrition-inc-issues-voluntary-nationwide-recall-vitality-capsules-due-presence>

3) カナダ保健省. Unauthorized sexual enhancement products may pose serious health risks. 2025年2月19日. <https://recalls-rappels.canada.ca/en/alert-recall/unauthorized-sexual-enhancement-products-may-pose-serious-health-risks#wb-auto-2>

4) シンガポール保健科学庁. HSA updates on products found overseas that contain potent ingredients (December 2024). 2025年1月2日. [https://www.hsa.gov.sg/announcements/safety-alert/hsa-updates-on-products-found-overseas-that-contain-potent-ingredients-\(december-2024\)](https://www.hsa.gov.sg/announcements/safety-alert/hsa-updates-on-products-found-overseas-that-contain-potent-ingredients-(december-2024))

5) FDA. Rhino 11 Gummy may be harmful due to hidden drug ingredient. 2024年12月26日. <https://www.fda.gov/drugs/medication-health-fraud/rhino-11-gummy-may-be-harmful-due-hidden-drug-ingredient>

6) 東京都. 医薬品成分を含有する製品の発見について. 2024年8月6日. <https://www.metro.tokyo.lg.jp/tosei/hodohappyo/press/2024/08/06/04.html>

7) 東京都. 保健医療局医薬品成分を含有する製品の発見について. 2024年8月2日. <https://www.metro.tokyo.lg.jp/tosei/hodohappyo/press/2024/08/02/19.html>

8) Kosić-Vukšić J, Krivohlavek A, Žuntar I, Pocrnić M, Galić N. Undeclared phosphodiesterase type 5 inhibitors (PDE5Is) in food supplements on the Croatian market analyzed by liquid chromatography time-of-flight mass spectrometry (LC-QTOF-MS). *Microchemical Journal* 2024; **203**: 110917–110925. <https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110917>

9) Lee JH, Kim HJ, Noh E, Kim JY, Cho SH, Do JA, Yoon CY, Cho S, Kim WS. Identification and screening of a tadalafil analogue found in adulterated herbal products. *J Pharm Biomed Anal* 2015; **103**: 80–84. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.11.006>

- 10) Kern SE, Nickum EA, Flurer RA, Toomey VM, Litzau JJ. Isolation and structural characterization of a new tadalafil analog (2-hydroxyethylnortadalafil) found in a dietary supplement. *J Pharm Biomed Anal* 2015; **25**: 99–103.
<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.10.021>
- 11) Jiru M, Stranska-Zachariasova M, Dzuman Z, Hurkova K, Tomaniova M, Stepan R, Cuhra P, Hajslova J. Analysis of phosphodiesterase type 5 inhibitors as possible adulterants of botanical-based dietary supplements: extensive survey of preparations available at the Czech market. *J Pharm Biomed Anal* 2019; **164**: 713–724.
<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.11.007>
- 12) 吹譯友秀, 山崎翠, 高橋和長, 土井崇広, 川口正美, 榎本啓吾, 吉野宏毅, 内本勝也, 西村真紀. 健康食品に含まれていたタダラフィルおよびタダラフィル構造類似物質の立体配置. *食品衛生学雑誌* 2021; **62**: 65–72.
<https://doi.org/10.3358/shokueishi.62.65>
- 13) 独立行政法人国民生活センター. 花粉症への効果をほのめかした健康茶にステロイドが含まれている方は、医療機関にご相談を— 2023年4月12日.
https://www.kokusen.go.jp/news/data/n-20230412_1.html
- 14) 厚生労働省. インターネット等で購入した未承認医薬品等・健康食品(医薬品成分含む)の健康被害情報.
https://www.mhlw.go.jp/stf/kinkyu/diet/musyounin_00005.html
- 15) 増子沙輝, 古島大資, 池谷怜, 橋本潮里, 千葉剛, 梅垣敬三, 山田浩. 東京都における長期データベースに基づく健康食品摂取に伴う健康被害事例の発現傾向の検討. *臨床薬理* 2019; **50**: 213–219. <https://doi.org/10.3999/jsct.50.213>
- 16) 西島千陽, 千葉剛, 梅垣敬三. 全国オンライン調査で推定したサプリメント利用による肝機能指標悪化の頻度. *食品衛生学雑誌* 2022; **63**: 169–176. <https://doi.org/10.3358/shokueishi.63.169>
- 17) 梅垣敬三, 池田秀子, 吉岡加奈子, 鬼頭志保, 山田澄恵, 西島千陽, 岩崎孝宏, 清水浩一. 健康食品に関する安全性確保の現状および対策と課題—有害事象報告制度の日米比較を中心に—. *栄養学雑誌* 2022; **80**: 3–20.
<https://doi.org/10.5264/eiyogakuzashi.80.3>
- 18) Brown AC. An overview of herb and dietary supplement efficacy, safety and government regulations in the United States with suggested improvements. Part 1 of 5 series. *Food Chem Toxicol* 2017; **107**: 449–471.
<https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.11.001>
- 19) 武田章弘, 浅田安紀子, 清田恭平, 土井崇広, 田上貴臣. 健康食品中に含有される医薬品成分類似化合物ジメチルジチオノルカルボデナフィルの検出. *地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2020; **4**: 76–81.
- 20) 大阪府. 平成30年度健康食品買上げ検査(医薬品成分が検出された健康食品)について. 2019年3月27日.
<https://www.pref.osaka.lg.jp/o100100/yakumu/kenkouushokuhin/kenh30kaiage2.html>
- 21) 大阪府. 平成29年度健康食品買上げ検査(医薬品成分が検出された健康食品)について. 2017年8月4日.
<https://www.pref.osaka.lg.jp/o100100/yakumu/kenkouushokuhin/kenh29kaiage2.html>
- 22) 大阪府. 平成29年度健康食品買上げ検査(医薬品成分が検出された健康食品)について. 2017年7月13日.
<https://www.pref.osaka.lg.jp/o100100/yakumu/kenkouushokuhin/kenh29kaiage.html>
- 23) 阪井貴之, 浅田安紀子, 東雄貴, 田中未紗, 土井崇広, 田上貴臣. 瘦身効果を標榜する健康食品からビンポセチンを検出した事例. *地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2024; **8**: 79–86.
- 24) 武田章弘, 浅田安紀子, 清田恭平, 土井崇広, 田上貴臣. 液体クロマトグラフィー-フォトダイオードアレイ検出器を用いた医薬品成分の一斉分析法の開発. *地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2020; **4**: 70–75.
- 25) Tagami T, Aoyama A, Takeda A, Asada A, Doi T, Kajimura K, and Sawabe Y. Simultaneous Identification of 18 Illegal Adulterants in Dietary Supplements by Using High-Performance Liquid Chromatography Mass Spectrometry. *Food Hyg Saf Sci* 2014; **55**: 34–40.
<https://doi.org/10.3358/shokueishi.55.34>
- 26) Uchiyama N, Kawamura M, Kikura-Hanajiri R,

- Goda Y. URB-754: a new class of designer drug and 12 synthetic cannabinoids detected in illegal products. *Forensic Sci Int* 2013; **227**: 21–32.
<https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2012.08.047>
- 27) 伊達英代, 井原紗弥香, 寺内正裕, 新井清, 松尾健. 広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告 2013; **21**: 1–7.
<https://www.pref.hiroshima.lg.jp/soshiki/25/press-houkoku.html>
- 28) 大阪府. 令和6年度健康食品買い上げ検査(医薬品成分が検出された健康食品)について. 2024年9月19日.
https://www.pref.osaka.lg.jp/o100100/yakumu/kenkouushokuhin/r06_kensyoku.html
- 29) Galiè N, Brundage BH, Ghofrani HA, Oudiz RJ, Simonneau G, Safdar Z, Shapiro S, White RJ, Chan M, Beardsworth A, Frumkin L, Barst RJ. Pulmonary Arterial Hypertension and Response to Tadalafil (PHIRST) Study Group. Tadalafil therapy for pulmonary arterial hypertension. *Circulation* 2009; **119**: 2894–2903.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.839274>
- 30) Rashid A. The efficacy and safety of PDE5 inhibitors. *Clin Cornerstone* 2005; **7**: 47–56.
[https://doi.org/10.1016/S1098-3597\(05\)80048-1](https://doi.org/10.1016/S1098-3597(05)80048-1)
- 31) Kloner RA, Mitchell M, Emmick JT. Cardiovascular effects of tadalafil. *Am J Cardiol* 2003; **92**: 37M–46M. [https://www.ajconline.org/article/S0002-9149\(03\)00074-2/abstract](https://www.ajconline.org/article/S0002-9149(03)00074-2/abstract)
- 32) Calabrò RS, Reitano S, Bramanti P. Tadalafil-induced tonic-clonic seizures in a 23-year-old man. *Epilepsy Behav* 2013; **28**: 519–320.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.yebeh.2013.06.012>
- 33) Kloner RA, Hutter AM, Emmick JT, Mitchell MI, Denne J, Jackson G. Time course of the interaction between tadalafil and nitrates. *J Am Coll Cardiol* 2003; **42**: 1855–1860.
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2003.09.023>
- 34) Patterson D, Kloner R, Effron M, Emmick J, Bedding A, Warner M, Mitchell M, Braat S, MacDonald T. The effect of tadalafil on the time to exercise-induced myocardial ischaemia in subjects with coronary artery disease. *Br J Clin Pharmacol* 2005; **60**: 459–468.
<https://bpspubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2125.2005.02479.x>
- 35) Nemr MTM, Abdelaziz MA, Teleb M, Elmasry AE, Elshaier YAAM. An overview on pharmaceutical applications of phosphodiesterase enzyme 5 (PDE5) inhibitors. *Mol Divers* 2024; **27**
<https://link.springer.com/article/10.1007/s11030-024-11016-2>
- 36) Zong T, Huang X, Zhou W, Hu Z, Jin L, Zhan P, Zhao Y, Sun J, Li G. Advances in the development of phosphodiesterase 5 inhibitors. *Eur J Med Chem* 2025; **287**: 117365–117391.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2025.117365>
- WEB サイトの内容は 2026 年 1 月 14 日に確認した。

The detection of tadalafil and chloropretadalafil in dietary supplements used for sexual enhancement

Yusuke SAKAMOTO, Yuki AZUMA, Akiko ASADA, Takayuki SAKAI, Misa TANAKA, Takahiro DOI and
Takaomi TAGAMI

Several phosphodiesterase type 5 (PDE-5) inhibitors such as sildenafil, vardenafil, and tadalafil have been approved for the treatment of erectile dysfunction (ED) in many countries. In the past few years, PDE-5 inhibitors have been frequently detected in dietary supplements without any declarations on their labels. Adverse effects, including headaches, facial flushing, and dyspepsia, pose serious public health risks. In response to these concerns, we examined the dietary supplements purchased by local governments in Osaka. As part of a regulatory screening program conducted at our institute in 2024, 40 pharmaceutical ingredients associated with sexual enhancement or weight loss were screened. We report on the detection of pharmaceutical ingredient-like compounds tadalafil and chloropretadalafil in dietary supplements which were revealed in the examination conducted in 2024. High-Performance Liquid Chromatography was used to screen dietary supplements for the presence of pharmaceutical ingredients. In total, 24 products in various forms were screened, one of which contained tadalafil and chloropretadalafil. Analysis using gas chromatography-mass spectrometry, liquid chromatography-quadrupole time-of-flight mass spectrometry, and liquid chromatography-photodiode array detection detected tadalafil and chloropretadalafil in the product examined; the content was 8 and 0.2 mg, respectively, per liquid in the product.

Key words : food supplement, pharmaceutical ingredients, PDE5 inhibitors, tadalafil, chloropretadalafil

水質検査における外部精度管理 (2023 年度)

-塩化物イオン-

吉田 仁, 安達史恵, 長谷川有紀, 小泉義彦

水道水質検査精度の向上を図ることを目的とし、水道事業者等 28 機関、登録建築物検査業者 18 機関を対象に外部精度管理を各々実施した。水道事業者等及び登録建築物検査業者に精度管理試料を配付し、各機関が水道水質検査法に従って測定した検査結果を回収した。各機関の検査値を解析した結果、水道事業者等は、すべての参加機関の分析精度は良好であった。登録建築物検査業者は、18 機関中 1 機関が、真値に対する誤差率及び Z スコアの許容範囲を超過した。この機関を対象に定量精度に関するフォローアップ調査を行ったところ、クロマトグラムにおける不適切なベースラインが検査値に影響を及ぼしたことが明らかとなった。

キーワード：水道水、塩化物イオン、水道水質検査、定量精度、外部精度管理

(地独) 大阪健康安全基盤研究所では、大阪府健康医療部生活衛生室環境衛生課と協力して、水道水質検査精度の向上を図ることを目的に、水質検査を実施している大阪府内水道事業者、保健所及び公的研究機関(水道事業者等)を対象に外部精度管理事業を実施している¹⁻⁶⁾。また、2015 年度より(一社)大阪ビルメンテナンス協会からの依頼により「建築物における衛生的環境の確保に関する法律」第 12 条の 2 第 1 項に規定の「建築物飲料水水質検査業」の大阪府知事登録を受けている事業所(登録建築物検査業者)を対象に外部精度管理事業を実施している⁶⁻⁹⁾。

2023 年度の対象項目は、無機項目として「塩化物イオン」を選定した。塩化物イオンは、水中に溶解している塩化物中の塩素分をいう。塩化物はナトリウム塩(NaCl)、カリウム塩(KCl)、カルシウム塩(CaCl₂)等として自然界に広く存在している^{10,11)}。塩化物イオンの水環境における動態としては地質に由来し、海岸地帯では海水の浸透による影響を受ける¹⁰⁾。下水、家庭排水、工場排水等の混入によって増加し、水道水中の塩化物イオンは、凝集剤のポリ塩化アルミニウムや消毒剤である次亜塩素酸ナ

トリウムの使用により増加する^{10,11)}。塩化物イオンは、通常の浄水処理方法では除去できないが、イオン交換や膜ろ過処理により除去することが可能である¹⁰⁾。

1958 年の水質基準に関する省令(厚生省令第 23 号)で塩化物イオンの基準値が「200 ppm」に設定されたが、これは汚染の指標ではなく、味覚という観点から定められた。1992 年の水質基準に関する省令の改正(厚生省令第 69 号)では、「水道水が有すべき性状に関連する項目」に分類され、基準値は従来通り 200 mg/L と変わらず、現在も基準値の変更はない¹¹⁾。

方 法

1. 参加機関

外部精度管理に参加した水道事業者等及び登録建築物検査業者は 28 機関及び 18 機関であった。水道事業者等の内訳は水道事業者 24 機関、保健所 1 機関及び公的研究機関 3 機関であった。

2. 実施方法

(1) 精度管理試料の調製方法

2023年9月25日に精製水約50Lをポリタンクに採水した。精製水中の塩化物イオンを測定するため、標準液添加前に当該ポリタンクから0.25L採水した。精製水中の塩化物イオンは、(2)で後述するイオンクロマトグラフ(陰イオン)による一斉分析法を用いて、予め測定したところ0.2mg/L未満であった。塩化ナトリウム(富士フィルム和光純薬:残留農薬・PCB試験用)を2.06g添加後攪拌し、配付用容器である250mLポリエチレン容器に分注した。冷蔵保管した後、水道事業者等には9月27日に配付し、登録建築物検査業者には9月28日に到着するように冷蔵で送付した。なお塩化物イオンの添加濃度は、水質基準値の判定値付近の25mg/Lに設定した。

(2) 試料の検査方法

検査方法は「水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法」(告示法)のイオンクロマトグラフ(陰イオン)による一斉分析法(別表第13、IC法)及び滴定法(別表第21)とした¹²⁾。精度管理試料については5併行で測定し、有効数字3桁でその平均値を算出し、検査値とした。さらに各検査機関には標準作業手順書(SOP)、分析条件、検査に使用した機器の測定データ及びチャートの提出を求めた。

(3) 評価の検証方法及びフォローアップ調査

各検査実施機関から送付された検査値等を取りまとめた後、検査結果及び検査方法等に関する評価を実施した。

はじめに、各機関内で測定された検査値の変動係数が10%を超過した機関は評価対象外とした。検査結果は、「真値」に対する誤差率(誤差率)及びzスコアで評価を行い、両方の評価方法において許容範囲を超過した検査値を「外れ値」とした。「真値」は、各機関からの検査値を用いて、有意水準を5%としてGrubbsの棄却検定¹³⁾を行い、棄却された機関を除いた後に平均を求め、これを「真値」とした。誤差率は、下の式から算出し、±10%以内を許容範囲とした。

$$\text{誤差率 (\%)} = ([\text{各機関の検査値}] - [\text{真値}]) / [\text{真値}] \times 100$$

zスコアは四分位数法で算出し¹⁴⁾、zスコアの絶対値3未満を許容範囲とした。誤差率及び変動係数の許容範囲を10%とした根拠は、水質基準項目の

測定精度における塩化物イオンの変動係数の目標が10%であるためである¹⁵⁾。なお、変動係数、誤差率及びzスコアについては、検査値を計算過程で丸めずに算出した。そして「外れ値」に該当した機関に対してフォローアップ調査を実施した。

結果 および 考察

1. 精度管理試料の均一性及び安定性

精度管理試料の均一性を確認するために、試料調製日に試料を分注順に等間隔で5本抜き取り、それぞれn=2で測定した。そして、得られた測定結果を基に一元配置分散分析を行った。その結果、精度管理試料の平均濃度は26.6mg/L(標準偏差1.39、変動係数5.22%)となり、試料間の変動は有意とならなかったため(p=0.66)、均一性に問題がないことを確認した。また、精度管理試料は、調製後2、3、4、7、15、18日目に冷蔵保管していた試料1本を抜き取り、その試料についてn=5で測定を行い、経時変化を確認した。調製日については、均一性を評価したデータを使用した(n=10)。図1に示すように、近似直線の傾きはほぼ0で、精度管理試料の安定性に問題はないと判断した。

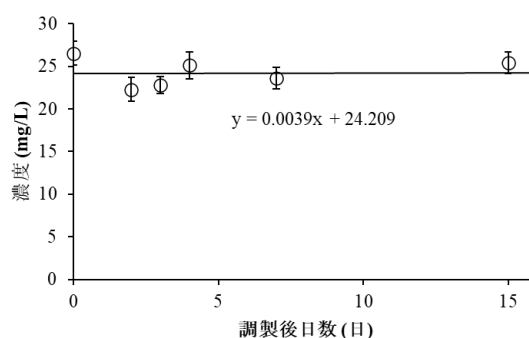


図1 精度管理試料の安定性(調製日n=10、それ以外n=5、平均±標準偏差)

2. 検査方法

参加機関が用いた検査方法について、水道事業者等では、26機関がIC法、2機関が滴定法で検査を実施していた。一方、登録建築物検査業者ではすべての機関がIC法を用いていた。

3. 検査結果の検証

(1) 誤差率、zスコア及び「外れ値」

水道事業者等28機関及び登録建築物検査業者18

機関から報告された検査値、変動係数、誤差率及びzスコアを表2に示す。また、各機関の検査値の度数分布図を図2に示す。

表 1. 外部精度管理における検査値の概要

水道事業者等

機関番号	検査方法	検査値 (平均値) (mg/L)	変動係数 (%)	真値に対する 誤差率 (%)	zスコア
A-1	IC	23.2	0.24	-6.64	-5.16
A-2	IC	23.4	2.48	-5.51	-4.34
A-3	滴定	24.0	0.70	-3.41	-2.82
A-4	IC	24.4	0.37	-1.80	-1.64
A-5	IC	24.4	0.00	-1.64	-1.52
A-6	IC	24.5	0.67	-1.32	-1.29
A-7	IC	24.6	0.00	-0.84	-0.94
A-8	IC	24.7	0.18	-0.51	-0.70
A-9	IC	24.7	0.44	-0.35	-0.59
A-10	IC	24.8	0.46	-0.19	-0.47
A-11	IC	24.8	0.18	-0.11	-0.41
A-12	滴定	24.8	0.72	-0.11	-0.41
A-13	IC	24.9	0.66	0.29	-0.12
A-14	IC	24.9	0.00	0.37	-0.06
A-15	IC	24.9	0.22	0.54	0.06
A-16	IC	24.9	0.36	0.54	0.06
A-17	IC	24.9	0.83	0.54	0.06
A-18	IC	25.0	0.22	0.62	0.12
A-19	IC	25.0	0.22	0.94	0.35
A-20	IC	25.1	0.28	1.18	0.53
A-21	IC	25.1	0.18	1.26	0.59
A-22	IC	25.1	0.18	1.26	0.59
A-23	IC	25.1	0.18	1.26	0.59
A-24	IC	25.2	0.18	1.50	0.76
A-25	IC	25.2	0.33	1.66	0.88
A-26	IC	25.3	0.18	1.91	1.06
A-27	IC	25.5	0.28	2.79	1.70
A-28	IC	26.2	1.84	5.78	3.87
平均値		24.8			
最大値		26.2			
最小値		23.1			
標準偏差		0.59			
変動係数(%)		2.4			
n		28			

