

B 調 査 研 究

I 研 究 成 果

宮城県内における *Escherichia albertii* の侵淫状況調査

Characterization of *Escherichia albertii* isolated from food and environmental water in Miyagi Prefecture

山谷 聡子 椎名 麻衣*¹ 矢崎 知子
山口 友美*² 佐藤 千鶴子*³ 山木 紀彦
Satoko YAMAYA, Mai SHIINA, Tomoko YAZAKI
Yumi YAMAGUCHI, Chizuko SATO, Norihiko YAMAKI

県内における *Escherichia albertii* (以下「*E.albertii*」という。)の侵淫状況を把握するため、令和 4 年 4 月から令和 5 年 8 月まで、食品、河川の河口付近の干潟より採取した海水・海泥、及び下水流入水から *E.albertii* の検出を行ったところ、17 株の *E.albertii* が分離された。内訳は、かきの 4 検体から 9 株、鶏肉 1 検体から 1 株、海水 3 検体から 3 株、海泥 3 検体から 3 株、下水 1 検体から 1 株であった。17 株の生化学的性状を確認したところ生物型 3 が最も多く 15 株であり、生物型 1 が 1 株、生物型 2 が 1 株であった。O 抗原遺伝子型別を実施したところ、かき由来株は EAOg18、EAOg 21、EAOgUT、鶏肉由来株は EAOg4、海水由来株は EAOg7、EAOgUT、海泥由来株は EAOg23、EAOgUT、下水由来株は EAOg9 であった。薬剤感受性試験では、鶏肉由来株が ABPC、TC、KM の 3 剤に耐性を示した。また、PFGE 法による遺伝子解析の結果、分離株の泳動パターンが多様であったことから、県内には様々な遺伝子型の *E.albertii* が生息していると考えられた。分離株の中には過去の食中毒事件で分離された株と同じ O 抗原遺伝子型を持つ株もあり、県内でも *E.albertii* が食中毒の原因菌となる可能性があることが示唆された。

キーワード : *Escherichia albertii* ; 食品 ; O 抗原遺伝子型

Key words : *Escherichia albertii* ; food ; O antigen genotype

1 はじめに

Escherichia albertii (以下「*E.albertii*」という。)は大腸菌の近縁菌種として、2003 年に登録された¹⁾新興下痢症原因菌の一つである。日本国内においては 100 人を超える大規模食中毒事例も報告されている²⁾。本菌は、腸管病原性大腸菌 (enteropathogenic *E.coli* ; EPEC) 及び腸管出血性大腸菌 (enterohemorrhagic *E.coli* ; EHEC) の主要病原因子であるインチミン (*eae* 遺伝子にコードされる) を保有し²⁾、まれに EHEC がもつ志賀毒素遺伝子 (*stx*) を保有する場合がある³⁾。これまでにネコ、ブタ、ニワトリ、野鳥²⁾³⁾、アライグマ⁴⁾、環境水⁵⁾など様々な検体からの分離報告があるが、ヒトへの感染経路や保菌動物、汚染の可能性のある食品や病原性などについては不明な点も多く、更なる知見の集積が望まれている。

本県においては、これまで *E.albertii* を原因とした食中毒事例は報告されておらず、また本菌についての調査などは未実施であり、県内におけるその侵淫状況や分布については不明である。

そこで、*E.albertii* による食中毒事例発生リスクの把握の一助とするため、県内に潜在している *E.albertii* の把握を目的とし、県内における食品や環境検体などの検体を対象とした調査を実施したので報告する。

2 対象及び検査方法

2.1 対象

調査期間は令和 4 年 4 月から令和 5 年 8 月まで、調査対象は食品収去検査検体 (かき、漬物、生食用鮮魚介類、生食用冷凍鮮魚介類、鶏肉、豚肉、鴨肉) 430 件、県中部を流れる河川の河口付近の干潟に設定した調査定点より毎月 1 回採取した海水・海泥各 17 件及び宮城県内の都市部に所在する 2 か所の下水処理場で毎月 1 回採取した流入水 32 件とした。なお、対象とした食品は過去に全国で発生した食中毒事例の推定原因食品を参考とし、*E.albertii* 分離の報告がある鶏肉などの生肉も調査対象とした。