真値：24.8 mg/L

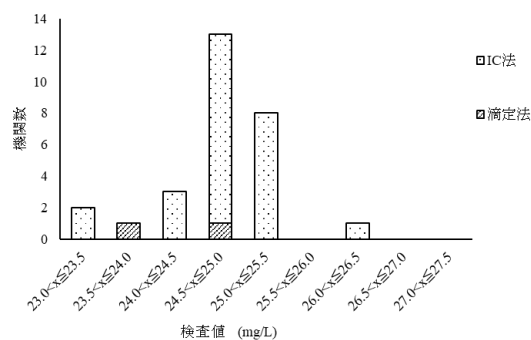
登録建築物検査業者

機関番号	検査方法	検査値 (平均値) (mg/L)	変動係数 (%)	真値に対する 誤差率 (%)	zスコア
B-1	IC	23.8	0.86	-3.02	-1.44
B-2	IC	23.9	1.73	-2.70	-1.30
B-3	IC	24.0	0.37	-2.45	-1.19
B-4	IC	24.1	0.37	-2.05	-1.02
B-5	IC	24.2	0.23	-1.64	-0.84
B-6	IC	24.3	0.23	-1.23	-0.67
B-7	IC	24.5	0.34	-0.34	-0.28
B-8	IC	24.6	0.18	0.23	-0.04
B-9	IC	24.6	0.36	0.32	0.00
B-10	IC	24.6	0.22	0.32	0.00
B-11	IC	24.7	0.00	0.56	0.11
B-12	IC	24.7	1.05	0.72	0.18
B-13	IC	24.8	0.36	0.80	0.21
B-14	IC	25.0	0.18	1.86	0.67
B-15	IC	25.1	0.44	2.27	0.84
B-16	IC	25.2	1.03	2.51	0.95
B-17	IC	25.5	0.00	3.82	1.51
B-18*	IC	27.2	0.40	10.66	4.45
平均値		24.7			
最大値		27.2			
最小値		23.8			
標準偏差		0.78			
変動係数(%)		3.1			
n		18			

真値：24.6 mg/L

*：真値に対する誤差率が±10%を超え、zスコアの絶対値が3以上の機関（外れ値）

水道事業者等



登録建築物検査業者

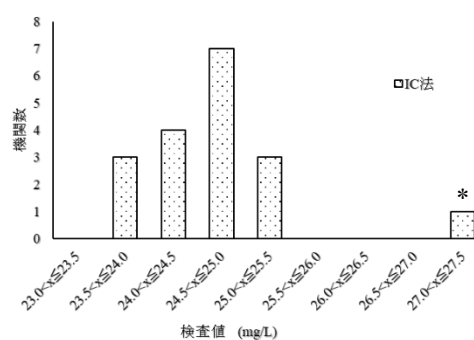


図 2. 水道事業者等及び登録建築物検査業者における検査法別の検査値の度数分布図（*：外れ値）

水道事業者等において、機関内変動係数が10%を超えた検査は存在しなかったため、すべての検査値を評価対象とした。「真値」を算出するため、検査値をGrubbsの棄却検定を行ったが棄却された機関は存在しなかったため、全検査値の平均24.8 mg/Lを「真値」とした。「真値」に対する誤差率の範囲は-6.64～5.78%となり、許容範囲を超えた機関はなかった。一方、zスコアの範囲は-5.16～3.87となり、3機関（A-1、A-2、A-28）が許容範囲内を超えた。誤差率及びzスコアの許容範囲を超えた「外れ値」に該当する機関は存在しなかった。

登録建築物検査業者において、機関内変動係数が10%を超えた検査値は存在しなかったため、すべての検査値を評価対象とした。検査値をGrubbsの棄却検定を行った結果、1機関が棄却されたため、その1機関を除いた17機関の検査値を平均した24.6 mg/Lを「真値」とした。「真値」に対する誤差率の範囲は-3.02～10.66%となり、許容範囲を超えたのは1機関（B-18）であった。一方、zスコアの範囲は-1.44～4.45となり、許容範囲を超えたのは1機関（B-18）であった。誤差率及びzスコアの許

容範囲を超えた「外れ値」に該当する検査値は1機関(B-18)となり、当該機関に対しフォローアップ調査を行った。

(2) フォローアップ調査

機関 B-18 は、IC 法を用いており、検査値は 27.2 mg/L、「真値」に対する誤差率は 10.66%、z スコアは 4.45 であった。

機関 B-18 では、SOP、標準系列調製方法、試料の前処理方法等で告示法を逸脱する点は見られなかった。しかし、塩化物イオンのクロマトグラムを再確認したところ、最も高い濃度の標準液のベースラインを水平ではなく斜めに引いていたことがわかった(図 3)。標準液のピーク面積値が小さくなったために検量線の傾きが小さくなり、その結果として精度管理試料の検査値が高くなったことが明らかになった(図 4)。この機関では結果のダブルチェックを実施していたが、クロマトグラムの確認は行われていなかった。その後、機関 B-18 はピークの検出範囲を再設定し、自動積分でベースラインを水平に引くように改善した。改善後に、精度管理試料を再測定した結果、検査値 25.0 mg/L、誤差率 1.78%と良好な結果となった(図 4)。以上の結果より、ダブルチェックを行う際は、数値の単位や転記ミスに加え、クロマトグラムの確認が重要であることが明らかになった。

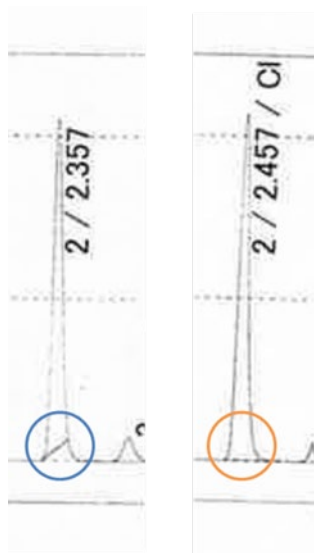


図 3 外部精度管理提出時のベースライン(左)及びフォローアップ調査時のベースライン(右)

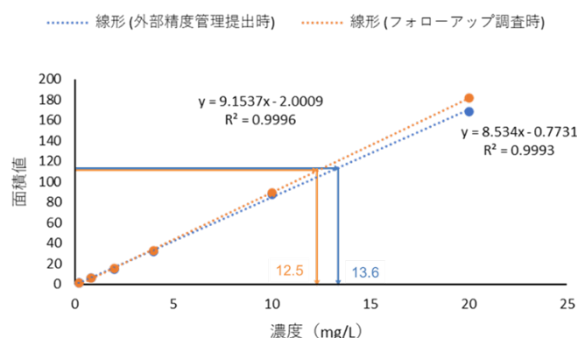


図 4 ベースラインの引き方の違いによる検量線の変化(いずれも精度管理試料を2倍希釈した試料を測定して定量している)

(3) 全体的な留意点

① 検量線及び空試験(IC法)

告示法では別表に記載された濃度範囲内で濃度 0 mg/L を含めない 4 段階以上の標準液を用いて検量線を作成するように記載されている¹²⁾。本研究においては、すべての機関は、検量線の点に 0 mg/L を用いていなかったが、2 機関(B-5、B-13)が3段階の標準液を用いて検量線を作成していた。そのため、SOP の修正が必要であった。

告示法では、測定対象物質ごとの濃度範囲が提示され、検量線はその範囲を超えてはならないとしている¹²⁾。塩化物イオンの濃度範囲は、0.2~200 mg/L であるが、この値を超えている機関はなく、すべての機関において適切な濃度範囲で検量線の濃度設定が行われていた。

告示法では空試験の判定の際、空試験の濃度について各検査機関が作成した検量線の下限値を下回ることを確認することとされている¹²⁾。本研究では、1 機関(B-13)を除くすべての機関が空試験を実施しており、検量線の下限値を下回ることを確認していた。機関 B-13 の SOP には空試験に関する記載がなかったため、SOP の改善が必要であった。

② 前処理及び標準液(IC法)

告示法では、試料採取後 14 日以内に試験を開始するように記載されている¹²⁾が、1 機関(B-2)では試料が到着してから 23 日後に試験を開始していた。この機関の SOP には、試験開始時期に関して記載されていたため、検査担当者は、SOP に従って検査する必要がある。告示法では前処理の際、検査対象物質の濃度範囲に収まるように適宜濃縮または希釈を行うように記載されている¹²⁾。本研究で

は、28 機関が 4/3～10 倍の範囲で希釈操作を実施していたが、1 機関 (A-28) では、希釈を行わずに検量線の上限を超えた状態で定量を行っていた。検量線の範囲内に試料濃度が含まれない場合は、希釈して再測定する必要がある。また、前処理操作で 0.2 μm メンブレンフィルターでろ過することとされているが、8 機関 (A-2、A-5、A-19、B-2、B-4、B-7、B-9、B-13) ではろ過操作が行われていなかった。機関 A-2、B-2、B-7、B-13 では、SOP にろ過に関する記載がなかったため、SOP の修正が必要であった。一方、それ以外の機関では、SOP にろ過に関する記載があったものの検査担当者がろ過操作を行っていなかったため、SOP に従って検査する必要がある。

告示法では、標準原液、標準液または混合標準液は原体から自己調製したもの、もしくは計量法 (平成 4 年法律第 51 号) 第 136 条もしくは第 144 条の規定に基づく証明書又はこれらに相当する証明書が添付され、かつ、告示法の標準原液と同濃度のもの又は告示法の標準液もしくは混合標準液と同濃度のものの使用が認められている¹²⁾。本研究においては、1 機関を除くすべての機関で市販の標準原液もしくは混合標準液を使用しており、いずれも計量法に基づく認証、もしくはメーカーの証明書のある製品を使用していた。検量線作成用標準液について、5 機関 (B-3、B-7、B-12、B-13、B-14) においては検量線作成用標準液を用時調製していなかった。機関 B-3、B-13、B-14 では、SOP に用時調製の記載がなかったため、SOP の改善が必要であった。一方、それ以外の機関では、SOP に用時調製の記載があったため、検査担当者は SOP に従って標準液を調製する必要がある。

③ 妥当性評価 (IC 法)

2012 年 9 月 6 日付で厚生労働省より水道水質検査における妥当性評価ガイドラインについて通知され、告示法においても妥当性評価を行うことが求められている¹⁶⁾。妥当性評価とは、水道水質検査を行う検査機関が自らの SOP に示す検査方法の妥当性を評価するための手段である。妥当性評価ガイドラインには、検量線の評価と添加試料の評価が示されている。検量線の評価では、最高濃度の標準試料を測定した直後のブランク試料中の濃度が検量線の下限値を下回ることを確認するキャリーオーバーの評価、標準試料を繰り返し測定し、定量した濃度の平均値がいずれの濃度点においても定められ

た目標内に収まることを確認する真度の評価及び標準試料を繰り返して測定した際の精度が目標内に収まることを確認する精度の評価を実施する。添加試料の評価では、定量を妨害するピークがないことを確認する選択性の評価、添加試料を複数回測定し、得られた回収率の平均値が目標以内であることを確認する真度の評価、及び回収率の併行精度が目標内に収まることを確認する併行精度の評価を実施する。本研究では、検量線の妥当性評価を実施していなかった機関が 7 機関 (A-2、B-4、B-5、B-7、B-12、B-13、B-16)、添加試料の妥当性評価を実施していなかった機関が 10 機関 (A-2、B-2、B-3、B-4、B-5、B-7、B-12、B-13、B-14、B-16) であった。これらの機関は早急に妥当性評価を実施することが望ましい。

④ 滴定法の検証

告示法では、硝酸銀溶液のファクターを求めることとされている¹²⁾が、いずれの機関もファクターを求めていた。また、14 日以内に試験を開始し、空試験も実施していた。そのため、滴定法で検査した 2 機関はいずれも、告示法を逸脱せず、適切に検査を実施していた。

ま と め

大阪府の水道水質検査外部精度管理事業として、塩化物イオンの検査結果を誤差率 $\pm 10\%$ と Σ スコアの絶対値 3 未満を許容範囲とする 2 つの方法で評価を行った。

水道事業者等では、報告された 28 機関のうち、5 つの測定値の変動係数が 10%を超えた機関は存在しなかった。また、誤差率 $\pm 10\%$ を超過しかつ Σ スコアの絶対値 3 以上であった機関は存在しなかった。登録建築物検査業者では、18 機関のうち、両方法で許容範囲を超えた検査値を「外れ値」と評価したが、この「外れ値」に該当したのは 1 機関であった。検証の結果、検査精度を向上するためには、以下の留意点が考えられた。

- 1) クロマトグラムのダブルチェックを確実に行う。
- 2) 告示法に準拠した標準作業手順書 (SOP) を整備し、分析操作はこれを遵守する。
- 3) 妥当性評価を実施し、SOP の検査精度を確認する。

謝 辞

本研究は「令和5年度大阪府水道水質検査外部精度管理事業」及び「2023年度大阪府建築物飲料水水質検査業外部精度管理」により実施された。研究実施にあたり協力していただいた大阪府健康医療部生活衛生室環境衛生課ならびに(一社)大阪ビルメンテナンス協会の各位に感謝いたします。

利 益 相 反

開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) 吉田仁, 中島孝江. 水質検査における外部精度管理(2017年度)-鉛及びその化合物-. *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2019; **3**: 83-88.
 - 2) 吉田仁, 安達史恵. 水質検査における外部精度管理(2018年度)-鉄及びその化合物-. *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2020; **4**: 93-99.
 - 3) 吉田仁, 安達史恵. 水質検査における外部精度管理(2019年度)-ナトリウム及びその化合物-. *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2021; **5**: 59-65.
 - 4) 安達史恵, 中島孝江. 水質検査における外部精度管理(2020年度)-セレン及びその化合物-. *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2022; **6**: 112-118.
 - 5) 安達史恵, 吉田仁. 水質検査における外部精度管理(2021年度)-六価クロム化合物-. *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2023; **7**: 79-85.
 - 6) 吉田仁, 安達史恵. 水質検査における外部精度管理(2022年度)-銅及びその化合物-. *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2024; **8**: 87-93.
 - 7) 吉田仁, 中島孝江, 長谷川有紀, 小泉義彦. 水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の解明(2020年度)-大阪府建築物飲料水水質検査業(臭素酸)-. *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2021; **5**: 66-72.
 - 8) 長谷川有紀, 吉田仁, 小泉義彦. 水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の解明(2020年度)-大阪府建築物飲料水水質検査業(ホルムアルデヒド)-. *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2021; **5**: 73-79.
 - 9) 長谷川有紀, 中島孝江, 小泉義彦. 水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の解明(2021年度)-大阪府建築物飲料水水質検査業-. *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2022; **6**: 129-139.
 - 10) 真柄泰基. 水道水質ハンドブック. 日本水道新聞社; 1994. 59-60.
 - 11) 日本水道協会. 上水試験方法 2020年度版 I. 総説・資料編.; 2021. 194-195.
 - 12) 環境省. 厚生労働省告示第261号「水質基準に関する省令の規定に基づき環境大臣が定める方法」.
<https://www.env.go.jp/content/900547779.pdf>
 - 13) 日本工業標準調査会. JIS Z8402-2: 測定方法及び測定結果の精確さ(真度及び精度-第2部: 標準測定方法の併行精度及び再現性を求めるための基本的な方法). 日本規格協会; 1999. 309-310.
 - 14) 藤井賢三. 試験所認定制度における技能試験(1). *環境と測定技術* 2000; **27**: 51-56.
 - 15) 環境省. 建水発第1010001号「水質基準に関する省令の制定及び水道法施行規則の一部改正等並びに水道水質管理における留意事項について」.
<https://www.env.go.jp/content/000334903.pdf>
 - 16) 環境省. 建水発0906第4号「水道水質検査方法の妥当性評価ガイドラインの一部改正について」.
<https://www.env.go.jp/content/900546879.pdf>
- WEB サイトの内容は 2026 年 1 月 7 日に確認した。

Results of external quality control on the analytical methods for chloride ions in tap water, performed in 2023 in Osaka Prefecture

Jin YOSHIDA, Fumie ADACHI, Yuki HASEGAWA and Yoshihiko KOIZUMI

To verify the accuracy of water quality measurements, we implemented an external quality control on the methods used to analyze chloride ions in tap water at 28 water supply corporations, public health centers, public research institutes (water supply corporations), and 18 building drinking water quality testing institutes in Osaka prefecture. It was found that the analysis accuracy of all participating facilities of the water supply corporations was good. In contrast, one of the 18 examination values from the building drinking water quality testing institutes was evaluated as an outlier. A follow-up survey was conducted at this facility. The survey showed that the examination value was influenced by the fact that the baseline chromatogram was not properly drawn.

Keywords: tap water, chloride ions, water quality measurement, accuracy, external quality control

水質検査における外部精度管理（2023 年度）

—ジブロモクロロメタン—

小泉義彦, 長谷川有紀, 安達史恵, 吉田 仁

水道水質検査精度の向上を図ることを目的として、水道事業者等 21 機関、登録建築物検査業者 16 機関を対象に外部精度管理を各々実施した。各機関の検査値を解析した結果、水道事業者等は、「外れ値」に該当する機関はなく、すべての参加機関の検査精度は良好であった。一方、登録建築物検査業者は、16 機関中 1 機関が、真値に対する誤差率及び Z スコアの許容範囲を超過し「外れ値」に該当した。これらの機関を対象に定量精度に関するフォローアップ調査を行ったところ、標準溶液の調製に用いたデジタルピペットが不良であり、標準溶液の採取量が少なかったことが定量値に影響を及ぼしたと考えられた。また、検査実施標準作業書等を検証したところ、さらに検査精度を向上するためにいくつかの留意点が明らかになった。

キーワード：水道水、ジブロモクロロメタン、定量精度、外部精度管理

（地独）大阪健康安全基盤研究所では、大阪府健康医療部生活衛生室環境衛生課と協力して、水道水質検査精度の向上を図ることを目的に、水質検査を実施している大阪府内水道事業者、保健所及び公的研究機関（水道事業者等）を対象に外部精度管理を実施している^{1-9,16}。さらに（一社）大阪ビルメンテナンクス協会からの依頼により「建築物における衛生的環境の確保に関する法律」第 12 条の 2 第 1 項に規定の「建築物飲料水水質検査業」の大阪府知事登録を受けている事業所（登録建築物検査業者）を対象に外部精度管理事業を実施している¹⁰⁻¹⁶。これら 2 つの外部精度管理事業とも、2023 年度の有機物の対象項目として「ジブロモクロロメタン」を選定した。

ジブロモクロロメタンは、浄水処理過程で水中のフミン質等の有機物質と消毒剤の塩素が反応して生成されるトリハロメタンの構成物質であり、生成量は原水中の臭化物イオンに大きく影響される¹⁷。通常浄水処理過程では、ジブロモクロロメタンの前駆物質に対して、凝集沈殿ろ過、膜ろ過、オゾン処理、活性炭処理等による除去性がある¹⁷。ジブロモクロロメタンに対しては、エアレーションによ

大阪健康安全基盤研究所衛生化学部生活環境課

る多少の除去性がある¹⁷。国際がん研究機関（IARC）において、ジブロモクロロメタンは Group 3（ヒトの発癌性ありとは分類できない）に分類され¹⁸、水道水質基準値は 0.1 mg/L と定められている¹⁹。前回のジブロモクロロメタンを対象とした大阪府の外部精度管理から 5 年以上経過したため、今回の対象項目とした。

方 法

1. 参加機関

外部精度管理に参加した水道事業者等及び登録建築物検査業者は、それぞれ 21 機関及び 16 機関であった。また、水道事業者等の内訳は水道事業者 19、保健所 1 及び公的研究機関 1 であった。

2. 実施方法

(1) 精度管理試料の調製方法

2023 年 9 月 25 日に精製水約 80 L をステンレスタンクに採水し、塩酸（富士フィルム和光純薬 有害金属測定用）(1+10) を 250 mL 添加した。この水

に含まれるジブロモクロロメタン濃度は、(3)で後述するページ・トラップーガスクロマトグラフー質量分析計による一斉分析法（別表第 14、以下、PT 法）を用いて測定したところ、0.001 mg/L 未満であり、試料調製用の水として問題なかった。ここにジブロモクロロメタン標準原液（富士フィルム和光純薬 1000 mg/L）を 1.6 mL 添加後、十分攪拌した。500 mL ガラス瓶に満水になるよう分注して冷蔵保管した後、水道事業者等には 9 月 27 日に配付し、登録建築物検査業者には 9 月 28 日に到着するように冷蔵で送付した。（設定濃度：0.02 mg/L）。

(2) 精度管理試料の均一性及び安定性

均一性は、2023 年 9 月 25 日に精度管理試料を分注順に等間隔で 5 本抜き取り、それぞれ n=2 で測定した。そして得られた測定結果を有意水準 5% として一元配置分散分析で判定した。安定性については、冷蔵保管していた試料を、調製後 2、3、7、10、11 及び 17 日目にそれぞれ 1 本抜き取り、n=5 で測定し、近似直線の傾きで評価した。調製日については均一性を評価したデータを用いた。

(3) 試料の測定方法

検査方法は告示法の PT 法及びヘッドスペースーガスクロマトグラフー質量分析計による一斉分析法（別表第 15、以下、HS 法）とした。精度管理試料については併行数 5、有効数字 3 桁で測定し、その平均値を検査値とした。さらに各検査機関には標準作業手順書（SOP）、分析条件、検査に使用した機器の測定データ及びチャートの提出を求めた。

(4) 評価の検証方法

はじめに、各検査機関内で測定された検査値の変動係数が 20%を超過した機関は評価対象外とした。検査結果は、「真値」に対する誤差率（以下、誤差率）及び z スコアで評価を行い、両方の評価方法において許容範囲を超過した検査値を「外れ値」とした。

各機関からの検査値を用いて、有意水準を 5%として Grubbs の棄却検定²¹⁾を行い、棄却された機関を除いた後に平均を求め、これを「真値」とした。誤差率は、以下の式から算出し、±20%以内を許容範囲とした²²⁾。

$$\text{誤差率 (\%)} = \frac{\text{各機関の検査値} - \text{「真値」}}{\text{「真値」}} \times 100$$

z スコアは四分位数法で算出し²³⁾、z スコアの絶対値 3 未満を許容範囲とした。なお、誤差率及び変動係数の許容範囲を 20%以内とした根拠は、水質基準項目の基準値の 1/10 におけるジブロモクロロメタンの測定精度の目標が、変動係数で 20%以内に設定されているためである²²⁾。

結果 および 考察

1. 精度管理試料の均一性及び安定性

精度管理試料の平均濃度は 0.0180 mg/L（標準偏差 0.000464、変動係数 2.57 %）となり、試料間の変動は有意とならなかったため（ $p=0.07$ ）、精度管理試料の均一性に問題がないことを確認した。また、精度管理試料の安定性を確認した結果を図 1 に示す。近似直線の傾きはほぼ 0 で、精度管理試料の安定性に問題はないと判断した。

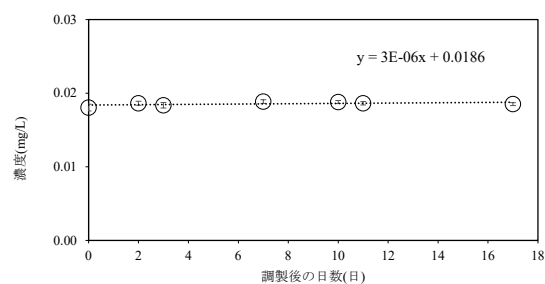


図 1 精度管理試料の安定性
（調製日 n=10、それ以外 n=5、平均±標準偏差）

2. 検査方法

参加機関が用いた検査方法について、水道事業者等では 14 機関が PT 法、7 機関が HS 法であり、PT 法を用いた機関が多かった。登録建築物検査業者では 5 機関が PT 法、11 機関が HS 法であり、HS 法を用いた機関が多かった。

3. 検査結果の検証

(1) 誤差率、z スコア及び「外れ値」

水道事業者等 21 機関及び登録建築物検査業者 16 機関から報告された検査値、変動係数、誤差率及び z スコアを表 1 に示す。また、検査値、誤差率及び z スコアの度数分布を、それぞれ図 2、図 3 及び図 4 に示す。

水道事業者等において、機関内変動係数が 20%を超過した機関は存在しなかったため、すべての機

関を評価対象とした。「真値」を算出するため、有意水準 5%で Grubbs の棄却検定を行った。

その結果、棄却された機関はなかった。このため、すべての機関の検査値を平均した 0.0198 mg/L を「真値」とした。誤差率の範囲は-10.29~10.06%となり、許容範囲を超えた機関はなかった。次に、21 機関の検査値を用いて z スコアを求めた結果、その範囲は-2.43~2.41 となり、許容範囲を超えた機関はなかった。したがって、誤差率と z スコアの両方が許容範囲を超えた「外れ値」に該当する機関はなく、各機関は概ね精度よく水質検査が実施できていると考えられた。

登録建築物検査業者において、機関内変動係数が 20%を超過した機関は存在しなかったため、すべての機関を評価対象とした。Grubbs の棄却検定を行った結果、棄却された機関はなかったため、16 機関の検査値を平均した 0.0199 mg/L を「真値」とした。「真値」に対する誤差率の範囲は -18.26~25.03%となり、許容範囲を超えたのは 1 機関 (B-16) であった。一方、 z スコアの範囲は -2.72~3.56 となり、許容範囲を超えたのは 1 機関 (B-16) であった。誤差率及び z スコアの両方の許容範囲を超えた「外れ値」に該当する機関は 1 機関 (B-16) となり、当該機関に対しフォローアップ調査を行った。

(2) フォローアップ調査

機関 B-16 は HS 法を用いており、検査値は 0.0249 mg/L、「真値」に対する誤差率は 25.03%、 z スコアは 3.56 であった。提出された外れ値等に関する報告書によると、標準系列の調製において、市販標準原液から混合標準液を調製する段階で用いたデジタルピペットが不良であり、実際の採取量が 17.4% 少なかったことが判明した。また、精度不良のデジタルピペットについては、外れ値等に関する報告書を作成した際に廃棄し、良好なものと交換済みである旨を併せて報告を受けた。精度不良のデジタルピペットは、市販標準原液から混合標準液を調製する操作のみに用いており、その他の操作 (混合標準液から検量線用溶液の調製及び外部精度管理試料の希釈) には使用しなかったことを勘案すると、機関 B-16 の報告値は 0.0207 mg/L となり、許容範囲内であったと推定した。また、機関 B-16 の SOP、標準系列調製方法、試料の前処理方法等を確認したところ、内部標準物質を使用せず、絶対検量線法で定量していることがわかった。機関 B-16 は、告示法に従い、内部標準法で定量する必要がある。その後、

新たな精度管理試料を用いた再測定を提示したが、機関 B-16 の都合により実施しなかった。以上より、機関 B-16 に対し、デジタルピペットの定期点検の実施を提案するとともに、告示法にしたがい、内部標準物質を用い、内部標準法で定量する必要がある旨を助言した。

(3) 全体的な留意点

① 空試験

告示法では、精製水を用いた空試験を実施し、空試験値が検量線の濃度範囲の下限値を下回ることを確認するように記載されている。本研究においては、すべての機関が空試験を実施しており、空試験値が検量線の下限値を下回ることを確認していた。

② 検量線

告示法には、PT 法で「揮発性有機化合物混合標準液を段階的にメスフラスコ 4 個以上に採り、それぞれに内部標準液を一定量加え、更にメチルアルコールを加えて 10 mL とする。段階的に調製した溶液を一定の割合でメスフラスコに採り、それぞれに精製水を加えて一定量とする。」、HS 法では「揮発性有機化合物混合標準液を段階的にメスフラスコ 4 個以上に採り、それぞれに内部標準液を一定量加え、更にメチルアルコールを加えて 10 mL とする。精製水を上記 4 (1) と同様に採り、これに段階的に調製した溶液を一定の割合で注入する。」と記載されている²⁰⁾。したがって、検量線の濃度範囲内でブランク試料 (濃度ゼロ) を含めない 4 段階以上の標準液を用いて検量線を作成する必要がある。全ての機関において検量線の点を 4 点以上用いて検量線を作成していた。一方、登録建築物検査業者の 1 機関 (B-2) では、検量線の点に 0 mg/L を用いていた。告示法及び妥当性評価ガイドラインにおいては原則、検量線の点に 0 mg/L を用いないこととなっている^{20,24)} ため、SOP の修正が必要であった。

また、告示法では検量線の濃度範囲が提示されており、検量線はその範囲を超えてはならない²⁰⁾。PT 法、HS 法におけるジプロクロロメタンの濃度範囲は、いずれも 0.0001~0.1 mg/L であるが、検量線の点が上限を超えた機関はなかった。

② 標準液

告示法では、標準原液、標準液または混合標準液は原体から自己調製したもの、もしくは計量法 (平成 4 年法律第 51 号) 第 136 条若しくは第 144 条の規定に基づく証明書又はこれらに相当する証明書が添付され、かつ、告示法の標準原液と同濃度のも

表1 外部精度管理試験における検査値の概要

【水道事業者等】					
機関番号	検査方法	検査値 平均値 (mg/L)	変動係数 (%)	真値に 対する 誤差率 (%)	zスコア
A-1	HS法	0.0177	1.35	-10.29	-2.43
A-2	HS法	0.0179	7.12	-9.18	-2.17
A-3	PT法	0.0180	0.39	-8.87	-2.10
A-4	PT法	0.0190	0.70	-3.61	-0.84
A-5	HS法	0.0191	0.88	-3.51	-0.82
A-6	PT法	0.0192	1.86	-2.90	-0.67
A-7	HS法	0.0193	1.24	-2.39	-0.55
A-8	PT法	0.0193	1.48	-2.19	-0.51
A-9	PT法	0.0194	1.07	-1.99	-0.46
A-10	PT法	0.0196	0.62	-0.77	-0.17
A-11	HS法	0.0197	1.05	-0.06	0.00
A-12	HS法	0.0199	5.27	0.75	0.19
A-13	PT法	0.0200	0.42	1.35	0.34
A-14	PT法	0.0201	1.36	1.76	0.43
A-15	PT法	0.0201	1.77	1.86	0.46
A-16	PT法	0.0203	3.50	2.77	0.67
A-17	PT法	0.0204	3.98	3.08	0.75
A-18	PT法	0.0211	0.86	6.62	1.59
A-19	PT法	0.0214	1.02	8.54	2.05
A-20	PT法	0.0215	1.48	8.95	2.14
A-21	HS法	0.0217	5.27	10.06	2.41
平均値		0.0198			
最大値		0.0217			
最小値		0.0177			
標準偏差		0.0011			
変動係数(%)		5.7			
n		21			

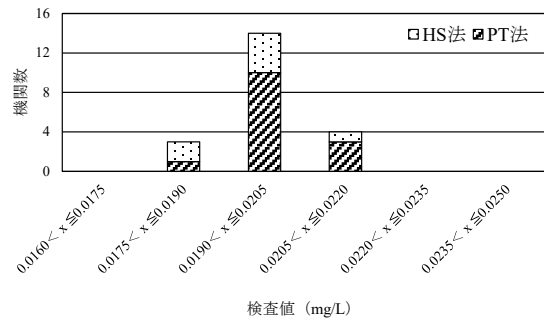
真値：0.0198 mg/L

【登録建築物検査業者】					
機関番号	検査方法	検査値 平均値 (mg/L)	変動係数 (%)	真値に 対する 誤差率 (%)	zスコア
B-1	HS法	0.0162	6.14	-18.62	-2.72
B-2	HS法	0.0170	2.25	-14.61	-2.14
B-3	HS法	0.0170	1.14	-14.51	-2.13
B-4	HS法	0.0183	1.87	-7.98	-1.19
B-5	PT法	0.0191	4.73	-4.07	-0.63
B-6	PT法	0.0192	1.97	-3.47	-0.54
B-7	PT法	0.0195	1.38	-2.26	-0.37
B-8	PT法	0.0196	5.51	-1.46	-0.25
B-9	HS法	0.0203	2.13	2.05	0.25
B-10	HS法	0.0204	1.86	2.15	0.27
B-11	HS法	0.0204	1.37	2.15	0.27
B-12	PT法	0.0205	1.34	2.85	0.37
B-13	HS法	0.0217	1.71	8.77	1.22
B-14	HS法	0.0217	13.50	9.07	1.26
B-15	HS法	0.0229	4.05	14.89	2.10
B-16 *	HS法	0.0249	3.05	25.03	3.56
平均値		0.0199			
最大値		0.0249			
最小値		0.0162			
標準偏差		0.0022			
変動係数(%)		11.3			
n		16			

真値：0.0199 mg/L

*：外れ値

【水道事業者等】



【登録建築物検査業者】

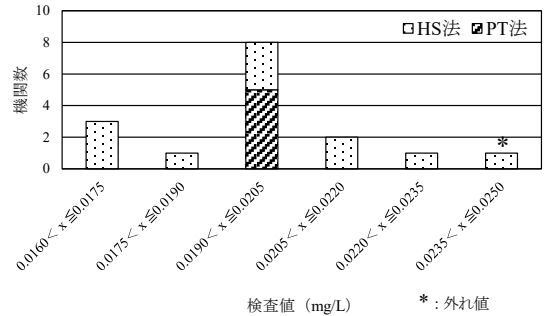
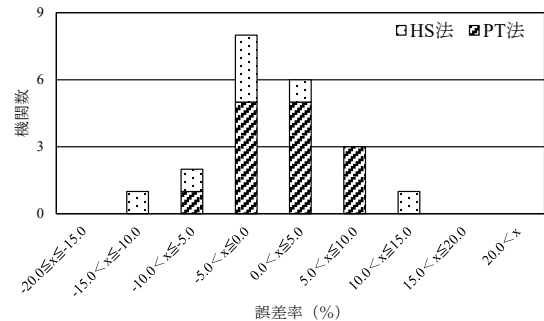


図2 水道事業者等及び登録建築物検査業者における検査法別の検査値の度数分布図

【水道事業者等】



【登録建築物検査業者】

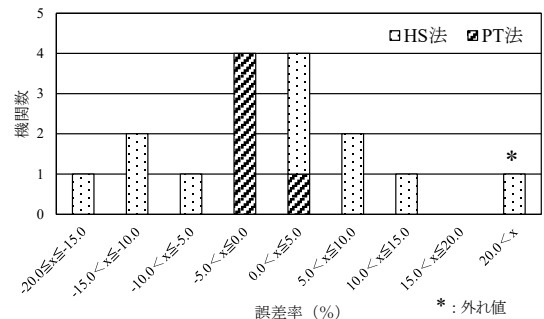
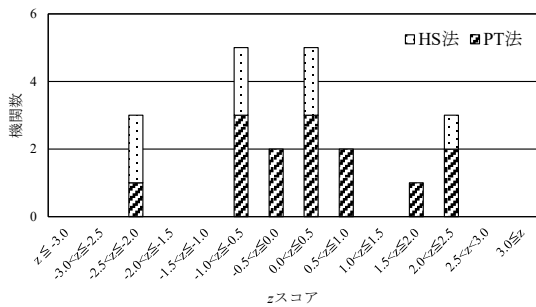


図3 水道事業者等及び登録建築物検査業者における検査法別の誤差率の度数分布図

【水道事業者等】



【登録建築物検査業者】

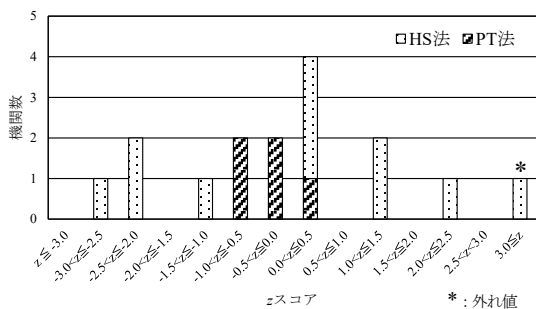


図4 水道事業者等及び登録建築物検査業者における検査法別のzスコアの度数分布図

の又は告示法の標準液若しくは混合標準液と同濃度のものの使用が認められている。なお、告示法の標準液若しくは混合標準液と同濃度のものは開封後速やかに使用することとし、開封後保存したものを使用してはならない²⁰⁾。今回、すべての機関で市販の標準原液を使用していた。値付け証明書がない機関が、登録建築物検査業者で3機関存在した(B-11、B-14、B-15)。標準原液は保証期限内の使用が認められているが、アンプルに封入された調製可能標準液等にあつては、開封後に保存したものを再び使用することはできない。登録建築物検査業者の1機関(B-2)においては、検量線作成用標準液を用時調製しておらず、SOPにも用時調製する旨の記載がなかったため、SOPの改善が必要であった。

③ 内部標準

告示法では、フルオロベンゼンまたは4-ブロモフルオロベンゼンを用いた内部標準法で定量することになっている²⁰⁾。定量に用いられた内部標準物質は、フルオロベンゼンが9機関、4-ブロモフルオロベンゼンが27機関であった。一方、内部標準物質を使用せず、絶対検量線法で定量した機関が、登

録建築物検査業者で1機関存在した(B-16)。この機関は告示法に逸脱しているため、SOPに内部標準法で定量をおこなう旨を記載する必要がある。

④ 妥当性評価

環境省より水道水質検査における妥当性評価ガイドラインについて通知され、告示法においても妥当性評価を行うことが求められている²⁴⁾。妥当性評価とは、水道水質検査を行う検査機関が自らのSOPに示す検査方法の妥当性を評価するための手段である。妥当性評価ガイドラインには、検量線の評価と添加試料の評価が示されている。

本研究では、検量線の妥当性評価を実施していなかった機関が7機関存在し(A-14、B-2、B-4、B-9、B-11、B-14、B-15)、添加試料の妥当性評価を実施していなかった機関が、8機関存在した(A-14、B-2、B-4、B-9、B-11、B-14、B-15、B-16)。妥当性評価は検査結果の信頼性につながるものである。これらの機関は早急に妥当性評価を実施することが望ましい。

⑤ 前処理操作

告示法では前処理の際、対象物質が濃度範囲に収まるように希釈を行うように記載されている²⁰⁾。希釈を行わずに検量線の上限を超えた状態で定量を行った機関が、水道事業者等で1機関存在した(A-14)。この機関はPT法を用いており、希釈して再測定する必要があった。

HS法では、告示法において、検水を採ったバイアルに塩化ナトリウムを添加して塩析を行う必要があるが、すべての機関が塩析を実施していた。またバイアルは、60~80℃の恒温槽で30分以上加温する必要がある。加温温度については、すべての機関が告示法にしたがっていた。しかし、加温時間が30分未満であった機関が、登録建築物検査業者で1機関存在した(B-11)。この機関は告示法に従い、30分以上加温するよう改善する必要があった。

ま と め

水道水質検査精度の向上を図ることを目的にジブロモクロロメタンを対象項目として、水道事業者等21機関、登録建築物検査業者16機関を対象に外部精度管理を各々実施した。参加機関から報告された検査値を誤差率±20%とzスコアの絶対値3未満を許容範囲とする2つの方法で評価を行った。

水道事業者等では、報告された 21 機関のうち、機関内変動係数が 20%を超えた機関は存在しなかった。また、誤差率±20%を超過あるいは、zスコアの絶対値 3 以上であった機関は存在しなかった。登録建築物検査業者では、報告された 16 機関のうち、機関内変動係数が 20%を超えた機関は存在しなかった。また、誤差率±20%を超過し、かつ、zスコアの絶対値 3 以上であった検査値を「外れ値」と評価したが、この「外れ値」に該当したのは1 機関であった。

検証の結果、検査精度を向上するためには、以下の留意点が考えられた。

- 1) 標準溶液の調製に用いるデジタルピペットの精度に注意し、定期的な点検や交換を実施する。
- 2) 内部標準物質を用いるなど、告示法に準拠した SOP を整備し、SOP に従い検査を行う。
- 3) 妥当性評価を実施する。

謝 辞

本研究は「令和 5 年度大阪府水道水質検査外部精度管理事業」及び「建築物飲料水水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の解明ならびに改良分析法の提案に関する研究」により実施された。研究実施にあたり協力していただいた大阪府健康医療部生活衛生室環境衛生課及び大阪ビルメンテナンス協会の各位に感謝いたします。

利 益 相 反

開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) 小泉義彦. 水質検査における外部精度管理(2017 年度) - ベンゼン -. *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2019; **3**: 75-82.
- 2) 小泉義彦. 水質検査における外部精度管理(2017 年度) - 鉛及びその化合物 -. *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2019; **3**: 83-88.
- 3) 小泉義彦. 水質検査における外部精度管理(2018 年度) - テトラクロロエチレンおよびトリクロロエチレン -. *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2020; **4**: 82-92.
- 4) 吉田仁, 中島孝江. 水質検査における外部精度管理(2018 年度) - 鉄及びその化合物 -. *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2020; **4**: 93-99.
- 5) 吉田仁, 安達史恵. 水質検査における外部精度管理(2019 年度) - ナトリウム及びその化合物 -. *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2021; **5**: 59-65.
- 6) 安達史恵, 中島孝江. 水質検査における外部精度管理(2020 年度) - 六価クロム化合物 -. *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2023; **7**: 79-85.
- 7) 安達史恵, 中島孝江. 水質検査における外部精度管理(2020 年度) - 陰イオン界面活性剤 -. *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2023; **6**: 119-128.
- 8) 安達史恵, 吉田 仁. 水質検査における外部精度管理(2021 年度) - セレン及びその化合物 -. *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2022; **6**: 112-118.
- 9) 小泉義彦, 長谷川有紀, 高取 聡. 水質検査における外部精度管理(2022 年度) - ホルムアルデヒド -. *地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2024; **8**: 94-99.
- 10) 中島孝江, 安達史恵, 小泉義彦. 水質検査における外部精度管理(2017 年度) - 大阪府建築物飲料水水質検査業 -. *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2018; **2**: 91-99.
- 11) 中島孝江, 安達史恵, 小泉義彦. 水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の解明(2018 年度) - 大阪府建築物飲料水水質検査業 -. *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2019; **3**: 96-105.
- 12) 中島孝江, 高木総吉, 小泉義彦. 水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の解明(2019 年度) - 大阪府建築物飲料水水質検査業 -. *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2020; **4**: 100-109.
- 13) 吉田仁, 中島孝江, 長谷川有紀, 小泉義彦. 水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の解明(2020 年度) - 大阪府建築物飲料水水質検査業(臭素酸) -. *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2021; **5**: 66-72.
- 14) 長谷川有紀, 吉田仁, 小泉義彦. 水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の解明(2020 年度) - 大阪府建築物飲料水水質検査業(ホルムアルデヒド) -. *大阪健康安全基盤研究所研究年報* 2021; **5**: 73-79.