2.2 方法

2.2.1 分離培養

食品検体については、採取した検体にその 9 倍量の modified EC 培地 (mEC) を加え培養した。海水については、海水 500mL を孔径 0.45 μ m のセルロースアセテートメンブレンフィルターで吸引る過後、フィルターを mEC100mL で培養した。海泥については、20g を mEC180mL に加え培養した。下水流入水については、検体 100mL を 2 倍濃度のノボビオシン加 mEC 100mL で培養した。培養条件についてはいずれの検体も 42℃、22 $\pm$ 2 時間とした。培養後、増菌培養液からアルカリ熱抽出により DNA を抽出し、大岡らの方法による Nested

*1 現 環境生活部環境対策課

*2 現 仙南・仙塩広域水道事務所

*3 退職

PCR 法⁶⁾の 1stPCR に供試した。また、DHL 寒天培地と 1%キシロース・1%ラムノース・1%メリビオース添加マッコンキー寒天培地 (XRM-MAC)⁷⁾に画線し、36℃で 18~24 時間培養した。ただし、海水、海泥、下水流入水については、PCR 陽性検体のみ分離平板培地に画線し培養を行った。一部の食品検体 (漬物、生食用鮮魚介類、生食用冷凍鮮魚介類) については増菌培養液の PCR を実施せず、分離平板培地への画線培養のみを行った。いずれの場合においても、DHL 及び XRM-MAC に発育した無色透明のコロニーを *E.albertii* 疑い株とした。

2.2.2 菌株の同定

E.albertii 疑い株については、コロニーPCR (前述の大岡らの方法による Nested PCR 法の 1stPCR) に供試した。PCR 陽性となった菌株については、TSI 寒天培地、LIM 培地、1%キシロース加アンドレイドペプトン水に接種し生化学的性状の確認を行った。また、保有病原因子 (*aeae*, *stx1*, *stx2*, *stx2f*) については既報に従って確認したほか (表 1)、Hyma らのマルチプレックス PCR (*clpX*, *lysP*, *mdh*)⁸⁾及び Ooka らの方法による O 抗原遺伝子型別⁹⁾を実施した。ただし、*clpX*の PCR については配列の訂正されたプライマーを使用した¹⁰⁾。また、同一検体より複数の株が分離された場合は、プライマー 1283 (5'-GCG ATC CCC A-3') を用いた random amplified polymorphic DNA(RAPD) PCR¹¹⁾により、菌株の選別を行った。

2.2.3 薬剤感受性スクリーニング試験

E.albertii と同定した株について、平成 30 年度厚生労

働科学研究「食品由来薬剤耐性菌のサーベランスのための研究」のプロトコールに従い、薬剤感受性スクリーニング試験を行った。試験には、アンピシリン (ABPC)、セフォキシチン (CFX)、セフォタキシム (CTX)、セフトジジム (CAZ)、イミペネム (IPM)、メロペネム (MEPM)、ナリジクス酸 (NA)、ノルフロキサシン (NFLX)、シプロフロキサシン (CPFX)、ゲンタマイシン (GM)、カナマイシン (KM)、アミカシン (AMK)、ストレプトマイシン (SM)、テトラサイクリン (TC)、クロラムフェニコール (CP)、ST 合剤 (ST)、ホスホマイシン (FOM) の 17 種類の感受性ディスク (市販) を使用し、培養後の発育阻止円直径を計測するディスク拡散法により感受性の有無を確認した。

2.2.4 菌株の遺伝子解析

制限酵素 *Xba* I を用いたパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法を実施した。CHEF MAPPER (BIO RAD) を用い、パルスタイム 2.2~54.2 秒、電圧 6.0V/cm、泳動時間 17 時間の条件で行った。データ解析は BIONUMERICS Ver8.0 (Applied Maths) を使用し、解析は Dice 法 (最適化 0.5%、トレランス 0.5%)、系統樹作成は平均距離法 (UPGMA) により行った。

3 結 果

3.1 *E.albertii* の検出状況

調査対象とした食品 430 件のうち 208 件の増菌培養液について PCR を行ったところ、5 件が PCR 陽性となり 5 件全てから *E.albertii* を分離した (表 2)。PCR 陽性とな

表 1 保有病原因子確認用プライマー

Target	Name	Sequence (5'-3')	Size (bp)	参考文献
<i>aeae</i>	mSK1	CCGGCACAAGCATAAGC	310	Moriya, et al., J Jpn Assoc Infect Dis, 74, 134-142 (2000) (食品衛生検査指針微生物編 2018 掲載)
	eaekas_a	TGGCAAAAATGATCTGCTG		
<i>stx2f</i>	128-1	AGATTGGGCGTCATTCCTGTTG	428	Schmidt H et al., Applied and Environmental Microbiology, p. 1205-1208 Vol. 66, No. 3 (2000)
	128-2	TACTTTAATGGCCGCCCTGTCTCC		
<i>stx</i>	EVC-1&2	Takara プライマーセット	171	タカラバイオ株式会社

表 2 各検体からの *E.albertii* 検出結果

検体	検体数	PCR陽性数 (陽性数/検体数%)	菌株分離検体数 (分離検体数/検体数%)	分離菌株数
食品・	かき	196	4 (2.0)	9
	漬物	80	— *	0
海産物	生食用 鮮魚介類	140	— *	0
	生食用 冷凍鮮魚介類	2	— *	0
生肉	鶏肉	5	1 (20.0)	1
	豚肉	5	0	0
	鴨肉	2	0	0
海水	17	4 (23.5)	3 (17.6)	3
海泥	17	5 (29.4)	3 (17.6)	3
下水	32	30 (93.8)	1 (3.1)	1

* PCR未実施

った食品別の内訳は、かきが4件（PCR陽性率2.0%、菌分離率2.0%）、鶏肉が1件（PCR陽性率は20.0%、菌分離率20.0%）であった。豚肉と鴨肉は全検体がPCR陰性、菌分離陰性であった。また、増菌培養液のPCR未実施である漬物、生食用鮮魚介類、生食用冷凍鮮魚介類については平板培地からの菌分離は全て陰性であった。

海水のPCR陽性率は23.5%（4件/17件）、菌分離率は17.6%（3件/17件）、海泥のPCR陽性率は29.4%（5件/17件）、菌分離率は17.6%（3件/17件）であった。

下水流入水のPCR陽性率は、93.8%（30件/32件）、菌分離率3.1%（1件/32件）であった。

3.2 分離株の生化学的性状、保有病原因子及びO抗原遺伝子型

分離した菌株について、生化学的性状試験を行ったところ、全ての株で*E.albertii*として典型的な性状である運動性陰性を示した。このうち15株がリジン脱炭酸試験陽性、インドール反応陽性の生物型3¹²⁾、1株がインドール反応陰性の生物型1、1株がリジン脱炭酸試験陰性の生物型2に分類¹³⁾された。糖の分解性については、本調査ではDHLとXRM-MAC培地上で糖非分解の無色透明のコロニーをターゲットにしているため、全ての株で共通の性状、すなわち乳糖、白糖、キシロース分解陰性を示していた。

病原因子については、全ての株で*eae*陽性、*clpX*、*lysP*、*mdh*陽性であった。*E.albertii*が保有すると報告のある*stx2f*を含む*stx*は全ての株で陰性であった。

O抗原遺伝子型別を実施したところ、かき由来株はEAOg18（1株）、EAOg21（1株）、EAOgUT（7株）、鶏肉由来株はEAOg4（1株）、海水由来株はEAOg7（1株）、EAOgUT（2株）、海泥由来株はEAOg23（1株）、

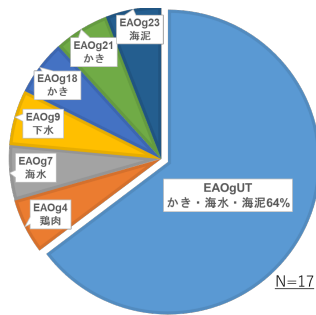


図1 分離株のO抗原遺伝子型

EAOgUT（2株）、下水由来株はEAOg9（1株）に型別された（図1）。

かき検体では、*E.albertii*が分離された4件中3件において、同一検体から生化学的性状又はO抗原遺伝子型の異なる複数の菌株が分離された。かき以外の検体では、それぞれ1検体から1種類の株のみ分離された（表3）。

3.3 薬剤感受性スクリーニング試験結果

薬剤感受性試験では、鶏肉由来株1株がABPC、TC、KMの3剤に耐性を示した。その他の分離株は全ての薬剤に感性を示した（表3）。

3.4 菌株の遺伝子型解析

PFGEによる遺伝子型解析では、同日に採取した海水由来株と海泥由来株のバンドパターンが全て一致し相同性100%であった。その他の株は異なる泳動パターンを示し相同性80%以上の株は認められなかった（図2）。