- 15) 長谷川有紀, 中島孝江, 小泉義彦. 水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の解明(2021年度) - 大阪府建築物飲料水水質検査業 - . 大阪健康安全基盤研究所研究年報2022; **6**, 129-139.
- 16) 吉田仁, 安達史恵. 水質検査における外部精度管理(2022年度) - 銅及びその化合物 - . 大阪健康安全基盤研究所研究年報2024; **8**: 87-93.
- 17) 環境省. 水質基準の見直しにおける検討概要.
<https://www.env.go.jp/content/000219092.pdf>
- 18) World Health Organization (WHO). Guidelines for drinking-water quality: fourth edition incorporating the first and second addenda. 2022. 478.
<https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/352532/9789240045064-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y#page=478>
- 19) 環境省. 水質基準項目と基準値 (51 項目) .
https://www.env.go.jp/water/water_supply/kijun/kijunchi.html#01
- 20) 環境省. 水質基準に関する省令の規定に基づき環境大臣が定める方法 (平成 15 年厚生労働省告示第 261 号) .
<https://www.env.go.jp/content/900547779.pdf>
- 21) JIS Z8402-2: 測定方法及び測定結果の精確さ (真度及び精度-第 2 部: 標準測定方法の併行精度及び再現性を求めるための基本的な方法) . 日本規格協会; 1999.
- 22) 環境省. 水質基準に関する省令の制定及び水道法施行規則の一部改正等並びに水道水質管理における留意事項について, 別添 5 水質基準項目の測定精度 (平成 15 年 10 月 10 日健水発第 1010001 号) (最終改正令和 7 年 3 月 26 日環水大管発第 2503266 ~ 2503269 号) .
<https://www.env.go.jp/content/000334904.pdf>
- 23) 藤井賢三. 試験所認定制度における技能試験 (1) . 環境と測定技術 2000; **27**: 51-56.
- 24) 環境省. 水道水質検査方法の妥当性評価ガイドラインについて (平成 24 年 9 月 6 日付け建水発 0906 第 1 号別添) (最終改正平成 29 年 10 月 18 日付け薬生水発 1018 第 1 号) .
<https://www.env.go.jp/content/900546879.pdf>

WEB サイトの内容は 2026 年 1 月 13 日に確認した。

**Results of external quality control on the analytical methods for dibromochloromethane in tap water,
performed in 2023 in Osaka Prefecture**

Yoshihiko KOIZUMI, Yuki HASEGAWA, Fumie ADACHI and Jin YOSHIDA

To improve the accuracy of water quality measurements, we implemented an external quality control method for the measurement of dibromochloromethane in tap water. Twenty-one water supply corporations, public health centers, and public research institutes (water supply corporations) and 16 buildings' drinking water quality testing institutes in Osaka Prefecture were involved in the study.

The analysis accuracy of all participating facilities of the water supply corporations, none of the 21 institutions were considered an outlier when the accuracy of their analysis was examined. In contrast, one of the 16 institutions from the building drinking water quality testing institutes was considered an outlier. Follow-up surveys conducted at this facility revealed that a faulty digital pipette used to prepare the standard solution influenced the incorrect concentration calculations.

Key words : tap water, dibromochloromethane, quantitative accuracy, external quality control

水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の考察 (2022 年度)

-大阪府建築物飲料水水質検査業 (ブロモホルム) -

長谷川有紀, 小泉義彦, 吉田 仁, 安達史恵

水道水質検査における定量精度に影響を与える因子を抽出し、分析方法の改良を提案することを目的として、大阪府内の建築物飲料水水質検査業の事業者に向けて、外部精度管理を実施している。2022 年度の対象項目は「ブロモホルム」とし、17 機関が参加した。各参加機関より報告された検査値を「真値」に対する誤差率及びスコアの 2 つの方法により評価したところ、外れ値と評価された機関は認められなかった。告示法に準拠した SOP を整備し、妥当性評価を実施することで、今後さらなる検査精度を向上させることが期待できると考えられた。

キーワード：水道水、ブロモホルム、建築物飲料水水質検査業、外部精度管理

(地独) 大阪健康安全基盤研究所は、(一社) 大阪ビルメンテナンス協会からの受託研究として水道水質検査における外部精度管理を実施している¹⁻⁸⁾。外部精度管理は、定量精度に影響を及ぼす要因の抽出と分析手法の改良の提案を目的とし、「建築物における衛生的環境の確保に関する法律」第 12 条の 2 第 1 項に基づき、建築物飲料水水質検査業として知事登録を受けた事業者を対象とする。

2022 年度においては、「ブロモホルム」を対象項目とした。ブロモホルムは、当所が過去 5 年以上にわたり外部精度管理の対象項目としていないことから選定した。ブロモホルムは、トリハロメタンの成分の 1 つであり⁹⁾、浄水処理過程で水中のフミン質等の有機物質と遊離塩素が反応して生成され、生成量は原水中の臭素イオン濃度に大きく影響される⁹⁾。ブロモホルムの前駆物質に対しては、膜ろ過を用いると除去することができ、凝集沈殿ろ過、オゾン処理、活性炭処理などによる処理でも除去性がある¹⁰⁾。ブロモホルムには、エアレーションによる多少の除去性が認められている¹⁰⁾。ブロモホルムは、IARC (International Agency for Research on Cancer) においてグループ 3 (ヒトの発癌性ありとは分類できない) に分類されている^{10,11)}。さらに、NOAEL (無毒性量) は 25 mg/kg/day と報告されて大阪健康安全基盤研究所衛生化学部生活環境課

おり、これに基づき TDI (耐容一日摂取量) は 17.9 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{day}$ に設定されている¹⁰⁾。ブロモホルムの基準値は、TDI に対して寄与率 20%とし、体重 50kg のヒトが 1 日 2 L 飲むと仮定し、0.09 mg/L と定められた¹⁰⁾。

方 法

1.参加機関

本外部精度管理に参加した建築物飲料水水質検査業の機関は、17 機関であった。

2.実施方法

(1)精度管理試料の調製方法

2022 年 9 月 26 日に精製水約 60 L をステンレス製タンクに採水した。塩酸 (富士フィルム和光純薬工業: 有害金属測定用) 27 mL を添加後、攪拌して一部を採水し、(3) で後述するページ・トラップーガスクロマトグラフ-質量分析計による一斉分析法を用いて測定したところ、精製水中に含まれるブロモホルムは、0.001 mg/L 未満であったため、試料調製用の精製水として問題ないと判断した。さらに、ブロモホルム標準原液 (関東化学: 水質試験用 1000 mg/L) を 2.4 mL 加えて、よく攪拌した (ブロモホ

ルムの設定濃度：0.04 mg/L)。500 mL 容量のガラス製瓶 45 本に、それぞれ満水となるよう分注したものを精度管理試料とした。冷蔵保管した後、9月29日に精度管理試料が到着するように各参加機関へ冷蔵輸送により送付した。

(2)精度管理試料の均一性及び安定性

均一性を確認するため、精度管理試料を分注順に等間隔で5本抜き取り、それぞれ n=2 で測定を行った。測定結果を基に一元配置分散分析を行った。また、安定性については、試料配付日と配付後4、6、8、14日目に、冷蔵保管していた試料1本を抜き取り、その試料について n=5 で測定し、近似直線の傾きを用いて確認した。

(3)精度管理試料の分析方法

分析方法は、告示法¹²⁾のページ・トラップーガスクロマトグラフー質量分析計による一斉分析法(別表第14¹²⁾以下「PT法」、ヘッドスペースーガスクロマトグラフー質量分析計による一斉分析法(別表第15¹²⁾以下「HS法」とした。精度管理試料については、5併行で測定し、有効数字3桁でその平均値を算出し、検査値とした。さらに、その結果と分析方法の分析条件等を「外部精度管理結果報告書」に記載し、検量線、クロマトグラム、標準作業書(SOP)等の提出を求めた。

(4)評価の検証方法

各機関から報告された検査値の変動係数が、20%を超えたものについては評価の対象外とした。検査値は、「真値」に対して誤差率±20%超過していること、及びzスコアの絶対値が3を超過している場合、当該値を「外れ値」とした。誤差率は検査値と真値との誤差を絶対的に評価する指標として、zスコアは各検査値のばらつきを相対的に評価する指標として用いた。「真値」は、各参加機関からの検査値を用いて、ISO 5725-2 (JIS Z8402-2)に準拠し、有意水準を5%として Grubbs の棄却検定¹³⁾を行い、これにより棄却された検査値を除いた上で、残された検査値から平均を求め、これを「真値」とした。

誤差率は、(1)の式から算出し、真値に対して±20%以内であることを許容範囲とした。

$$\text{誤差率 (\%)} = (\text{各機関の検査値} - \text{真値}) / \text{真値} \times 100 \cdots (1)$$

zスコアは、四分位数法で算出し¹⁴⁾、絶対値3未満を許容範囲とした。

結果 および 考察

1.精度管理試料の均一性及び安定性

均一性について、平均濃度は0.0374 mg/L (標準偏差0.0017、変動係数4.67%)となり、試料間の濃度変動は有意とならず(p=0.43)、問題がないことが確認された。また、安定性については、告示法で採水から検査開始までを24時間以内と定められているものの、業務の都合により24時間以内に開始できない参加機関を想定し、長期保存下で確認した。その結果、近似直線の傾きはほぼ0となり、問題がないと判断した(図1)。

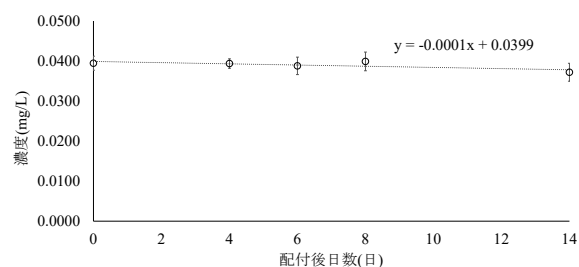


図1 精度管理試料の安定性
(n=5、平均±標準偏差)

2.分析方法

6機関はPT法を、11機関はHS法を用いて、測定を行っていた。

3.検査結果の検証

(1)誤差率、zスコア及び「外れ値」

参加機関の検査値、変動係数、誤差率、zスコア及び分析方法を表1に、分析方法別による検査値の度数分布図を図2に示す。検査値の変動係数が20%を超えた機関は存在しなかった。そのため、全参加機関から得られた検査値を用いて評価を実施した。検査値を有意水準5%で Grubbs の棄却検定を行ったが、棄却された検査値は存在しなかった。よって、17機関の検査値を平均した0.0395 mg/Lを「真値」とした。「真値」に対する誤差率は、-10.64～24.70%の範囲に分布し、許容範囲を超過したのは2機関(B-16及びB-17)であった。一方、17機関の検査値を用いてzスコアを算出したところ、zスコアは-1.12～2.58の範囲にあり、zスコアが許容範囲を超えた検査値は認められなかった。

以上の結果より、誤差率及びzスコアの許容範囲を超過した「外れ値」に該当する検査値は存在しな

かったことから、全ての参加機関において、精度よく検査が実施されていたと考えられた。

表1 参加機関の検査値、変動係数、誤差率、 z スコア及び分析方法

機関番号	検査値 (mg/L)	変動係数 (%)	真値に対する誤差率 (%)	Zスコア	分析法
B-1	0.0353	1.68	-10.64	-1.12	HS法
B-2	0.0354	0.67	-10.44	-1.10	PT法
B-3	0.0359	1.89	-9.17	-0.96	HS法
B-4	0.0360	4.40	-8.92	-0.94	HS法
B-5	0.0362	6.01	-8.46	-0.89	HS法
B-6	0.0367	3.48	-7.05	-0.74	PT法
B-7	0.0368	5.07	-6.89	-0.72	HS法
B-8	0.0372	0.94	-5.88	-0.62	PT法
B-9	0.0395	2.30	0.04	0.00	PT法
B-10	0.0396	0.00	0.24	0.02	HS法
B-11	0.0400	1.49	1.31	0.13	HS法
B-12	0.0410	12.12	3.84	0.40	HS法
B-13	0.0413	2.04	4.45	0.46	HS法
B-14	0.0416	3.11	5.31	0.55	HS法
B-15	0.0420	4.45	6.27	0.65	HS法
B-16 *	0.0479	3.67	21.31	2.22	PT法
B-17 *	0.0493	1.51	24.70	2.58	PT法
平均値	0.0395				
最大値	0.0493				
最小値	0.0354				
標準偏差	0.0041				
変動係数 (%)	10.5				
n	17				

真値：0.0395 mg/L

*：真値に対する誤差率が $\pm 20\%$ を超えた機関

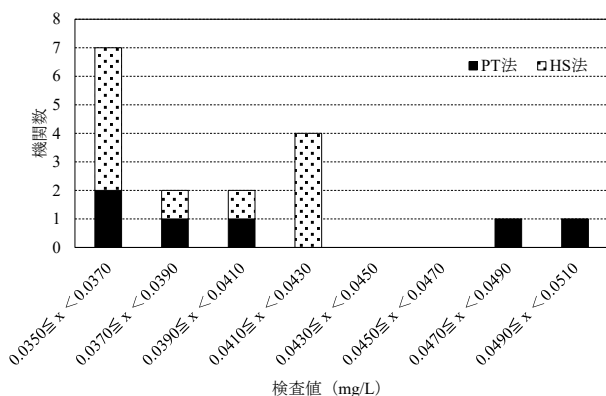


図2 分析方法別による検査値の度数分布

(2) 全体的な留意点

本外部精度管理において、外れ値はなかったものの、さらなる検査精度の向上を目的として、各参加機関から提出された報告書及び SOP 等を用いて、検査体制や手順を検証した。

① 標準液

告示法において、標準原液、標準液又は混合標準液は原体から自己調製したもの、若しくは計量法（平成4年法律第51号）第136条若しくは第144条の規定に基づく証明書又はこれらに相当する証明書が添付され、かつ、告示法の標準原液と同濃度のもの又は告示の標準液若しくは混合標準液と同濃度のものの使用が認められている¹²⁾。なお、告示の標準液若しくは混合標準液と同濃度のものは開封後速やかに使用することとし、開封後保存したものを使用してはならない¹²⁾と記載されている。すべての参加機関が、市販品の標準原液を使用していた。告示法と異なる標準原液濃度を用いていた機関が1機関（B-12）、値付け証明書がっていない機関が2機関（B-12、B-13）認められた。標準液についても、告示法を遵守し検査を実施する必要がある。

② 内部標準液

PT法及びHS法のいずれにおいても、内部標準物質を用いるように告示法で規定されている。告示法では、「内部標準原液をメチルアルコールで4～400倍に薄めたもの。この溶液は、使用の都度調製する。」¹²⁾と記載されている。HS法を用いた機関の中で、内部標準物質を使用していない機関が1機関（B-4）存在した。告示法において、内部標準物質を使用するように定められているため、使用するよう変更する必要がある。また、内部標準液を都度調製していない機関が1機関（B-7）確認された。内部標準液についても、告示法を遵守し検査を実施する必要がある。

③ 検量線

告示法においては、別表に記載された検水の濃度範囲内（0.0001～0.1 mg/L）で4段階以上の標準液を用いて、検量線を作成するように記載されている¹²⁾。また、妥当性評価ガイドラインにおいて、検量線の各濃度点の公比（隣り合う2つの濃度点の濃度比）は原則4以内になるように設定することが記載されている¹⁵⁾。検量線の点に0 mg/Lを使用している機関が1機関（B-9）、検量線の各濃度点の公比が10倍以上であった機関が1機関（B-1）存在した。これらの機関は、検量線の作成時に0 mg/Lを使用せず、また検量線の各濃度点の公比を原則4以内に改善する必要がある。

④ 検査開始までの時間

告示法では検査開始までの時間は24時間以内と定められているが、3機関（B-2、B-3、B-7）が24

時間以内に検査を開始していなかった。B-3 は 27 時間後、B-2 は 6 日後、B-7 は 28 日後に検査を開始していた。精度管理試料の配付日が決められていたため、業務の都合により 24 時間以内に開始できなかった可能性が考えられた。検査開始の遅れによる結果への影響は確認されなかったものの、通常の検査において速やかに分析できない場合には、告示法に従って保存し、24 時間以内に検査を開始しなければならない。

⑤空試験

告示法では、精製水を一定量採り、同様に前処理をすることとなっており、検量線の濃度範囲の下限値を下回ることを確認する必要がある。今回、全ての機関が空試験を実施していた。

⑥前処理

告示法の PT 法においては、「検水をパージ容器に採り、内部標準液を試験溶液の内部標準物質濃度がフルオロベンゼン又は 4-ブロモフルオロベンゼンがおおむね 0.005~0.5 mg/L 及び 1,4-ジオキサン-d₈がおおむね 0.004~0.4 mg/L となるよう一定量注入する。」¹²⁾と記載されている。PT 法を用いた機関において、告示法と異なる前処理をした機関は認められなかった。

HS 法では、告示法において「バイアルに塩化ナトリウムを検水量 10 mL に対して 3 g を入れた後、検水をバイアル容量に対して 0.40~0.85 となるように採り、内部標準液を試験溶液の内部標準物質濃度がフルオロベンゼン又は 4-ブロモフルオロベンゼンがおおむね 0.0025~0.25 mg/L 及び 1,4-ジオキサン-d₈がおおむね 0.002~0.2 mg/L となるよう一定量注入する。直ちにポリテトラフルオロエチレンシート、セプタム、アルミキャップをのせ、アルミキャップ締め器で密閉する。次いで、バイアルを振り混ぜた後、恒温槽で 30 分間以上加温し、これを試験溶液とする。」¹²⁾と記載されている。加温温度を 50℃に設定していた機関が 1 機関(B-5)存在した。告示法において、加温時の温度は 60~80℃と定められているため、この範囲内に設定しなければならない。

⑦SOP の整備状況

SOP の整備がフロー図のみ等で、SOP として不十分な機関が 1 機関(B-7)存在した。また、試薬のメーカー名、規格等の記載がない機関が 1 機関(B-7)及び記載が不十分な機関が 10 機関(B-2、B-5、B-6、B-9、B-11、B-12、B-13、B-14、B-15、B-

17) 確認された。記載が不十分な事例としては、標準液及び内部標準液の記載はあるが、その他の試薬については記載されていない、さらに、試薬名の記載はあるが、メーカー名、規格の記載がないなどが挙げられる。その中でも、多くの機関において塩酸及び精製水に関して前述した事例があった。SOP に器具または装置について記載がない機関が 4 機関(B-3、B-5、B-7、B-15)、あるいは記載が不十分な機関が 8 機関(B-1、B-2、B-6、B-9、B-13、B-14、B-16、B-17)存在した。記載が不十分な機関の多くは、器具及び装置に関する記載はしていたが、メスフラスコに関する記載をしていなかった(B-1、B-2、B-9、B-13、B-14、B-16、B-17)。B-6 においては、装置についての記載はあるが、器具についての記載は全くなかった。試料の採取及び保存について記載がない機関は 4 機関(B-7、B-8、B-9、B-15)、記載が不十分な機関が 3 機関(B-3、B-4、B-6)確認された。記載が不十分な機関の SOP においては、試料水の pH 調整方法(B-3、B-4)または冷暗所での保存に関する情報(B-6)が不足していた。試料の前処理について記載が不十分な機関は、2 機関(B-5、B-7)認められた。B-5 では前処理の加温について記載されておらず、B-7 ではフローチャートのみが示され、文章による記載が欠けていた。

以上より、SOP の記載が不十分な機関が比較的多くみられた。記載が不十分な場合、担当者ごとに作業手順が異なり、結果の再現性が確保できない恐れがある。したがって、検査精度を確保し、信頼性の高いデータを得るために SOP を整備する必要がある。

⑧妥当性評価

告示法による検査を行うにあたって、基準値等の適合判定に用いることを目的とする検査は、原則として妥当性が評価されている検査方法を用いる必要がある¹⁵⁾。妥当性評価には、検量線についての評価及び添加試料についての評価の 2 種類がある。検量線についての評価は、標準試料を用いて自らの SOP に基づく検査方法に従って検量線を作成し、キャリアオーバー、真度及び精度がそれぞれの目標を満たすことを確認する¹⁵⁾ことである。また、添加試料についての評価は、添加試料を自らの SOP に基づく検査方法に従って試験し、その結果から選択性、真度及び併行精度が、それぞれの目標を満たすことを確認する¹⁵⁾ことである。

妥当性評価については 9 機関で両評価とも実施

されていたものの、検量線についての評価が未実施の機関は7機関 (B-1、B-4、B-7、B-9、B-12、B-13、B-15)、添加試料についての評価が未実施の機関は8機関 (B-1、B-4、B-5、B-7、B-9、B-12、B-13、B-15) 確認された。妥当性評価は、検査の精度を客観的に評価できるため、検査結果の信頼性を担保するものであり、未実施の機関においては、妥当性評価の重要性を認識する必要があると考えられた。

ま と め

2022 年度において、大阪府内の建築物飲料水水質検査業の 17 機関を対象に外部精度管理を実施した。参加機関から報告された検査値を「真値」に対する誤差率と z スコアの 2 つの方法で評価した。報告された 17 機関の検査値のうち、変動係数が 20% を超えた機関は存在せず、全て評価対象とした。Grubbs の棄却検定で棄却される機関は認められず、17 機関の検査値を平均した 0.0395 mg/L を「真値」として算出した。「真値」に対する誤差率が $\pm 20\%$ を超えたのは 2 機関であり、 z スコアが許容範囲を超えた機関はなく、「外れ値」に該当した機関も認められなかった。

全体的な総括として、多くの機関で告示法に準拠した SOP が整備されていたが、HS 法の前処理において内部標準物質の不使用及び加温条件の逸脱が確認された機関が存在した。告示法に準拠した SOP を整備し、妥当性評価を実施することで、今後さらなる検査精度を向上させることが期待できると考えられた。

謝 辞

本研究は「建築物飲料水水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の解明ならびに改良分析法の提案に関する研究」により実施された。研究実施にあたり協力して頂いた大阪府健康医療部生活衛生室環境衛生課ならびに (一社) 大阪ビルメンテナンス協会の各位に感謝いたします。

利 益 相 反

開示すべき利益相反はない。

文 献

- 1) 吉田仁, 木村明生. 水質検査における外部精度管理(2015 年度)-銅及びその化合物-. 大阪健康安全基盤研究所研究年報 2017; **1**: 73-79.
- 2) 中島孝江, 安達史恵, 小泉義彦. 水質検査における外部精度管理 (2017 年度) —大阪府建築物飲料水水質検査業—. 大阪健康安全基盤研究所研究年報 2018; **2**: 91-99.
- 3) 中島孝江, 安達史恵, 小泉義彦. 水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の解明 (2018 年度) -大阪府建築物飲料水水質検査業-. 大阪健康安全基盤研究所研究年報 2019; **3**: 96-105.
- 4) 中島孝江, 安達史恵, 小泉義彦. 水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の解明 (2019 年度) -大阪府建築物飲料水水質検査業-. 大阪健康安全基盤研究所研究年報 2020; **4**: 100-109.
- 5) 吉田仁, 中島孝江, 長谷川有紀, 小泉義彦. 水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の解明 (2020 年度) —大阪府建築物飲料水水質検査業 (臭素酸) —. 大阪健康安全基盤研究所研究年報 2021; **5**: 66-72.
- 6) 長谷川有紀, 吉田仁, 小泉義彦. 水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の解明 (2020 年度) —大阪府建築物飲料水水質検査業 (ホルムアルデヒド) —. 大阪健康安全基盤研究所研究年報 2021; **5**: 73-79.
- 7) 長谷川有紀, 中島孝江, 小泉義彦. 水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の解明 (2021 年度) -大阪府建築物飲料水水質検査業-. 大阪健康安全基盤研究所研究年報 2022; **6**: 129-139.
- 8) 吉田仁, 安達史恵. 水質検査における外部精度管理 (2022 年度) —銅及びその化合物—. 大阪健康安全基盤研究所研究年報 2024; **8**: 87-93.
- 9) 真柄泰基. 水道水質ハンドブック. 日本水道新聞社; 1994. 42.
- 10) 環境省. プロモホルム. <https://www.env.go.jp/content/000219094.pdf>
- 11) World Health Organization. Re-evaluation of Some Organic Chemicals, Hydrazine and Hydrogen Peroxide (Part 1, Part 2, Part 3). *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans* 1999; **71**: 1311
- 12) 厚生労働省. 「水質基準に関する省令の規定に基づき厚生労働大臣が定める方法」(平成 15 年 7 月 22 日付け厚生労働省告示第 261 号 [最終改正 令和 4 年 3 月 31 日付け厚生労働省告示第

134号)) .

- 13) 日本工業標準調査会. JIS Z8402-2: 測定方法及び測定結果の精確さ(真度及び精度-第 2 部: 標準測定方法の併行精度及び再現性を求めるための基本的な方法). 日本規格協会; 1999. 309-310.
- 14) 藤井賢三. 試験所認定制度における技能試験 (1). 環境と測定技術 2000; 27: 51-56.
- 15) 環境省. 水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン. <https://www.env.go.jp/content/900546879.pdf>

WEB サイトの内容は 2026 年 1 月 7 日に確認した。

**Elucidation of factors affecting quantitative accuracy for bromoform in water quality measurements,
performed in 2022 in Osaka Prefecture**

Yuki HASEGAWA, Yoshihiko KOIZUMI, Jin YOSHIDA and Fumie ADACHI

To identify factors affecting the quantitative accuracy of water quality measurements and to propose improvements to analytical methods, external quality control was conducted, targeting operators engaged in building drinking water testing institutes in Osaka Prefecture. Bromoform was designated as the target analyte for the fiscal year 2022, and 17 institutions participated in the program. The measured values reported by each institution were evaluated using two approaches: percentage error relative to the assigned value ("true value") and z-scores. No outliers were identified among the participating institutions. Establishing SOPs in accordance with official notification methods and conducting validation studies are expected to further improve testing accuracy.

Key words : tap water, bromoform, external quality control

水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の解明（2024年度） —大阪府建築物飲料水水質検査業外部精度管理（ブロモジクロロメタン）—

大嶋智子, 小泉義彦, 吉田 仁, 安達史恵, 高取 聡

水道水質検査における定量精度に影響を与える因子を抽出し、より良い分析精度を得るための提案を行うことを目的に、大阪府の登録水質検査業者を対象とした外部精度管理を実施した。2024年度の有機化合物分析では、ブロモジクロロメタンを添加した精度管理試料を配付し、各機関が水道水質検査法に従って測定を行い、その結果を回収して統計解析を行った。外部精度管理に参加した17機関中1機関が、真値に対する誤差率およびZスコアの許容範囲を超過し、外れ値となった。その機関を対象に定量精度に関するフォローアップ調査を行ったところ、試料及び試験溶液の取り扱いならびに機器の安定性確保が十分でなかったことが外れ値の原因と推察された。

キーワード：水道水、外部精度管理、ブロモジクロロメタン、建築物飲料水水質検査業

（地独）大阪健康安全基盤研究所では、2015年度から（一社）大阪ビルメンテナンス協会からの受託研究として、水道水質検査における定量精度に影響を与える因子を抽出し、分析法改良の提案を行うことを目的に、「建築物における衛生的環境の確保に関する法律」第12条の2第1項に規定の建築物飲料水水質検査業の大阪府知事登録を受けている事業所（以下、登録水質検査業者）を対象に外部精度管理を実施している¹⁻⁸⁾。

2024年度の有機化合物の対象項目には、「ブロモジクロロメタン」を選定した。ブロモジクロロメタンは、浄水処理過程で水中のフミン質等の有機物質と消毒剤の塩素が反応して生成されるトリハロメタンの構成物質である^{9, 10)}。ブロモジクロロメタンは、国際がん研究機関（IARC）において、Group 2B（ヒトに対して発がん性がある可能性がある）に分類されており、その水道水質基準値は、耐容一日摂取量（TDI）6.1 µg/kg/day、TDIに対する寄与率を20%、体重50 kgのヒトが1日あたり2 L 飲用すると仮定して、0.03 mg/Lと定められている¹⁰⁾。

浄水処理過程でのブロモジクロロメタンの生成

量は、原水中の臭素イオン濃度に大きく影響され、中でも写真工業の排水、海水の影響を受けやすい地域及び地下水に塩分を含む地域では臭素化トリハロメタンが多くなることが知られている¹¹⁾。さらに、排水、冷却水の塩素処理で非意図的に生成するとされている¹¹⁾。通常の浄水処理過程では、ブロモジクロロメタンの前駆物質に対して、凝集沈殿ろ過、膜ろ過、オゾン処理、活性炭処理等による除去性があり、生成したブロモジクロロメタンに対しては、エアレーションによる多少の除去性があるとされている¹⁰⁾。

方 法

1. 参加機関

本外部精度管理に参加した登録水質検査業者は、17機関であった。

2. 実施方法

(1) 精度管理試料の調製方法

2024年9月24日（火）にステンレス製タンクに精製水約50 Lを採水し、塩酸（富士フィルム和光純薬工業：有害金属測定用）(1+10) 200

mL 及びプロモジクロロメタン標準原液（関東化学：水質試験用 1 mg/mL（メタノール溶液））を 450 μ L 添加後、攪拌して調製した精度管理試料を、500 mL ガラス製瓶に分注した（設定濃度：0.009 mg/L）。なお、標準原液添加前の精製水に存在するプロモジクロロメタンは、(2)で後述するパージ・トラップ-ガスクロマトグラフ-質量分析計による一斉分析法を用いて、予め測定したところ 0.0001 mg/L 未満であり、試料調製用の精製水として問題ないと判断した。

2024 年 9 月 26 日（木）に各検査実施機関にチルド便にて配付した。

(2) 参加機関による精度管理試料の検査方法

検査方法は「水質基準に関する省令の規定に基づき環境大臣が定める方法」（平成 15 年 7 月 22 日付け厚生労働省告示第 261 号〔最終改正 令和 6 年 3 月 29 日厚生労働省告示第 171 号〕）にあるパージ・トラップ-ガスクロマトグラフ-質量分析計による一斉分析法（別表第 14、PT 法）、ヘッドスペース-ガスクロマトグラフ-質量分析計による一斉分析法（別表第 15、HS 法）とした¹²⁾。配付された精度管理試料については 1 回の測定を行い、その結果と分析法の分析条件等を「外部精度管理結果報告書」に記入し、検量線、クロマトグラム、標準作業書 (SOP)、作業記録、計算過程記載メモ等の資料も合わせて、2024 年 10 月 31 日（木）までに当研究所へ提出するよう依頼した。

結果 および 考察

1. 試料の均一性及び安定性確認

配付する精度管理試料の均一性確認のため、2024 年 9 月 24 日に調製した試料を、分注順に等間隔で 5 本抜き取り、それぞれ n=2 で測定した。測定した結果について、一元配置分散分析を行ったところ、p 値は 0.05 以上 (0.06) であり、試料間の濃度差は有意とならず、均一性に問題がないことを確認した。

次に、配付した精度管理試料の安定性確認のため、配付日と配付後 4、7、10 及び 14 日目に、冷蔵保管していた試料 1 本を抜き取り、その試料について n=5 で測定を行い、経時変化を確認した。図 1 に試料中のプロモジクロロメタンの経時変化を示した。

近似直線の傾きは概ね 0 であり、近似直線と各測定日における測定値の平均との乖離度は、 $\pm 1\%$ 未満で、ほとんど経時変化が見られない安定した試料であった。

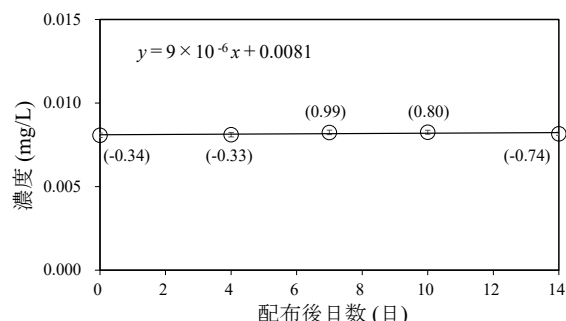


図 1. 精度管理試料に含まれるプロモジクロロメタンの安定性

(n=5、平均 \pm 標準偏差、() 内は、乖離度 (%))

2. 検査値の検証

(1) 各機関の検査方法について

6 機関は PT 法を、11 機関は HS 法を用いていた (表 1)。

表 1. 参加機関の検査値、真値に対する誤差率、z スコア及び分析法

機関番号 ^{*1}	検査値 (mg/L)	真値に対する誤差率 (%)	z スコア	分析法
B-1 ^{*2}	0.00523	-41.70	-4.59	HS
B-2	0.00740	-17.51	-1.85	HS
B-3	0.00793	-11.60	-1.19	HS
B-4	0.00831	-7.36	-0.71	PT
B-5	0.00849	-5.36	-0.48	HS
B-6	0.00852	-5.02	-0.44	HS
B-7	0.00857	-4.47	-0.38	PT
B-8	0.00863	-3.80	-0.30	HS
B-9	0.00887	-1.12	0.00	PT
B-10	0.00888	-1.01	0.01	PT
B-11	0.00888	-1.01	0.01	PT
B-12	0.00893	-0.45	0.08	HS
B-13	0.00956	6.57	0.87	HS
B-14	0.00966	7.68	1.00	PT
B-15	0.0101	12.59	1.55	HS
B-16	0.0102	13.70	1.68	HS
B-17	0.0106	18.16	2.18	HS
平均値	0.00875			
最大値	0.0106			
最小値	0.00523			
標準偏差	0.0012			
変動係数 (%)	14.04			
n	17			

真値：0.00897 mg/L

*1：検査値を昇順に並べ、通し番号を付与した

*2：真値に対する誤差率が $\pm 20\%$ を超え、z スコアの絶対値が 3 以上の機関（外れ値）

(2) 誤差率、zスコア及び「外れ値」

参加 17 機関から報告された検査値から、変動係数、誤差率、zスコアを求め、表 1 に示した。また、各機関の検査値の分布を図 2 に示した。真値を算出するため、17 検査値を有意水準 5% で Grubbs の棄却検定を行った。その結果、1 機関 (B-1) の検査値が棄却されたため、残りの 16 検査値を平均した 0.00897 mg/L を「真値」とした。各検査機関の「真値」に対する誤差率の範囲は -41.70%~18.16% となり、許容範囲の±20%を超えたのは 1 検査値 (B-1) であった。一方、17 検査値を用いて z スコアを求めた結果、z スコアの範囲は -4.59~2.18 となり、許容範囲の絶対値 3 未満を超えたのは 1 検査値 (B-1) であった。以上の結果、誤差率及び z スコアの両方の許容範囲を超えた「外れ値」に該当する検査値は 1 機関 (B-1) となり、当該機関に対してフォローアップ調査を実施した。

(3) フォローアップ調査

機関 B-1 は HS 法を用いており、検査値は 0.00523 mg/L であり、「真値」に対する誤差率は -41.70%、z スコアは -4.59 となり、外れ値となった。提出された外れ値等に関する報告書では、冷蔵保存された試料を常温にしてから採取したことが主たる要因と報告された。

フォローアップ調査では、標準溶液に比べ、空試験と精度管理試料での内部標準物質の面積値が大きいことから、今回の検査での内部標準物質の面積値を確認するよう指摘した。その結果、検査時において、内部標準物質の面積値のばらつきが大きく、装置の状態が良くなかったおそれがあることが分かった。さらに外れ値となった要因を探るため、前処理工程について順を追って確認するように求めた。その結果、HS バイアルのアルミキャップの巻締が不十分であったおそれがあることが新たに明らかになった。このように、1 つの要因だけでなく、いくつかの要因が重なったことが外れ値の原因になったと考えられた。また、改善措置として、SOP への注意事項を加筆するように指摘したところ、不要箇所の削除も合わせて実施され、シンプルでわかりやすい SOP に改訂したと報告を受けた。

その後、新たな精度管理試料を調製し、改訂 SOP によるフォローアップ分析を実施した。その結果、誤差率 (対象機関と同日に当所においてもその精度管理試料の分析を行い、得られた値を真値とした) は、-1.58% となり、良好な結果であることを確認した。

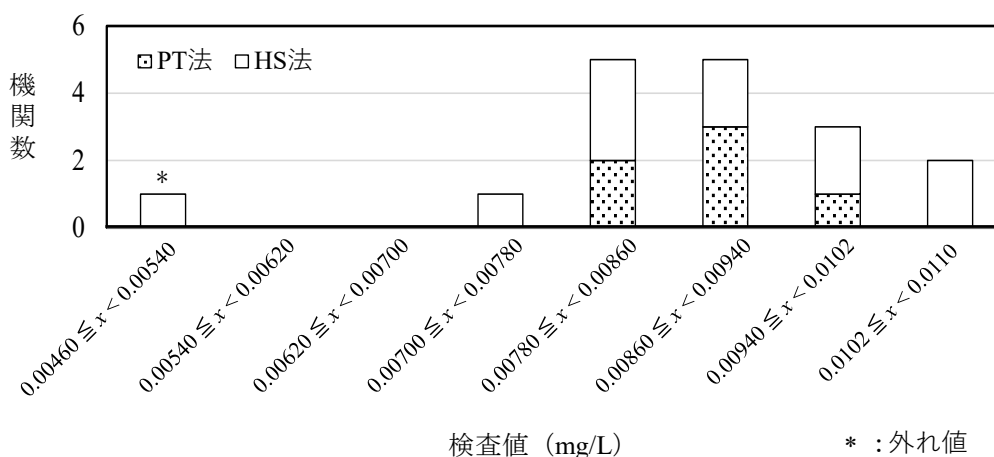


図 2. 検査法別による検査値の分布

(4) 全体的な留意点

① SOP の整備状況

SOP は、フロー図のみという機関はなく 17 機関いずれも整備されていた。しかし、整備の充実度には差がみられた。なお、わずかな不備を含むもののおおむね良好であったのは 5 機関 (29%) であった。試薬のメーカー名、規格等の記載がないあるいは不十分な機関は 10 機関 (59%)、SOP に器具または装置について記載がないあるいは記載が不十分な機関は 3 機関 (18%)、試料の採取及び保存について記載がないあるいは不十分な機関は 6 機関 (35%) であった。SOP は精度良く検査を実施するために必要なものであり、検査担当者全員が SOP に従い検査を行えば、誰でも検査できるものを整備する必要がある。

② 妥当性評価

2012 年 9 月 6 日付で厚生労働省より水道水質検査における妥当性評価ガイドラインが通知された¹³⁾。妥当性評価は、SOP に従った検査結果が、水質検査の目的とする濃度レベルに適合していることを確認するためのものである。本外部精度管理では、検量線の妥当性評価を実施していた機関は、11 機関 (65%) であった。添加試料の妥当性評価を実施している機関は 10 機関 (59%) であった。過半数の機関で妥当性評価に対応していたが、妥当性評価は検査結果の信頼性の確保につながることから、未実施の機関は早急の実施する必要がある。

③ 検査開始までの時間

告示法¹²⁾では、試料は、精製水で洗浄したねじ口瓶に泡立えないように採取し、pH 値が約 2 となるように塩酸 (1+10) を試料 10 mL につき 1 滴程度加え、満水にして直ちに密栓し、速やかに試験する。速やかに試験できない場合は、冷暗所に保存し、24 時間以内に試験すると定められているが、検水中のプロモジクロロメタンの安定性は 2 週間確保されていることを予め確認した上で、本外部精度管理では試験開始までの時間を 2 週間以内とした。17 機関すべてが 2 週間以内に検査を開始しており、問題のない状態で試験していた。

④ 検量線

告示法では別表に記載された精度管理試料の濃度範囲内で 4 段階以上の標準液を用いて、検量線を

作成するよう定められている¹²⁾。プロモジクロロメタンの濃度範囲は PT 法、HS 法のどちらも 0.0001 ~ 0.01 mg/L であること、検量線の点に 0 mg/L を使用しないこと、空試験を実施することなどの注意点がある。17 機関すべてが、これらの注意点を守って試験していることを確認した。

⑤ 前処理

PT 法による試験を行った 6 機関はいずれも告示法通りの前処理を用いていた。また、HS 法による試験を行った 11 機関はいずれも告示法通りの加温時間 30 分で試験していることを確認した。

⑥ 標準液

告示法では、標準原液、標準液または混合標準液は原体から自己調製したもの、もしくは計量法 (平成 4 年法律第 51 号) 第 136 条若しくは第 144 条の規定に基づく証明書又はこれらに相当する証明書が添付され、かつ、告示法の標準原液と同濃度のもの又は告示法の標準液若しくは混合標準液と同濃度のもの使用が認められている¹²⁾。また、告示法の標準液若しくは混合標準液と同濃度のものは開封後速やかに使用することとし、開封後保存したものを使用してはならないとされている¹²⁾。

17 機関すべてが市販の標準原液もしくは混合標準液を使用していたが、計量法に基づく証明書付きを使用していたのは 15 機関 (88%) であった。標準原液濃度が告示法と異なる機関が 1 機関 (6%)、用時調製していない機関が 2 機関 (12%) 見られ、告示法¹²⁾から逸脱していることから、改善が必要であった。

⑦ 内部標準液

内部標準物質を使用していない機関が 1 機関 (6%) あった。内部標準物質を使用している 16 機関のうち内部標準液を用時調製していない機関が 1 機関 (6%) 見られた。これら 2 機関は告示法¹²⁾から逸脱しており、改善が必要であった。

ま と め

大阪府の登録水質検査事業者を対象に、プロモジクロロメタンについての外部精度管理を実施した。参加 17 機関から報告された検査値を、誤差率 $\pm 20\%$ 以内と z スコアの絶対値 3 未満を許容範囲とする 2

つの方法で評価を行った。その結果、誤差率及びZスコアの両方の許容範囲を超えた「外れ値」に該当する検査値を報告したのは1機関であった。この機関に対して、外れ値の原因究明を行ったところ、試料及び試験溶液の取り扱いや、機器の安定性確保が十分でなかったことなどいくつかの要因によると推察された。これら要因に注意して別途精度管理試料を配付してフォローアップ分析を行ったところ、分析精度が改善されたことを確認した。

全体的な総括として、多くの機関で告示法に準拠した SOP が整備されていたが、その改訂時には注意事項の記載に合わせて不要箇所を削除するなど整理が必要な機関がみられた。また、HS 法の前処理では内部標準物質の使用に告示法と異なる機関がみられた。告示法に準拠した SOP を整備し、妥当性評価を実施することで、より一層、検査精度を維持、向上させることができると考えられることから、以下の留意点が考えられた。

- 1) 検水を冷却した状態で試験する。
- 2) 機器が安定した状態で試験する。
- 3) ヘッドスペースバイアルのアルミキャップのゆるみに注意する。
- 4) 内部標準法を用いて定量する。
- 5) 告示法に準拠した SOP を整備し、分析操作はこれを遵守する。
- 6) SOP の改訂時には、不要箇所を削除する。
- 7) 分析法の妥当性評価を実施する。

謝 辞

本外部精度管理は「建築物飲料水水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の解明ならびに改良分析法の提案に関する研究」により実施された。研究実施にあたり協力していただいた大阪府健康医療部生活衛生室環境衛生課ならびに（一社）大阪ビルメンテナンス協会の各位に感謝いたします。

利 益 相 反

開示すべき利益相反はない。

- 1) 吉田 仁, 木村 明生. 水質検査における外部精度管理 (2015 年度) —銅及びその化合物—. 大阪健康安全基盤研究所研究年報 2017; 1: 73-79.
- 2) 中島孝江, 安達史恵, 小泉義彦. 水質検査における外部精度管理 (2017 年度) —大阪府建築物飲料水水質検査業—. 大阪健康安全基盤研究所研究年報 2018; 2: 91-99.
- 3) 中島孝江, 安達史恵, 小泉義彦. 水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の解明 (2018 年度) —大阪府建築物飲料水水質検査業—. 大阪健康安全基盤研究所研究年報 2019; 3: 96-105.
- 4) 中島孝江, 高木総吉, 小泉義彦. 水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の解明 (2019 年度) —大阪府建築物飲料水水質検査業—. 大阪健康安全基盤研究所研究年報 2020; 4: 100-109.
- 5) 吉田 仁, 中島孝江, 長谷川有紀, 小泉義彦. 水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の解明 (2020 年度) —大阪府建築物飲料水水質検査業 (臭素酸) —. 地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所研究年報 2021; 5: 66-72.
- 6) 長谷川有紀, 吉田 仁, 小泉義彦. 水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の解明 (2020 年度) —大阪府建築物飲料水水質検査業 (ホルムアルデヒド) —. 地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所研究年報 2021; 5: 73-79.
- 7) 長谷川有紀, 中島孝江, 小泉義彦. 水質検査における定量精度に影響を及ぼす因子の解明 (2021 年度) —大阪府建築物飲料水水質検査業—. 地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所研究年報 2022; 6, 129-139.
- 8) 吉田 仁, 安達史恵. 水質検査における外部精度管理 (2022 年度) —銅及びその化合物—. 地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所研究年報 2024; 8: 87-93.
- 9) 環境省. 水質基準の見直しにおける検討概要.
https://www.env.go.jp/water/water_supply/kiju

[n/konkyo0303.html](https://www.env.go.jp/content/000219093.pdf)

- 10) 環境省. 水質基準の見直しにおける検討概要 (2)トリハロメタン. 整理番号 13203 ブロモジクロロメタン .
<https://www.env.go.jp/content/000219093.pdf>
- 11) 環境省. 化学物質の環境リスク初期評価. 評価書一覧, [12] ブロモジクロロメタン.
<https://www.env.go.jp/content/900411238.pdf>
- 12) 環境省. 水質基準に関する省令の規定に基づき環境大臣が定める方法 (平成 15 年 7 月 22 日厚生労働省告示第 261 号) [最終改正 令和 6 年 3 月 29 日厚生労働省告示第 171 号] .
<https://www.env.go.jp/content/900547779.pdf>
- 13) 環境省. 水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン (平成 24 年 9 月 6 日健水発 0906 第 1 号別添) [最終改正 平成 29 年 10 月 18 日付け薬生水発 1018 第 1 号] .
<https://www.env.go.jp/content/900546767.pdf>

WEB サイトの内容は 2026 年 1 月 7 日に確認した。

Elucidation of factors affecting quantitative accuracy for bromodichloromethane in water quality measurements,
performed in 2024 in Osaka Prefecture

Tomoko OOSHIMA, Yoshihiko KOIZUMI, Jin YOSHIDA, Fumie ADACHI and Satoshi TAKATORI

To elucidate the factors that affect quantitative accuracy and improve water quality measurements, we implemented external quality control of the analytical methods for detecting bromodichloromethane in drinking water, in collaboration with registered water quality testing companies in Osaka Prefecture. Consequently, one of the 17 examination values was evaluated as an outlier. We conducted a follow-up survey on this company. The results of this survey suggested that the test value was affected by several factors, including insufficient handling of samples and test solutions and insufficient stability of the analytical equipment.