4 考察

本調査において、県内の様々な検体より17株の*E.albertii*が検出された。菌が分離された検体の内訳は、かき4検体、鶏肉1検体、海水3検体、海泥3検体、下水処理場で採取した流入水1検体であった。

表3 分離株の生化学的性状、他

菌株 No.	検体	TSI		LIM		糖分解		病原因子		生物型	EAOg 型	耐性薬剤
		乳糖・ 白糖	ブドウ 糖	硫化 水素	リジン	イン ドール	運動性	キシ ロース	<i>eae</i>	<i>stx</i>		
No.1	かき	—	+	—	+	+	—	—	+	—	3	UT
No.2		—	+	—	+	+	—	—	+	—	3	21
No.3		—	+	—	+	+	—	—	+	—	3	UT
No.4	かき	—	+	—	+	+	—	—	+	—	3	18
No.5		—	+	—	+	+	—	—	+	—	3	UT
No.6	かき	—	+	—	+	+	—	—	+	—	3	UT
No.7	かき	—	+	—	+	—	—	—	+	—	1	UT
No.8		—	+	—	—	+	—	—	+	—	2	UT
No.9		—	+	—	+	+	—	—	+	—	3	UT
No.10	鶏肉	—	+	—	+	+	—	—	+	—	3	4 ABPC、TC、KM
No.11	海水	—	+	—	+	+	—	—	+	—	3	UT
No.12	海水	—	+	—	+	+	—	—	+	—	3	UT
No.13	海水	—	+	—	+	+	—	—	+	—	3	7
No.14	海泥	—	+	—	+	+	—	—	+	—	3	23
No.15	海泥	—	+	—	+	+	—	—	+	—	3	UT
No.16	海泥	—	+	—	+	+	—	—	+	—	3	UT
No.17	下水	—	+	—	+	+	—	—	+	—	3	9

同一検体より分離

同一検体より分離

同一検体より分離

同日同地点で採取

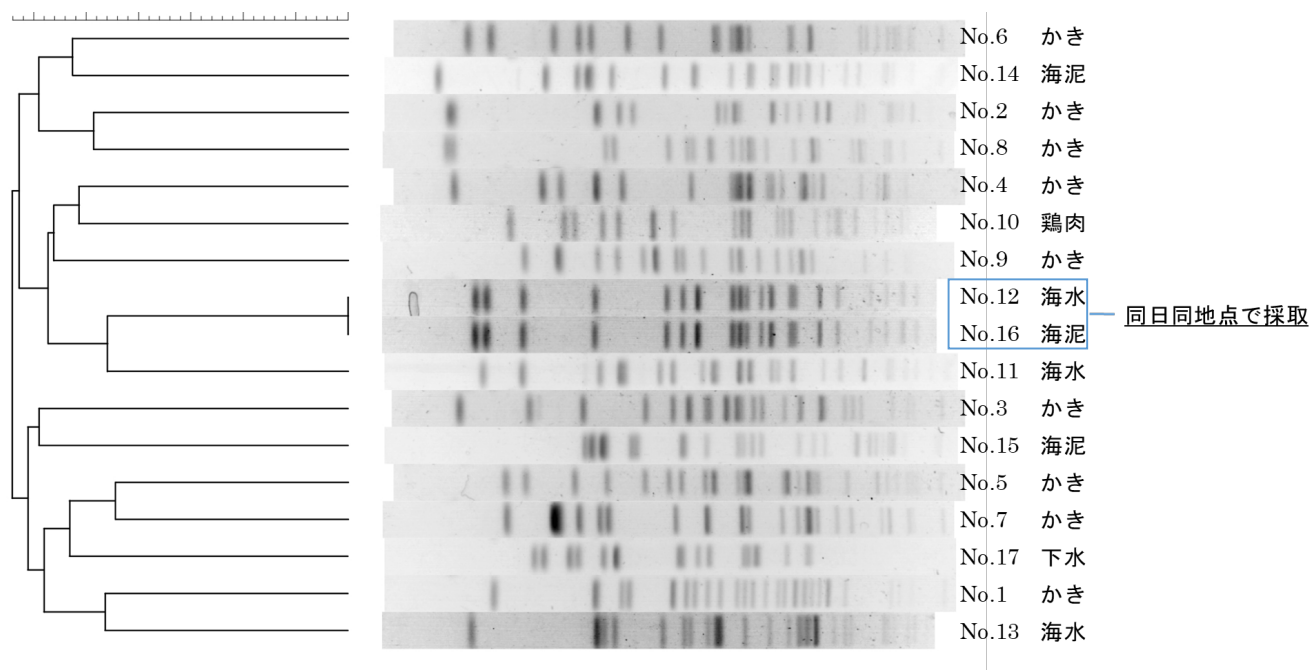


図2 分離株のPFGE解析結果

県内流通食品のうち、今回菌が分離された検体は過去に分離報告のある鶏肉¹⁴⁾とかき¹⁵⁾のみであり、その他の食品からは検出されなかった。すなわち、現在のところ、通常の衛生管理のもと製造加工された県内流通の漬物、生食用鮮魚介類、生食用冷凍鮮魚介類については*E. albertii*の侵淫が確認されない結果であった。鶏肉から検出された要因としては、鶏内臓肉からの分離報告¹⁶⁾もあることから、加工処理工程で汚染された可能性も考えられた。かきからの菌分離については、今回の調査では分離率が2.0%であり、既報¹⁵⁾の1.9%と同程度であった。他の調査では、河川水などの環境水からの分離報告¹⁷⁾¹⁸⁾も散見されることから、かきからの菌分離はその生育環境が関係していると示唆された。今回の我々の調査では本菌によるかきの汚染菌数については計測を行っていないが、新井らの報告¹⁵⁾によると、本菌が分離されたかきの汚染菌数は検出限界以下(<3MPN/10g)であり、取り扱いの際は通常の食中毒予防対策と同様に加熱調理などが重要であると示されている。

過去の食中毒事例では湧水や井戸水が原因と推定されるものもあり¹⁹⁾、水系感染と*E. albertii*が密接に関係していると推測される。今回の調査でも、海水・海泥から菌が分離されており、*E. albertii*の生育に適した環境が水系であることを裏付ける結果となった。また、PFGEによる遺伝子型別の結果より、別日に採取した海水・海泥からの分離株が異なる遺伝子型であったことから、採取地点に同一の菌株が定着しているわけではなく、多種多様な*E. albertii*が存在している可能性が示唆された。

下水からの菌分離についてはPCR陽性率が93.8%と高い確率であるにも関わらず菌分離率は3.1%と低い結果であった。分離平板培地では、多数の夾雑菌と*E. albertii*類似の無色透明コロニーの生育が認められて

いたことから、目的とする*E. albertii*のコロニーが十分に発育出来なかったこと、培地上でコロニーの鑑別が困難であったことなどが分離率の低さの要因として考えられた。さらに、PCR法では死菌の遺伝子を検出したために陽性となっていた可能性も考えられた。今後、本菌を選択的に増菌できる培地の使用や選択的に分離培養可能な培地の開発など、培養法について検討が必要であると思われる。また、下水から本菌が分離されたことは、宮城県内に保菌者や潜在的な患者がいる可能性を示唆する他、広く環境中に本菌が存在していることが示された。

O抗原遺伝子型別では、分離株の約60%はEAOG1~40に型別されないEAOUT株であった。これらの株は、本調査で型別したEAOG1~40以外の新しい型に型別される可能性がある。型別が可能であった40%の分離株の中には、他県の食中毒事例の原因菌として分離された株と同じO抗原遺伝子型であるEAOG9、18²⁰⁾を持つ株も確認されており、本県でも本菌が原因となる食中毒事例が起こる可能性が示唆された。また、病原因子などの確認では、今回の調査で分離された菌株は全て病原遺伝子*eae*を保有していた。*eae*は*E. albertii*の主要な病原因子の一つであり、ヒトへの病原性を有する株が県内にも存在することが示された。*stx*を保有する株は確認されなかったが今後、本菌を原因とする食中毒事例の発生に注意を払う必要がある。