Key words : drinking water, bromodichloromethane, external quality control

大阪府における環境および食品中放射能調査（令和 6 年度報告）

小泉義彦, 小池真生子, 肥塚利江, 高取 聡

令和 6 年度の原子力規制庁委託により実施した、大阪府における環境および各種食品中放射能調査結果を報告する。調査は、降水中の全ベータ放射能測定、環境試料（降下物、大気浮遊じん、上水、海水、土壌、海底土）および食品試料（タマネギ、キャベツ）中のガンマ線核種分析および空間放射線量率（モニタリングポスト）について実施した。その結果、令和 6 年度の環境および各種食品中の放射能および放射線のレベルは、過去の値と同様であり、人工放射性物質の環境への新たな放出はなかったことが確認された。

キーワード：環境放射能、全ベータ放射能、ガンマ線核種分析、空間放射線量率

大阪健康安全基盤研究所(当所)では、前身の(旧)大阪府立公衆衛生研究所であった昭和 35 年(1960 年)度より、大阪府における環境および食品中の放射能測定調査を実施している。この調査は、人工放射性降下物および原子力施設等からの放射性物質の漏洩による環境汚染の有無およびそのレベルを明らかにする目的で行っており、原子力規制庁の委託によるものである。

降水については全ベータ放射能測定、その他の環境試料および食品試料についてはガンマ線核種分析〔セシウム 134 (^{134}Cs)、セシウム 137 (^{137}Cs)、ヨウ素 131 (^{131}I)、カリウム 40 (^{40}K) 等]を行い、モニタリングポストによる空間放射線量率の調査を行った。

ガンマ線核種分析に関しては、測定値の信頼性確保のため、(公財)日本分析センターが調製した既知量の放射性核種を添加した試料 7 検体について、精度管理(標準試料法による分析比較)を行った。

本報告では、令和 6 年度に実施した上記の放射能調査結果を、過去の測定結果との比較も含め報告する。

実 験 方 法

試料の採取、処理および測定は、「環境放射能水準調査委託実施計画書(令和 6 年度)」¹⁾に基づいて行った。表 1 に調査項目および試料等を示す。

大阪健康安全基盤研究所衛生化学部生活環境課

1. 全ベータ放射能測定

(1) 降水試料

当所南館屋上(地上約 39 m)に設置したデポジットゲージ(表面積 1000 cm²)で降水を集めた。毎朝 9 時 30 分に採取し、100 mL(1 mm)以上の降水があった場合には 100 mL を測定試料とした。

(2) 測定方法

蒸発皿に試料 100 mL とヨウ素担体(1 mg I/mL) 1 mL、0.1 mol/L 硝酸銀 1 mL および 10%硝酸 1 mL を加えて加熱濃縮させた。濃縮物を直径 25 mm のステンレス製試料皿に移して蒸発乾固させ、測定用試料とした。測定は低バックグラウンド放射能自動測定装置(日立製作所製 LBC4502)で行った。比較試料は、酸化ウラン(U₃O₈: 日本アイソトープ協会製、35.3 dps)を用いた。測定は試料採取から 6 時間後に行った。測定時間は、比較試料 5 分、降水試料 30 分とした。

2. ガンマ線核種分析

(1) 測定試料

① 大気浮遊じん

当所南館屋上に設置したハイボリウム・エアサンプラー(柴田科学株式会社製、HV-1000R)を用いて、ろ紙(東洋濾紙、HE-40T)上に大気浮遊じんを捕集した。毎月 3 回、午前 10 時から翌日の午前 10 時までの 24 時間捕集を行った。

表1 放射能調査項目および試料等

調査項目	試料名	種別	採取場所	採取回数等	件数
全ベータ放射能	定時降水	降水	大阪市東成区 当所南館屋上	降水毎	76
ガンマ線核種分析	大気浮遊じん	—	大阪市東成区 当所南館屋上	3ヶ月毎	4
	降下物	雨水・ちり	大阪市東成区 当所南館屋上	毎月	12
	上水	原水 蛇口水	守口市大庭町 大阪府庭窪浄水場 大阪市東成区 当所南館8F	年1回(令和6年6月) 年1回(令和6年6月)	1 1
	海水	表面水	大阪港入口	年1回(令和6年7月)	1
	海底土	表層	大阪港入口	年1回(令和6年7月)	1
	土壌	0~5cm 5~20cm	大阪市中央区 大阪城公園内 大阪市中央区 大阪城公園内	年1回(令和6年7月) 年1回(令和6年7月)	1 1
	野菜	タマネギ(生産地) キャベツ(生産地)	大阪府泉南郡熊取町 大阪府泉南郡熊取町	年1回(令和6年5月) 年1回(令和7年1月)	1 1
	分析比較試料 (標準試料法)	水 模擬土壌 粉末試料	(公財) 日本分析センターで調製 (公財) 日本分析センターで調製 (公財) 日本分析センターで調製	年1回(令和6年7月) 年1回(令和6年8月) 年1回(令和6年8月)	1 2 4
空間線量率	モニタリングポスト	—	大阪市東成区 当所南館屋上	毎日/年間	365
			茨木市大住町 茨木保健所	毎日/年間	365
			寝屋川市八坂町 寝屋川保健所	毎日/年間	365
			東大阪市西岩田 東大阪市環境衛生検査センター	毎日/年間	365
			富田林市寿町 富田林保健所	毎日/年間	365
			泉佐野市羽倉崎 市立佐野中学校	毎日/年間	365

3ヶ月分のろ紙試料(測定に供した吸引量:約10000m³)をカッターで円形(直径50mm)に切り取り、ポリプロピレン製容器(U-8容器)に詰め、測定用試料とした。

② 降下物(雨水・ちり)

当所南館屋上(地上約39m)に設置した水盤(表面積5000cm²)に降下した雨水およびちりを1ヶ月間採取し、採取した試料全量を、ステンレスビーカー(EBM製モリブデンジII)と電磁調理器(Panasonic社製KZ-PH5P)を用いて加熱し、蒸発濃縮させた。濃縮物を蒸発皿に移して蒸発乾固させた後、残留物をU-8容器に移し、測定用試料とした。

③ 上水

原水(淀川河川水)は大阪広域水道企業団庭窪浄水場(守口市)原水取水口から、蛇口水は当所南館8階の実験室内蛇口から採取した。採取試料各100Lを、ステンレスビーカーと電磁調理器を用いて蒸発濃縮させた。濃縮物を蒸発皿に移して蒸発乾固させた後、残留物をそれぞれU-8容器に移し、測定用試料とした(時期および測定数は表1を参照)。

④ 食品

野菜類(タマネギおよびキャベツ)の食用部約4kgを65℃の乾燥器(Panasonic社製、MOV-212-PJ)で乾燥させた後に、石英製容器に移して電気マッフル炉(ADVANTEC社製、FUW263PA)で450℃、24時間灰化した。それぞれの灰試料を0.35mmメッシュのふるいに通し、U-8容器に移して測定用試料とした(試料採取場所、時期および測定数は表1を参照)。

⑤ 海水、土壌、海底土

海水は2Lをマリネリ容器(2L容)に入れ、測定用試料とした。土壌および海底土は、採取後に105℃の乾燥器で乾燥させた後、2mmメッシュのふるいに通して得られた乾燥細土約100gをU-8容器に入れ、測定用試料とした(試料採取場所、時期および測定数は表1を参照)。

⑥ 精度管理用分析比較試料

(公財)日本分析センターが調製した分析比較試料である「水」(¹³¹I、¹³⁷Csおよび⁴⁰Kを添加したイオン交換水)、「模擬土壌」(数種のガンマ線放出核種を添加したアルミナ)および「粉末試料」(環境試料をもとに調製した固体粉末試料)について、「水」(1試料)はマリネリ容器(2L容)に容器の

標線まで入れ、模擬土壌（U-8 容器：2 試料）は受け取った U-8 容器のまま、「粉末試料」（4 試料）は U-8 容器に入れ測定を行った。

測定結果については、(公財) 日本分析センターにおいて付与値と比較し評価を行った。評価は、当所（分析機関）の分析値と付与値およびそれらの拡張不確かさ（ U ）から En 数を算出し、 $|En| \leq 1$ を満足とした。なお、 En 数は下記の式により求められる。

$$En \text{ 数} = \frac{(\text{分析値}_{\text{分析機関}} - \text{付与値})}{\sqrt{U^2_{\text{分析機関}} + U^2_{\text{付与値}}}}$$

(2) 測定方法

あらかじめエネルギーの異なる核種を含んだ標準線源を用いてエネルギー校正および検出効率校正を行ったゲルマニウム半導体検出器（キャンベラ製、GC2018）を用い、試料中の核種より放出されるガンマ線量を測定した。測定時間は 80000 秒とした。得られた計測結果をバックグラウンド補正した後、エネルギー補正および検出効率補正を行い、測定試料中のガンマ線放出核種（ ^{134}Cs 、 ^{137}Cs 、 ^{131}I および ^{40}K 等）の定性定量分析を行った。

3. 空間放射線量率測定

モニタリングポスト（NaI シンチレーション式、エネルギー補償型、アロカ製 MAR-22 型）による空間放射線量率の測定は、大阪市（当所）、茨木市、寝屋川市、東大阪市、富田林市、泉佐野市に設置した 6 基（地上 1m、但し、大阪市（当所）は地上 39 m）で連続測定を行った（設置場所は表 1 を参照）。結果は 1 時間平均値による 1 日の変動をメモリーカードから読み取った。

モニタリングポスト 6 基の測定結果は、自動測定・配信システムにより 10 分間の平均値が原子力規制委員会のホームページにリアルタイムで公表されている²⁾。

結果 および 考 察

1. 全ベータ放射能

表 2 に降水中の全ベータ放射能測定結果を示す。令和 6 年度および過去 3 年間（令和 3～5 年度）の値も併せて表記した。降水中の全ベータ放射能は、76 試料中 13 例から検出されたが、降下量の年度合

計は過去 3 年間の値の範囲を下回っていた。

表 2 降水中全ベータ放射能測定結果

年 月	降水量 mm	件数 (検出数)	濃度 Bq/L	月間降下量 MBq/km ²		
令和 6 年	4月	132	10 (2)	ND~1.77	3.1	
	5月	212	10 (1)	ND~0.26	1.1	
	6月	249	8 (1)	ND~0.34	0.6	
	7月	162	5 (0)	ND	ND	
	8月	74	6 (2)	ND~0.31	4.1	
	9月	93	5 (1)	ND~0.36	0.9	
	10月	96	8 (0)	ND	ND	
	11月	107	5 (0)	ND	ND	
	12月	7	2 (1)	ND~1.07	1.1	
	令和 7 年	1月	24	4 (1)	ND~0.57	1.6
		2月	18	4 (2)	ND~1.45	2.2
		3月	71	9 (2)	ND~0.42	9.4
令和 6 年度	1245	76 (13)	ND~1.77	24.0		
過去3年間の値						
令和 3 年度	1872	84 (15)	ND~1.01	63.1		
令和 4 年度	1068	81 (24)	ND~1.54	64.6		
令和 5 年度	1368	82 (14)	ND~1.53	35.4		

ND: 計数値がその計数誤差の3倍を下回るもの

2. 核種分析

環境試料および食品試料中の ^{134}Cs 、 ^{137}Cs 、 ^{131}I および ^{40}K の分析結果を表 3 に示す。令和 6 年度および過去 3 年間（令和 3～5 年度）の値も併せて表記した。

(1) ^{134}Cs および ^{137}Cs

今年度も例年同様、 ^{137}Cs が土壌の試料から検出されたが、そのレベルは過去の値と同程度であった。半減期が約 30 年と長い ^{137}Cs を大阪府で継続して検出していることについては、過去に行われた核実験によって生成した核分裂生成物が地上に降下して土壌に沈着したものであると考えられる。 ^{137}Cs の半減期が約 30 年と長いいため検出しているものと推定された。

また、半減期が約 2 年と短い ^{134}Cs は、例年同様にどの試料からも検出されなかった。

(2) ^{131}I

^{131}I はどの試料からも検出されなかった。 ^{131}I は原子力施設の事故に伴い生成及び放出される人工放射性核種として知られ、身近な医学利用では甲状腺がんやパセドウ病の治療に用いられている。なお、令和 5 年度には蛇口水から ^{131}I を 0.84 mBq/kg 検出したが、飲食物摂取基準³⁾（飲料水中の放射性ヨウ素：300 Bq/kg）の 10 万分の 1 程度であった。非常に低い濃度であり、既報⁴⁾にも述べたが、 ^{131}I

表3 環境試料および食品試料中の¹³⁴Cs、¹³⁷Cs、¹³¹Iおよび⁴⁰K濃度

試料	採取年月日	単位	¹³⁴ Cs	¹³⁷ Cs	¹³¹ I	⁴⁰ K	
大気浮遊じん							
令和6年	4月～6月	R6.4.2 ～R6.6.20	mBq/m ³	ND	ND	ND	0.13±0.034
	7月～9月	R6.7.3 ～R6.9.18	〃	ND	ND	ND	ND
	10月～12月	R6.10.2 ～R6.12.17	〃	ND	ND	ND	0.11±0.033
令和7年	1月～3月	R7.1.8 ～R7.3.18	〃	ND	ND	ND	ND
令和6年度			mBq/m ³	ND	ND	ND	ND～0.13
過去3年間の値			mBq/m ³	ND	ND	ND	ND～0.19
降下物							
令和6年	4月	R6.4.1 ～R6.5.2	MBq/km ²	ND	ND	ND	ND
	5月	R6.5.2 ～R6.6.3	〃	ND	ND	ND	ND
	6月	R6.6.3 ～R6.7.2	〃	ND	ND	ND	ND
	7月	R6.7.2 ～R6.8.1	〃	ND	ND	ND	ND
	8月	R6.8.1 ～R6.9.2	〃	ND	ND	ND	ND
	9月	R6.9.2 ～R6.9.30	〃	ND	ND	ND	ND
	10月	R6.9.30 ～R6.11.1	〃	ND	ND	ND	ND
	11月	R6.11.1 ～R6.12.3	〃	ND	ND	ND	ND
	12月	R6.12.3 ～R7.1.7	〃	ND	ND	ND	ND
令和7年	1月	R7.1.7 ～R7.1.31	〃	ND	ND	ND	ND
	2月	R7.1.31 ～R7.2.28	〃	ND	ND	ND	ND
	3月	R7.2.28 ～R7.4.1	〃	ND	ND	ND	ND
令和6年度			MBq/km ²	ND	ND	ND	ND
過去3年間の値			MBq/km ²	ND	ND	ND	ND～1.7
上水・原水		R6.6.4	mBq/L	ND	ND	ND	66±2.3
過去3年間の値			mBq/L	ND	ND	ND～4.0	63～79
上水・蛇口水		R6.6.20	mBq/L	ND	ND	ND	73±2.4
過去3年間の値			mBq/L	ND	ND	ND～0.84	79～89
海水		R6.7.25	Bq/L	ND	ND	ND	3.8±0.33
過去3年間の値			Bq/L	ND	ND	ND	3.1～6.0
海底土		R6.7.25	Bq/kg dry	ND	ND	ND	640±11
過去3年間の値			Bq/kg dry	ND	1.4～2.5	ND	610～640
土壌		R6.7.31	Bq/kg dry	ND	1.3±0.19	ND	690±10
0～5cm層			(MBq/km ²)	(ND)	(54±8.1)	(ND)	(29000±420)
過去3年間の値			Bq/kg dry	ND	0.91～1.2	ND	610～670
			(MBq/km ²)	(ND)	(39～59)	(ND)	(24000～32000)
土壌		R6.7.31	Bq/kg dry	ND	ND	ND	710±10
5～20cm層			(MBq/km ²)	(ND)	(ND)	(ND)	(94000±1400)
過去3年間の値			Bq/kg dry	ND	ND～0.88	ND	660～720
			(MBq/km ²)	(ND)	(ND～130)	(ND)	(96000～120000)
農産物 タマネギ		R6.5.30	Bq/kg生	ND	ND	ND	39±0.30
過去3年間の値			Bq/kg生	ND	ND	ND	38～54
農産物 キャベツ		R7.1.21	Bq/kg生	ND	ND	ND	84±0.53
過去3年間の値			Bq/kg生	ND	ND～0.029	ND	63～87

ND：計数値がその計数誤差の3倍を下回るもの

表4 モニタリングポストによる空間放射線量率（1時間平均値）

表4-1 大阪市 大阪健康安全基盤研究所:地上39 m

測定年月	測定回数	モニタリングポスト(nGy/h) (所在地:大阪市)				
		最高値	最低値	平均値		
令和6年	4月	30	73	60	62	
	5月	31	78	60	62	
	6月	30	82	60	62	
	7月	31	77	60	61	
	8月	31	90	60	62	
	9月	30	75	60	61	
	10月	31	74	60	62	
	11月	30	72	61	62	
	12月	31	74	61	62	
	令和7年	1月	31	74	61	62
		2月	28	74	61	62
		3月	31	78	60	62
令和6年度	365	90	60	62		
過去3年間の値						
令和3年度	365	100	61	64		
令和4年度*						
移設前(地上 1m)	256	92	61	65		
移設後(地上 39m)	109	79	61	62		
令和5年度	366	87	60	62		

*:令和4年12月地上1mから39mへ移設

表4-2 茨木市 茨木保健所:地上1 m

測定年月	測定回数	モニタリングポスト(nGy/h) (所在地:茨木市)				
		最高値	最低値	平均値		
令和6年	4月	30	71	53	55	
	5月	31	75	53	55	
	6月	30	75	52	55	
	7月	31	70	52	55	
	8月	31	90	53	57	
	9月	30	73	54	57	
	10月	31	67	54	57	
	11月	30	70	54	56	
	12月	31	61	54	56	
	令和7年	1月	31	63	54	56
		2月	28	70	54	56
		3月	31	78	53	55
令和6年度	365	90	52	56		
過去3年間の値						
令和3年度	365	82	52	55		
令和4年度	365	78	53	56		
令和5年度	366	90	52	56		

表4-3 寝屋川市 寝屋川市保健所:地上1 m

測定年月	測定回数	モニタリングポスト(nGy/h) (所在地:寝屋川市)				
		最高値	最低値	平均値		
令和6年	4月	30	79	63	65	
	5月	31	83	63	65	
	6月	30	84	63	65	
	7月	31	80	63	65	
	8月	31	111	63	65	
	9月	30	84	63	65	
	10月	31	82	63	65	
	11月	30	82	63	65	
	12月	31	71	64	65	
	令和7年	1月	31	74	64	65
		2月	28	80	64	66
		3月	31	82	63	65
令和6年度	365	111	63	65		
過去3年間の値						
令和3年度	365	94	63	65		
令和4年度	365	95	63	65		
令和5年度	366	99	63	65		

表4-4 東大阪市 東大阪市環境衛生検査センター:地上1 m

測定年月	測定回数	モニタリングポスト(nGy/h) (所在地:東大阪市)				
		最高値	最低値	平均値		
令和6年	4月	30	93	75	77	
	5月	31	97	75	77	
	6月	30	103	75	77	
	7月	31	96	74	77	
	8月	31	154	75	78	
	9月	30	100	75	78	
	10月	31	96	75	78	
	11月	30	92	76	78	
	12月	31	88	77	78	
	令和7年	1月	31	97	76	78
		2月	28	96	77	78
		3月	31	96	75	78
令和6年度	365	154	74	78		
過去3年間の値						
令和3年度	365	112	73	77		
令和4年度	365	109	74	77		
令和5年度	366	110	74	77		

表4-5 富田林市 富田林保健所:地上1 m

測定年月	測定回数	モニタリングポスト(nGy/h) (所在地:富田林市)				
		最高値	最低値	平均値		
令和6年	4月	30	76	58	60	
	5月	31	75	58	60	
	6月	30	78	58	60	
	7月	31	76	58	60	
	8月	31	75	59	61	
	9月	30	72	58	60	
	10月	31	72	59	60	
	11月	30	77	59	60	
	12月	31	66	59	60	
	令和7年	1月	31	69	59	60
		2月	28	77	59	60
		3月	31	87	59	61
令和6年度	365	87	58	60		
過去3年間の値						
令和3年度	365	83	58	60		
令和4年度	365	79	58	60		
令和5年度	366	103	58	60		

表4-6 泉佐野市 佐野中学校:地上1 m

測定年月	測定回数	モニタリングポスト(nGy/h) (所在地:泉佐野市)				
		最高値	最低値	平均値		
令和6年	4月	30	68	48	50	
	5月	31	77	48	50	
	6月	30	71	47	50	
	7月	31	72	46	50	
	8月	31	80	48	51	
	9月	30	58	47	50	
	10月	31	67	48	50	
	11月	30	68	48	50	
	12月	31	72	49	50	
	令和7年	1月	31	66	49	50
		2月	28	74	49	50
		3月	31	79	48	50
令和6年度	365	80	46	50		
過去3年間の値						
令和3年度	365	96	47	50		
令和4年度	365	89	47	50		
令和5年度	366	87	48	50		

の起源は医学利用によるものであろうと推定されている。

(3) ^{40}K

^{40}K は天然放射性核種であるため、環境中に普遍的に存在する。大気浮遊じん、上水（原水および蛇口水）、海水、海底土、土壌、農産物（玉ねぎ及びキャベツ）で検出した。検出レベルは過去の値と同程度であった。

(4) 環境試料の放射能測定における精度管理

（公財）日本分析センターの報告書⁵⁾によると、当所の分析結果は付与値とよく一致しており、かつ、 En 数の絶対値も「1」以下であることから、ガンマ線核種分析の精度は確保されていることが認められた。

3. 空間放射線量率

モニタリングポストによる空間放射線量率調査結果（1時間平均値に基づく変動範囲を1月毎にまとめたもの）を表4-1から表4-6に示す。

令和6年度の地上39mに設置されている大阪市の空間放射線量率値（表4-1）は、60~90 nGy/hの範囲であった。地上39mに移設されたのちの値（60~87 nGy/h）に比べてやや高かったが、地上1mに設置されていた時期に比べて低かった。

また、表4-2から表4-6に示したその他の地上1mに設置されている5ヶ所の空間放射線量率値は、茨木市（表4-2）が52~90 nGy/h、寝屋川市（表4-3）が63~111 nGy/h、東大阪市（表4-4）が74~154 nGy/h、富田林市（表4-5）が58~87 nGy/h、泉佐野市（表4-6）が46~80 nGy/hの範囲であった。すべての地点で、平均値は、過去3年間に観測した値に近い値であったが、寝屋川市および東大阪市で過去3年間の最高値を超える値が観測された。

寝屋川市においては、過去にも降雨の影響で111 nGy/hを超えることがあった（平成28年度；117 nGy/h等）⁶⁾が、東大阪市の最高値（154 nGy/h）は平成24年に観測を始めて以来最高の値であった⁷⁻¹⁸⁾ため、その原因について検討を行った。

図1に東大阪市で最高値を示した8月6日における東大阪市の空間放射線量率（10分値）および

気象台の観測地点で東大阪市に一番近い大阪観測所における降雨状況（10分値）¹⁹⁾を示す。空間放射線量率は、降水と共に上昇し、雨が止むと下降する傾向がみられた。また、図2にピーク時として19:50~20:00（線量率：166 nGy/h）、平常時として11:50~12:00（線量率：78 nGy/h）の10分間の γ 線スペクトルを示した。ピーク時では、平常時に比べて、ラドン（ ^{222}Rn ）の娘核種である ^{214}Pb （半減期：19.7分）および ^{214}Bi （半減期：26.8分）の上昇が見られたが、人工放射性核種の上昇は認められなかった。従って、東大阪市における8月6日の空間放射線量率の上昇は、上空に気体で存在するラドンが崩壊し、生成したラドン娘核種が、降雨に伴って地上に降下することが原因と推定できた。

ま と め

ガンマ線核種分析により人工放射性核種である ^{137}Cs が土壌から例年同様検出されたが、そのレベルは低値であった。また、他の人工放射性核種はいずれの試料からも検出されなかった。空間放射線量率は、寝屋川市および東大阪市のモニタリングポストにおいて、過去の値より高い値が観測されたが、降雨による大気中の半減期の短いラドン娘核種の降下が原因と推定できた。また、その他のモニタリングポストでの観測値は過去3年間または過去に観測された値の範囲内であった。

謝 辞

本調査の遂行にあたり、調査試料の採取にご協力いただきました大阪城パークセンター、熊取町役場、大阪広域水道企業団庭窪浄水場の各機関に感謝致します。また調査実施にあたり、ご指導をいただきました原子力規制庁監視情報課放射線環境対策室、日本分析センターの皆様には謝意を表します。

利 益 相 反

開示すべき利益相反はない。

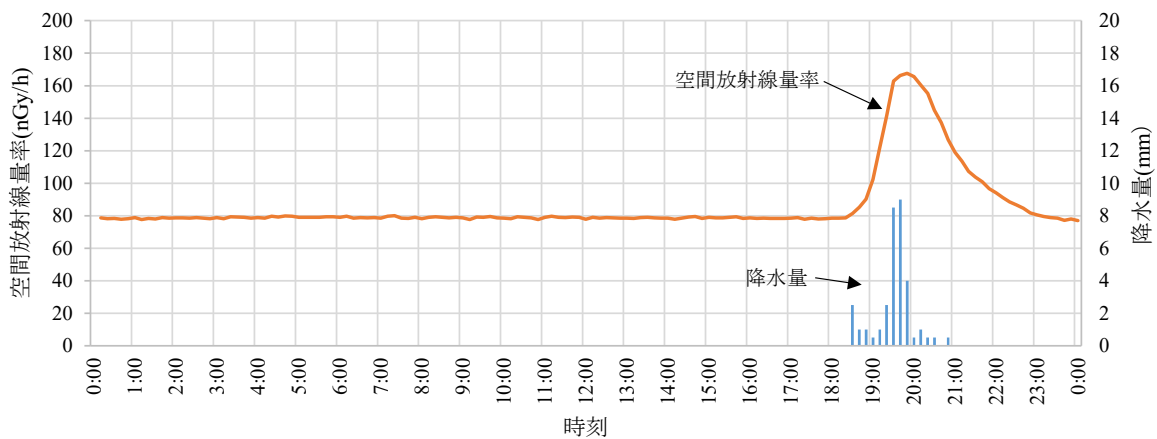


図1 令和6年8月6日の東大阪市における空間放射線量率および
大阪市における降水状況の時系列変化（10分値）

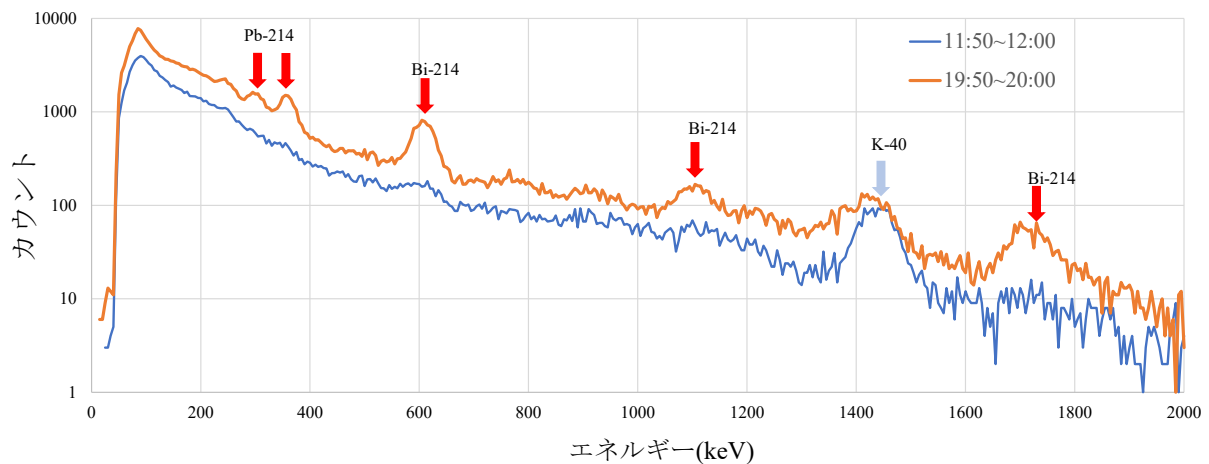


図2 東大阪市におけるピーク時（19:50~20:00）および平常時（11:50~12:00）の γ 線スペクトル
（令和6年8月6日）

文献

- 1) 原子力規制庁. 監視情報課放射線環境対策室. 環境放射能水準調査委託実施計画書. 令和6年度.
- 2) 原子力規制委員会. 放射線モニタリング情報共有・公表システム.
<https://www.erms.nsr.go.jp/nra-ramis-webg/>
- 3) 原子力規制委員会. 原子力災害対策指針（平成24年10月31日制定, 令和7年10月3日一部改正）. <https://www.nra.go.jp/data/000476899.pdf>
- 4) 田村幸子, 渡辺功, 布浦雅子. 大阪府における環境および食品中放射能調査-平成元年4月~平成2年3月-. 大阪府立公衆衛生研究所研究報告 公衆衛生編 1990; **28**: 165-170.
- 5) 公益財団法人日本分析センター. 令和6年度原子力施設等防災対策等委託費 環境放射能水準調査（放射能分析）評価結果
- 6) 肥塚利江, 大山正幸, 木村明生. 大阪府における環境および食品中放射能調査（平成28年度報告）. 大阪健康安全基盤研究所年報 2017; **1**: 101-110.
- 7) 東恵美子, 肥塚利江, 足立伸一. 大阪府における環境および食品中放射能調査（平成24年度報告）. 大阪府立公衆衛生研究所研究報告 2013; **51**: 34-41.

- 8) 肥塚利江, 東恵美子, 足立伸一. 大阪府における環境および食品中放射能調査 (平成 25 年度報告). *大阪府立公衆衛生研究所研究報告* 2014; **52**: 67-74.
- 9) 東恵美子, 肥塚利江, 足立伸一. 大阪府における環境および食品中放射能調査 (平成 26 年度報告). *大阪府立公衆衛生研究所研究報告* 2015; **53**: 69-75.
- 10) 肥塚利江, 東恵美子, 足立伸一. 大阪府における環境および食品中放射能調査 (平成 27 年度報告). *大阪府立公衆衛生研究所研究報告* 2016; **54**: 83-90.
- 12) 大山正幸, 肥塚利江, 木村明生. 大阪府における環境および食品中放射能調査 (平成 29 年度報告). *大阪健康安全基盤研究所年報* 2018; **2**: 100-108.
- 13) 肥塚利江, 大山正幸, 山口進康. 大阪府における環境および食品中放射能調査 (平成 30 年度報告). *大阪健康安全基盤研究所年報* 2019; **3**: 119-128.
- 14) 大山正幸, 肥塚利江, 山口進康. 大阪府における環境および食品中放射能調査 (平成 31 年度報告). *大阪健康安全基盤研究所年報* 2020; **4**: 123-131.
- 15) 肥塚利江, 大山正幸, 小泉義彦, 小池真生子, 山口進康. 大阪府における環境および食品中放射能調査 (令和 2 年度報告). *大阪健康安全基盤研究所年報* 2021; **5**: 90-97.
- 16) 小泉義彦, 肥塚利江, 大山正幸, 小池真生子, 山口進康. 大阪府における環境および食品中放射能調査 (令和 3 年度報告). *大阪健康安全基盤研究所年報* 2022; **6**: 140-147.
- 17) 小池真生子, 小泉義彦, 肥塚利江, 大山正幸, 山口進康. 大阪府における環境および食品中放射能調査 (令和 4 年度報告). *大阪健康安全基盤研究所年報* 2023; **7**: 86-93.
- 18) 肥塚利江, 小泉義彦, 小池真生子, 大山正幸, 高取 聡. 大阪府における環境および食品中放射能調査 (令和 5 年度報告). *大阪健康安全基盤研究所年報* 2024; **8**: 100-108.
- 19) 気象庁. 過去の気象データ検索.
<https://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/>

WEB サイトの内容は 2026 年 1 月 13 日に確認した。

Survey of environmental and food radioactivity in Osaka Prefecture (Fiscal 2024 Report)

Yoshihiko KOIZUMI, Maoko KOIKE, Toshie HIZUKA, and Satoshi TAKATORI

We investigated the radioactivity of environmental and food samples in Osaka Prefecture during the 2024 program year, using data from the Nuclear Regulatory Agency. Gross beta radioactivity in precipitation, air radiation, and gamma ray radiation nuclides in food and environmental samples (e.g., fallout, airborne dust, tap water, seawater, soil, and sea sediment) was measured. The radioactivity levels of the environment and food in the 2024 program year were similar to those in the past, and no new artificial radionuclides were radiated.

Key words: Environmental radioactivity, gross beta activity, radionuclide analysis, environmental gamma activity

Strong evolutionary constraints against amino acid changes in the P2 subdomain of sapovirus GI.1 capsid protein VP1.

M. YOKOYAMA, Y.H. DOAN, K. MOTOMURA, H. SATO, and T. OKA

Biochemical and biophysical research communications, 710, 149878 (2024)

<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2024.149878>

Genetic recombination and genotype diversity of norovirus GI in children with acute gastroenteritis in Thailand, 2015-2021.

P. KHAMRIN, K. KUMPHIP, A. YODMEEKLIN, S. OKITSU, K. MOTOMURA, S. SATO, H. USHIJIMA, and N. MANEEKARN

Journal of infection and public health, 17, 379-385 (2024)

<https://doi.org/10.1016/j.jiph.2024.01.009>

Irregular seasonality of respiratory syncytial virus infection persists in 2023 in Osaka, Japan

T. MIYAMA, K. KAKIMOTO, Y. YAMANAKA, Y. NISHIDA, N. IRITANI, and K. MOTOMURA

IJID Regions, 13, 100442 (2024)

<https://doi.org/10.1016/j.ijregi.2024.100442>

2024年に経験した輸入症例を起点とした大阪府内の麻疹広域集積事例の疫学および分子疫学解析

本村和嗣, 柿本健作, 入谷展弘, 倉田貴子, 上林大起, 改田 厚, 森川佐依子, 廣井 聡, 平井有紀, 小山芽以, 阿部仁一郎, 三好龍也, 水谷英揮, 小林仁美, 福田弘美, 松本一美, 西野裕香, 梶川智洋, 坂本 愛, 吉田英樹, 中山浩二, 廣川秀徹, 國吉裕子, 齊藤武志, 藤井史敏, 康 茆瑛, 山中八重, 松本小百合, 浅田留美子, 宮園将哉, 柴田敏之, 田邊雅章, 大槻紀之

病原微生物検出情報(IASR), 45, 224-225 (2024)

Habitual walking and mental disorder in relation to autism spectrum disorder

Y. SHIMIZU, T. YOSHIDA, K. ITO, K. TERADA, N. SASAKI, E. HONDA, and K. MOTOMURA

International Journal of Developmental Disabilities, (2025)

<https://doi.org/10.1080/20473869.2025.2452860>

Impact of autism on the relation between sleep and life satisfaction in Japanese adults

Y. SHIMIZU, T. YOSHIDA, K. ITO, K. TERADA, N. SASAKI, E. HONDA, and K. MOTOMURA

Diseases, 12(12), 305 (2024)

<https://doi.org/10.3390/diseases12120305>

Platelet count and hypertension as indicators of height loss in the general population: A prospective study

Y. SHIMIZU, H. YAMANASHI, Y. NOGUCHI, S.Y. KAWASHIRI, K. ARIMA, Y. NAGATA, and T. MAEDA

PLoS One, 19(12), e0314527.(2024)
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0314527>

Association between Asian flush and satisfaction of sleep via alcohol consumption status in a sample of Japanese participants

Y. SHIMIZU, T. YOSHIDA, K. ITO, K. TERADA, N. SASAKI, E. HONDA, and K. MOTOMURAI.
Medical Sciences, 12(4), 62 (2024)
<https://doi.org/10.3390/medsci12040062>

Association between serum uric acid levels and cardio-ankle vascular index stratified by circulating level of CD34-positive cells among elderly Japanese men: a cross-sectional study.

Y. SHIMIZU, S. Y. KAWASHIRI, H. YAMANASHI, S. NAKAMICHI, N. HAYASHIDA, Y. NAGATA, and T. MAEDA
Scientific Reports, 14(1), 21965 (2024)
<https://doi.org/10.1038/s41598-024-72665-9>

Feeling of incomplete bladder emptying and angiogenesis-related polymorphism rs3025020 among older community-dwelling individuals.

Y. SHIMIZU, S. Y. KAWASHIRI, Y. NOGUCHI, N. SASAKI, S. NAKAMICHI, K. ARIMA, Y. NAGATA, and T. MAEDA
Geriatrics & Gerontology International, 24(10), 1039-1044.(2024)
<https://doi.org/10.1111/ggi.14970>

Association between eating speed and atherosclerosis in relation to growth differentiation factor-15 levels in older individuals in a cross-sectional study.

Y. SHIMIZU, S. Y. KAWASHIRI, Y. NOGUCHI, N. SASAKI, M. MATSUYAMA, S. NAKAMICHI, K. ARIMA, Y. NAGATA, T. MAEDA, and N. HAYASHIDA
Scientific Reports, 14(1), 16492 (2024)
<https://doi.org/10.1038/s41598-024-67187-3>

Association between underweight, serum albumin levels, and height loss in the Japanese male population: a retrospective study.

Y. SHIMIZU, E. HONDA, N. SASAKI, M. TAKADA, T. YOSHIDA, and K. MOTOMURA
Journal of Physiological Anthropology, 43(1), 15(2024)
<https://doi.org/10.1186/s40101-024-00362-7>

Period prevalence of uveitis in human T-lymphotropic virus 1 carriers versus noncarriers in a highly endemic area: The Nagasaki Islands Study.

J. MIYATA, H. YAMANASHI, Y. DAKE, N. YOSHINORI, K. NOBUSUE, Y. DOI, Y. HONDA, F. NONAKA, K. ARIMA, M. TAMAI, D. SASAKI, Y. SHIMIZU, H. HASEGAWA, T. KITAOKA, K. YANAGIHARA, K. AOYAGI, A. KAWAKAMI, and T. MAEDA

Journal of Medical Virology, 96(5), e29653 (2024)

<https://doi.org/10.1002/jmv.29653>

Association between atherosclerosis and height loss among older individuals.

Y. SHIMIZU, K. ARIMA, H. YAMANASHI, S.Y. KAWASHIRI, Y. NOGUCHI, Y. HONDA, S NAKAMICHI, Y NAGATA, and T. MAEDA

Scientific Reports, 14(1), 7776 (2024)

<https://doi.org/10.1038/s41598-024-57620-y>

Retirement status after the age of 60 years modifies the association between anger expression and the risk of cardiovascular disease: The Circulatory Risk in Communities Study.

K. TEZUKA, Y. KUBOTA, T. OHIRA, I. MURAKI, M. HAYAMA-TERADA MINA, Y. SHIMIZU, H. IMANO, K. SHIRAI, T. OKADA, M. KIYAMA, and H. ISO

Geriatrics & Gerontology International, 24(4), 385-389 (2024)

<https://doi.org/10.1111/ggi.14852>

Mushroom intake and risk of incident disabling dementia: the Circulatory Risk in Communities Study (CIRCS)

S. AOKI, K. YAMAGISHI, K. MARUYAMA, R. KISHIDA, A. IKEDA, M. UMESAWA, C. RENZHE, Y. KUBOTA, M. HAYAMA-TERADA, Y. SHIMIZU, I. MURAKI, H. IMANO, T. SANKAI, T. OKADA, A. KITAMURA, M. KIYAMA, and H. ISO.