薬剤感受性試験では、鶏肉由来株が3剤耐性を示した。このうちTCは動物用として多く使用されている抗菌剤であり、鶏肉が保菌していた*E. albertii*がTC耐性を獲得しやすい環境にあった可能性も否定できない²¹⁾。今回の調査では県内分離*E. albertii*株の薬剤耐性率は6%(1/17株)となったが、多剤耐性化した*E. albertii*の報告も散見されるため、今後は薬剤耐性菌の拡散にも注

意しなければならない。

全分離株を PFGE 法により遺伝子型別した結果では、同日に採取した海水由来株と海泥由来株が同じバンドパターンを示し相同性が認められたが、その他に一致する株は無く、多様なバンドパターンを示した。このことから、県内には様々な遺伝子型の *E.albertii* が生息していることが明らかとなった。また、同一検体から複数の株が分離されたかき由来株 9 株については、バンドパターンは一致せず、遺伝子型が異なる株であった。すなわち、食品検体が複数の *E.albertii* に汚染されている可能性も十分にあり得ることが示された。

今回の調査結果において県内の食品、海水、海泥、下水流入水から本菌が分離され、県内には様々な汚染源が存在し、広い範囲に *E.albertii* が存在することが明らかとなった。これら分離株は異なる遺伝子型であることが確認できたことから、県内では特定の株の蔓延は認められず、遺伝子型の多彩な *E.albertii* が生息していると考えられる。

さらに、全ての分離株は病原遺伝子 *eae* を持ち、他県の食中毒事例株と同じ血清型を持つ株も分離されたことより、県内でも本菌を原因とする食中毒事例が発生する可能性があるとする唆される。今回の調査で分離した生息域の異なる株について、株同士の関連性は明らかにならなかったが、今後は食品、環境由来株とヒト由来株との比較、汚染食品、保菌動物の調査、ヒトへの感染経路の解明など、更なる知見の集積を重ねる必要があると考える。

謝 辞

本研究を行うにあたり、検体採取に協力いただいた各保健所職員の方々、下水流入水の採取にご協力いただいた中南部下水道事務所、株式会社みずむすびサービスみやぎ及び *E.albertii* 検出に関しご指導いただきました星薬科大学工藤由起子先生ほか、関係各位に深謝いたします。

参考文献

- 1) Huys G et al. : Int.J. Syst. Evol. Microbiol. 53, 807-810(2003)
- 2) 大岡唯祐 : 日本食品微生物学会雑誌、34(3)、151-157 (2017)
- 3) 村上光一ら : 病原微生物検出情報、37、98-100 (2016).
- 4) A.Hinenoya et al. : Emerg.Infect.Dis.26,1304-1307(2020)
- 5) 高橋志保ら : 日本食品微生物学会雑誌 37(2)、81-86(2020)
- 6) T.Ooka et al. : Genome Biol.Evol, 7, 3170-3179 (2015)
- 7) A.Hinenoya et al. : Diagn Microbiol Infect Dis. 97, 115006. (2020)
- 8) Hyma K.E. et al. : J.Bacteriol. , 187 , 619-628(2005).
- 9) T.Ooka et al. : Microb. Genom., 5, article 000314 (2019)
- 10) Oaks J. L. et al. : Emerg. Infect. Dis.16, 638-646(2010)
- 11) Nielsen K.L. et al. : J. Microbiol. Methods, 103, 101-103 (2014)
- 12) K.Murakami et al. : Front. Microbiol.10 article 1543(2019)
- 13) Nataro J et al. ; *Escherichia, Shigella, and Salmonella*, p.670-687, In Murray P et al.,(ed), Manual of clinical microbiology, 9th edition, ASM Press, Washington, DC, (2007)
- 14) Wang H. et al. : Epidemiol.Infect.144 , 45-52(2016)
- 15) S.Arai et al. : J. Food Prot., 85、173-179 (2022)
- 16) S.Arai et al. : Foodborne Pathog. Dis.19、823-829 (2022).
- 17) 高橋志保ら : 食品微生物学会雑誌、37、81-86 (2020)
- 18) T.Konno et al. : Jpn. J. Infect. Dis.74 , 381-384(2021)
- 19) 村上光一ら : モダンメディア、66、101-110 (2020)
- 20) 樫尾拓子ら : 日本食品微生物学会 雑誌、37、183-187 (2020)
- 21) 佐藤千鶴子ら : 宮城県保健環境センター年報 38、35-37 (2020)