British Journal of Nutrition, 131(9), 1641-1647 (2024)

<https://doi.org/10.1017/S000711452400014X>

Genetic characterization of KHM-1 metallo- β -lactamase-producing Enterobacterales isolates from inpatient sources in Osaka, Japan

K. UMEDA, M. ANRAKU, T. YAMAGUCHI, H. NAKAMURA and R. KAWAHARA

Journal of Global Antimicrobial Resistance, 37, 48-52 (2024)

<https://doi.org/10.1016/j.jjar.2024.02.014>

魚介類に寄生するアニサキスによる食中毒

馬場 孝

バムサジャーナル, 36(2), 18-22 (2024)

ヒトにうつるマダニ媒介感染症

青山幾子

他誌掲載論文

バムサジャーナル, 36(3), 3-7 (2024)

国内 HIV-1 伝播クラスターの 2022 年の動向：薬剤耐性 HIV 調査ネットワークによる SPHNCs 年報
椎野禎一郎, 瀧永博之, 今橋真弓, 渡邊 大, 南 留美, 蜂谷敦子, 西澤雅子, 林田庸総, 吉田
繁, 豊嶋崇徳, 伊藤俊広, 古賀道子, 貞升健志, 佐野貴子, 宇野俊介, 谷口俊文, 猪狩英俊, 寒川
整, 中島秀明, 吉野友祐, 堀場昌英, 茂呂 寛, 渡邊珠代, 阪野文哉, 川畑拓也, 藤井輝久, 高田
清式, 中村麻子, 仲村秀太, 松下修三, 吉村和久, 杉浦 互, 菊地 正, 薬剤耐性 HIV 調査ネット
ワーク

日本エイズ学会誌, 26(3), 139-150 (2024)

Dengue virus type 3 infection in a traveler returning from Costa Rica to Japan in 2023

T. SASAKI, R. MORITA, I. AOYAMA, T. BABA, T. GOTO, R. KUBOTA-KOKETSU, Y. SAMUNE, E. E.
NAKAYAMA, T. SHIODA and M. SHIRANO

Tropical Medicine and Health, 52, 50 (2024)

[https://doi.org/ 10.1186/s41182-024-00620-5](https://doi.org/10.1186/s41182-024-00620-5)

Prevalence of human adenovirus type 3 associated with pharyngoconjunctival fever in children in Osaka, Japan
during and after the COVID-19 pandemic

M. KOYAMA, S. HIROI, Y. HIRAI and A. KAIDA

Japanese Journal of Infectious Diseases, 77(5), 292-295 (2024)

<https://doi.org/10.7883/yoken.JJID.2024.035>

感染症対策最前線の現場から-衛生研究所での電顕活用

左近直美

Scientific Instrument News (Hitachi High-Tech), 67(2), 5908-5911 (2024)

地方衛生研究所における HIV 確認検査に関するアンケート調査結果

川畑拓也, 阪野文哉, 浜みなみ, 長島真美, 河上麻美代, 貞升健志, 佐野貴子, 加藤眞吾, 須藤弘
二, 近藤真規子, 今村顕史

病原微生物検出情報(IASR), 45, 165-166 (2024)

下水からの病原体検出

左近直美, 中村昇太

関西実験動物研究会会報, 42, 1-3 (2024)

H and B blood antigens are essential for in vitro replication of GII.2 human norovirus

S. TAMIYA, N. MATSUMOTO, S. KUROKAWA, Y. NAKAMURA, Y. TAKAHASHI, N. SAKON, M.
INOUE, Y. KOIKE, K. UCHIDA, Y. YUKI, H. USHIJIMA, H. KIYONO and S. SATO

Open Forum Infectious Diseases, 12(1), ofae714 (2025)

<https://doi.org/10.1093/ofid/ofae714>

CODEHOP VP1 RT-semi-nested PCR の原法と変法によるエンテロウイルスおよびライノウイルス遺伝子検出の比較検討

中田恵子, 前田和穂, 三好龍也, 荻 美貴, 谷本佳彦, 大西優伽, 松浦侑輝, 山本紗也, 千葉翔子
病原微生物検出情報(IASR), 45, 226–228 (2024)

Observations of the scoliid wasp *Campsomeriella annulata annulata* (Fabricius, 1793) foraging on fallen *Firmiana simplex* (L.) W.F.Wight (Malvaceae) flowers

K. YAMAZAKI

Entomological Communications, 6, ec06034 (2024)

<https://doi.org/10.37486/2675-1305.ec06034>

Achieving measles elimination and emerging modified measles: Longitudinal measles epidemiology from 1982 to 2021 in Osaka Prefecture, Japan.

T. KURATA, Y. KAIDA, D. KANBAYASHI, and K. MOTOMURA

Vaccine. 42, 271-286. (2024)

<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2023.12.004>.

Shorter incubation period in symptomatic measles patients who had no history of measles vaccination

H. TANAKA, Y. TAKAHASHI, S. MATSUMOTO, M. MATSUYAMA, K. NAKAYAMA, H. KODAIRA, Y. KUBOTA, J. KAWAKAMI, T. KURATA, D. KANBAYASHI and K. MOTOMURA

Vaccine, 45, 126652 (2025)

<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2024.126652>

Molecular evolutionary analyses of the RNA-dependent RNA polymerase (RdRp) region and VP1 gene in sapovirus GI.1 and GI.2

F. MIZUKOSHI, R. KIMURA, T. SHIRAI, A. HIRATA-SAITO, E. HIRAISHI, K. MURAKAMI, Y. H. DOAN, H. TSUKAGOSHI, N. SARUKI, T. TSUGAWA, K. KIDERA, Y. SUZUKI, N. SAKON, K. KATAYAMA, T. KAGEYAMA, A. RYO and H. KIMURA

Microorganisms, 13(2), 322 (2025)

<https://doi.org/10.3390/microorganisms13020322>

How to prevent rubella epidemics and congenital rubella syndrome: lessons from 42 years of longitudinal epidemiology in Osaka Prefecture, Japan (1982-2023)

D. KANBAYASHI, T. KURATA, Y. KAIDA, T. MIYOSHI, F. OKAYAMA, T. KASE, J. KOMANO, K. TAKAHASHI, K. IKUTA and K. MOTOMURA

Journal of Infectious Diseases, 231(2), 440-450 (2025)

<https://doi.org/10.1093/infdis/jiae402>

A case of post-outbreak acute hepatitis a in a Japanese man who have sex with men infected with RIVM-HAV16-090 strain

M. KOZUKI, S. TANAKA, T. SHIRAI, N. SAKON, S. HARADA, A. KITAGAWA, K. MATSUSHIMA, Y. ABE, N. FUKUTAKE, H. HASEGAWA, S. YAMAMOTO, Y. SAKAKIBARA and R. SAKAMORI

Journal of Infection and Chemotherapy, 31(4), 102673 (2025)

<https://doi.org/10.1016/j.jiac.2025.102673>

新型コロナウイルス感染症流行前後における *Neisseria gonorrhoeae* の系統変化及び薬剤感受性の解析
大濱侑季, 矢原耕史, 志牟田健, 高橋英之, 吉田 愛, 森田昌知, 川畑拓也, 安田 満, 大西 真, 明田幸宏

日本性感染症学会誌, 35(4), 79-86 (2025)

<https://doi.org/10.24775/jjsti.O-2024-0010>

重症急性呼吸器感染症アウトブレイクと関連するアデノウイルス B 種 14p1 型の日本で初めての探知と拡大への注意喚起

花岡 希, 高橋健一郎, 村上耕介, 吉見逸郎, 関なおみ, 齋藤智也, 岩館樹里, 青木順子, 高橋久美子, 高橋美帆, 廣井 聡, 山木戸聡, 笠 純華, 金子久俊, 佐野貴子, 稲田貴嗣, 松浦侑輝, 森愛, 谷本佳彦, 和田美江子

病原微生物検出情報(IASR), 46, 63-64 (2025)

溶媒抽出-固相精製および HPLC による食品中の保存料 8 種類の分析法の検討

野村千枝, 柿本 葉, 山口瑞香, 藤原拓也, 徳永佑亮, 山崎朋美, 新矢将尚

日本食品化学学会誌, 31(2), 54-64 (2024)

食品中の tert-ブチルヒドロキノン (TBHQ)分析法の妥当性確認

野村千枝, 柿本 葉, 寺谷清香, 新矢将尚

日本食品化学学会誌, 31(3), 90-96 (2024)

妊娠適齢期の女性の魚介類摂取について

油谷藍子

食と医療, 30, 57-63 (2024)

食品用ラミネートフィルムに含まれる金属類の溶出

岸 映里, 尾崎麻子, 新矢将尚

食品衛生学雑誌, 65(6), 142-153 (2024)

Relationship between serum concentrations and muscular expressions of selenoproteins on selenium-supplemented insulin resistance mouse model

H. OGINO, K. MURANO, T. OKUNO and H. UENO

Biological and Pharmaceutical Bulletin, 47, 1000–1007 (2024)

Rapid quantification of Escherichia coli O157:H7 and Salmonella typhimurium in lettuce using immunomagnetic separation and a microfluidic system

Y. TOKUNAGA, Y. WAKABAYASHI, S. YONOGI and N. YAMAGUCHI

Biological and Pharmaceutical Bulletin, 47, 1931-1936 (2024)

Detection of exposure to sprout-inhibiting radiation doses in onions via 5,6-dihydrothymidine quantification using ultrasonication-mediated DNA extraction

T. FUJIWARA, N. FUKUI, M. FURUTA and S. TAKATORI

Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 334, 595–602 (2025)

Simple and rapid analytical method for the determination of methylmercury in fish and shellfish using solid-phase extraction and gas chromatography–mass spectrometry

S. KAKIMOTO, M. YOSHIMITSU and N. KAKUTANI

Journal of Chromatography B, 1250, 124383 (2025)

合成抗菌剤オキシリニック酸の食品残留基準について

平田祥太郎

大阪府獣医師会報, 75, 7-11 (2024)

HPLCによるジビエを対象とした残留クロピドール試験法の妥当性確認

平田祥太郎, 仲谷正, 山口進康, 星英之

日本食品化学学会誌, 31(1), 35-40 (2024)

Theoretical Study on the Correlation between Open-Shell Electronic Structures and Third-Order Nonlinear Optical Properties in One-Dimensional Chains of π -Radicals

J. SHODA, M. YOKOYAMA, W. YOSHIDA, H. MATSUI, R. SUGIMORI, R. KISHI and Y. KITAGAWA

Journal of Physical Chemistry A, 128(39), 8473–8482(2024)

<https://doi.org/10.1021/acs.jpca.4c05200>

染毛試験に使用する JIS 白布（毛）の代替資材の調査

中村暁彦, 武田章弘, 川口正美, 土井崇広, 田上貴臣

日本化粧品学会誌, 48(2), 78-81 (2024)

<https://doi.org/10.11469/koshohin.48.78>

Synthesis and structure determination of a synthetic cannabinoid CUMYL-THPINACA metabolite with differentiation between the ortho-, meta-, and para-hydroxyl positions of the cumyl moiety

Y. AZUMA, T. DOI, A. ASADA, M. TANAKA and T. TAGAMI

Drug Testing and Analysis, 16(4), 348-358 (2024)

<https://doi.org/10.1002/dta.3548>

The biological effects and thermal degradation of NPB-22, a synthetic cannabinoid

A. TAKEDA, T. DOI, A. ASADA, K. YUZAWA, A. NAGASAWA, K. IGARASHI, T. MAENO, A. SUZUKI, S. SHIMIZU, N. UEMURA, J. NAKAJIMA, T. SUZUKI, A. INOMATA and T. TAGAMI

Forensic Toxicology, 42, 142-151 (2024)

<https://doi.org/10.1007/s11419-023-00679-5>

インヨウカクについて：HPLCによるイカリイン分析法の検討と市場品及び採取品の分析

田上貴臣, 石田晃大, 石原理恵, 植松猛, 大井逸輝, 岡坂衛, 河端昭子, 谷手紗也香, 蔦原稜太, 西尾雅世, 山本豊, 横倉胤夫, 吉川舜, 北澤尚, 熊谷健夫, 吉松嘉代, 伊藤美千穂, 酒井英二, 森川敏生, 松田久司.

生薬学雑誌, 79(1), 1-11 (2025)

レジオネラ外部精度管理の現状.

枝川亜希子, 小池真生子, 井上浩章, 縣邦雄, 杉山順一, 安齋博文, 前川純子, 泉山信司
病原微生物検出情報 (IASR), 45, 120-122 (2024)

在宅中の子どもにおける 2,2,4-トリメチル-1,3-ペンタンジオールモノイソブチレートおよび 2,2,4-トリメチル-1,3-ペンタンジオールジイソブチレートの摂取量の推定.

吉田俊明, 味村真弓, 左近直美

室内環境, 27(1), 9-22 (2024)

<https://doi.org/10.7879/siej.27.9>

Quinolone Resistance Genes *qnr*, *aac(6)-Ib-cr*, *oqxAB*, and *qepA* in Environmental *Escherichia coli*: Insights into Their Genetic Contexts from Comparative Genomics.

R. GOMI and F. ADACHI

Microbial Ecology. 88(1), 6 (2025)

<https://doi.org/10.1007/s00248-025-02502-7>

マイクロ流路デバイスを用いた食中毒原因菌の 迅速オンサイトモニタリング方法の構築

徳永佑亮

Development of rapid on-site monitoring method of foodborne pathogens using a microfluidic device

Yusuke Tokunaga

I 概要

近年は生食や生鮮食品などを摂取する消費志向の高まりによって、食中毒の発生が増加している。細菌由来の食中毒の予防のためには、調理に使用する食材や喫食前の食品の微生物学的衛生管理が重要である。一方で、小規模の食品製造現場のような、自主的に細菌検査を行うような設備がない施設においては、検査を行うためには検査会社へ外注が必要になり、結果判明まで1週間は必要になる。さらに、避難所等の災害現場においては微生物学的衛生管理が難しく、食材の保存に関する機器の電源や場所等のリソースも限られている場合が多い。そのため、必要な時に必要な場所で細菌検査を実施できる、小型で携行可能な測定装置を使用した、迅速に食中毒原因菌を検出できる方法の構築が必要となっている。食中毒原因菌の検出及び定量においては培養法、リアルタイムPCR法やELISA法など数多くの方法が開発されている。これらの方法は、機器の使用を伴い、実験室内での操作が必要であるため、実験室外、即ち現場(On-site: オンサイト)で簡便に食中毒原因菌の検出を行うことは難しい。

マイクロ流路デバイスは、樹脂やガラスなどを材質とする基盤上にマイクロスケールの流路を彫り込み、その中を溶液が流れ、混合及び分流することが可能なチップ型の装置である。その特長として、1) 測定に必要な試料や試薬の量が少ない

(数十マイクロリットル)、2) 操作が簡単で結果を得られるまでの時間が短い(数分から1時間以内)、3) デバイスが小型であるため携行可能な検出システムを作製できる等が挙げられる。一方で、食中毒原因菌の検出においては、食品由来複雑成分が多く、マイクロ流路デバイスでの検出が難しい。そこで本研究では、食中毒原因菌を対象としてマイクロ流路デバイスを用いた迅速オンサイトモニタリング方法の構築を行った。

II 食中毒原因菌のモニタリング方法の構築

食品から細菌を回収する方法にフィルターろ過法や2段階遠心分離法を用いて、もっとも危険な食中毒原因菌の一つとして考えられている *E. coli* O157:H7 の迅速オンサイトモニタリング方法の構築を行った。食品には *E. coli* O157:H7 の一次汚染のモデルとして牛肉を使用し、まな板等を介した二次汚染のモデルとしてレタスを使用した。食品中に *E. coli* O157:H7 を添加してマイクロ流路デバイスを用いて定量を行ったところ、レタスを対象とする場合は、フィルターろ過法を用いることで 8.7×10^5 cells/g の *E. coli* O157:H7 を、牛肉を対象とする場合は、2段階遠心分離法を用いることで 1.1×10^5 cells/g の *E. coli* O157:H7 を約1時間で定量可能であった。また、食品中に含まれる一般細菌叢によるマイクロ流路デバイスを用いた測定系への影響は確認されなかった。

Ⅲ 低濃度域の食中毒原因菌のモニタリング方法の構築

フィルターろ過法や2段階遠心分離法は、食品中細菌の回収から測定までを短時間に完結させることが可能である一方、非特異的な回収方法であるため、食品由来夾雑成分と食中毒原因菌との分離を完全に行うことができなかつた。一部の食中毒原因菌では少量の摂取菌数においても食中毒が成立するため、低濃度域の細菌を定量する際に実施する濃縮操作により、食品由来夾雑成分も濃縮されてしまい、マイクロ流路デバイスによる定量の妨げとなる可能性がある。そのため、回収した細菌を濃縮できるようなレベルにまで食品由来夾雑成分を除去できる方法が必要である。そこで抗体を用いた抗原抗体反応を利用した免疫磁気分離 (IMS) 法を用いることで食品由来夾雑成分を除去できるか検討を行った。少量の摂取菌数で食中毒が成立する菌として *Salmonella* Typhimurium を使用し、食材には *Salmonella* 属菌での食中毒が多い鶏肉を用いた。IMS を用いた方法では添加した *Salmonella* Typhimurium の約 70% を回収することができたが、鶏肉由来の夾雑成分を完全に除去できなかつた。細菌の固定及び無毒化を目的としてホルムアルデヒド処理を行ったところ、夾雑成分を除去しやすくする効果が得られた。そのため、IMS とホルムアルデヒド処理を併用したところ、回収率を維持したまま鶏肉由来夾雑成分のほとんどを除去できていることが分かった。この方法を用いることで回収した *Salmonella* Typhimurium を濃縮することができたため、夾雑成分の影響を受けずにマイクロ流路デバイスを用いて約 $10^3 - 10^6$ cells/g の範囲において *Salmonella* Typhimurium を精度よく定量できた。

Ⅳ 複数種の食中毒原因菌のモニタリング方法の構築

食中毒原因菌による、汚染度の高いものと低いものとの接触により広がる交差汚染は、生鮮食品に関連するアウトブレイクの要因のひとつとして考えられている。交差汚染における汚染源には、生卵や生肉、生魚など多数の食品が汚染源になることが考えられるため、複数種の細菌を同時に検

出できる方法の構築が必要となる。そこで、交差汚染のモデルとしレタスに添加した 2 種の細菌 (*E. coli* O157:H7 及び *Salmonella* Typhimurium) を同時に回収し、マイクロ流路デバイスを用いて定量を行った。2 種類の磁気ビーズを用いて IMS を行うことでレタス中の *E. coli* O157:H7 及び *Salmonella* Typhimurium を効率よく回収でき、約 $10^2 \sim 10^5$ cells/g の範囲でマイクロ流路デバイスを用いて精度良く定量できた。また、レタスに添加した *E. coli* O157:H7 を約 10^1 cells/g までマイクロ流路デバイスを用いて検出可能であることから、マイクロ流路デバイスを用いた方法はリアルタイム PCR 法や培養法と同等の検出感度を持つことが分かった。従って、マイクロ流路デバイスを用いた方法は従来の培養法やリアルタイム PCR 法にはない、オンサイトで測定を完結できるといった特長を持つ、新たな食中毒原因菌の検出方法として有用であることが示唆された。

V まとめ

本研究では、オンサイトで細菌を検出可能なマイクロ流路デバイスに着目し、食中毒原因菌のスクリーニング法として適応可能な、新しい迅速オンサイトモニタリング方法を構築することに成功した。この方法は国内のみならず、機器が十分には整備されていない途上国等においても実施可能な方法であるため、食品の微生物学的衛生管理を通して世界中の食の安全の確保に貢献できるものと期待される。

謝 辞

本研究について、終始御懇篤なる御指導、御鞭撻を賜りました、大阪健康安全基盤研究所 食品化学課長兼、大阪大学大学院 薬学研究科 招へい教授 山口進康先生に甚大なる謝意を表します。本研究に御協力、御助言を頂きました大阪健康安全基盤研究所 細菌課 余野木伸哉博士と若林友騎博士に深謝いたします。微生物計数ソフトの開発にご協力頂いた地方独立行政法人 大阪産業技術研究所 齋藤守博士に心より御礼申し上げます。学位論文をまとめるにあたり、貴重なご指導、ご鞭撻を賜りました大阪大学大学院 薬学研究科

教授 井上豪先生、及び 教授 中川晋作先生に心より御礼申し上げます。本研究を遂行するにあたり御協力を頂きました大阪健康安全基盤研究所食品安全課及び食品化学課の皆様には感謝いたします。

(本稿は、著者が大阪大学において令和7年3月25日に博士(薬学)の学位を授与された際の論文の概要であり、その詳細は以下に掲載されている。)

- 1) Tokunaga Y, Yamaguchi N. Rapid quantification of *Escherichia coli* O157:H7 in lettuce and beef using an on-chip staining microfluidic device. *J Food Saf.* 2020; **40**(6): e12851.
- 2) Tokunaga Y, Wakabayashi Y, Yonogi S, Saito M, Yamaguchi N. Microfluidic rapid quantification of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium collected from chicken meat using immunomagnetic separation after formaldehyde treatment. *Int J Food Sci Technol.* 2021; **56**(10): 5402-5408.
- 3) Tokunaga Y, Wakabayashi Y, Yonogi S, Yamaguchi N. Rapid quantification of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* Typhimurium in lettuce using immunomagnetic separation and a microfluidic system. *Biol Pharm Bull.* 2024; **47**(11): 1931-1936.

編集委員

大嶋智子
○清水悠路
中村暁彦
平井佑治
松田大樹
三山豪士
宮本伊織
村上太郎
山崎一夫
(○編集委員長)

査読者

栗津薫
荻原拓幸
尾崎麻子
柿本健作
川津健太郎
紀雅美
新矢将尚
野村千枝
原田哲也
福井直樹
松井哲史
本村和嗣

地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所

研究年報 第9号 令和7年度

ISSN 2758-4593

(無断転載禁止)

令和8年3月

編集・発行 地方独立行政法人 大阪健康安全基盤研究所

大阪市東成区中道1丁目3番3号

電話 06-6972-1321