令和 5 年に宮城県で発生した 3 類感染症と 保育施設における腸管出血性大腸菌 O26 の集団感染事例

Cases Category III Infectious Diseases in Miyagi Prefecture and *Enterohemorrhagic Escherichia coli* O26 Outbreak related to Childcare Facilities, 2023

工藤 剛 山谷 聡子 木村 葉子 矢崎 知子 山口 友美*1 山木 紀彦
Takashi KUDO, Satoko YAMAYA, Yoko KIMURA
Tomoko YAZAKI, Yumi YAMAGUCHI, Norihiko YAMAKI

令和 5 年に県内で発生した 3 類感染症は、腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症 55 人及び細菌性赤痢 1 人であった。EHEC55 名由来株の O 血清群は、O26 が 22 株、O157 が 18 株、その他が 15 株であった。O26VT1 の 13 人由来 13 株は 1 保育施設に関連していた。そのうち 12 株は MLVA 型が一致し、残りの 1 株は 2 遺伝子座のリピート数が異なっていたが、疫学調査および PFGE の結果から 13 人は同一クローン由来株による集団感染と推察された。

キーワード：3 類感染症；腸管出血性大腸菌；集団発生；保育施設

Key words: Category III Infectious Diseases; EHEC; Outbreak; Childcare Facilities

1 はじめに

感染症法における 3 類感染症は、特定の職業への就業により集団感染を起こしうる疾患として、EHEC 感染症、コレラ、細菌性赤痢、腸チフス及びパラチフスが規定され、診断した医師は直ちに保健所へ届け出る全数把握疾患である。届出を受けた保健所は積極的疫学調査を開始し、当センターは提供された菌株及び採取された検体について検査を実施している。

この報告では、令和 5 年に県内（仙台市を除く）の保健所へ届出のあった 3 類感染症における当センターの検査成績を取り纏め、あわせて 1 保育施設の EHEC O26 集団感染事例について述べる。

2 材料及び方法

2.1 材 料

令和 5 年に県内の 5 保健所 4 支所に届出のあった 3 類感染症 37 人から得られた 37 菌株及び疫学調査により採取された接触者検便 229 検体を材料とした。

2.2 方 法

菌株及び便は常法に従い菌分離、菌種同定、血清型及び毒素型の検査を実施した。

EHEC O157 と O26 の菌株は、「腸管出血性大腸菌 MLVA ハンドブック（O157、O26、O111 編）第 1 版 地方衛生研究所全国協議会 保健情報疫学部会マニュアル作成ワーキンググループ編」に準じて遺伝子型別を行った。サーマルサイクラーは SimpliAmp（applied biosystems）、フラグメント解析を行うシークエンサー

は SeqStudio（applied biosystems）を用いた。

保育施設の EHEC O26 集団感染事例では、制限酵素 *Xba* I を用いた PFGE 法を実施した。CHEF MAPPER（BIO RAD）を用い、パルスタイム 2.2～54.2 秒、電圧 6.0V/cm、泳動時間 17 時間の条件で行った。

3 結 果

3.1 3類感染症の検査成績

EHEC 感染症 36 人（下痢などで医療機関受診 17 人、食品関連事業者などの定期検便 18 人、食中毒関連調査 1 人）及び細菌性赤痢 1 人（同定期検便）の届出があった。接触者検便で EHEC が 19 人から分離され、EHEC 感染者数は合計で 55 人となった。細菌性赤痢 1 人は国外感染例と推定され、分離株は *Shigella flexneri* 2a であった。

EHEC55 名の菌株の O 血清群は、O26 が 22 株、O157 が 18 株、その他が 15 株であった（表 1）。

表 1. EHEC の血清型・毒素型（n=55）

O	H	毒素型	届出数	患者	無症状 病原体保有者
O26	H11	VT1	20	11	9
	HNMM	VT1	1	0	1
	H11	VT2	1	1	0
O157	H7	VT1, 2	9	5	4
	H7	VT2	9	8	1
O8	H19	VT1・VT2	1	0	1
	H19	VT2	2	1	1
O148	H18	VT2	2	0	2
O91	HNMM	VT1	1	0	1
O145	HUT	VT2	1	0	1
OUT		VT1 or 2	8	0	8

*1 現 仙南・仙塩広域水道事務所

O157のMLVA型は、22m0027が6株、23m0106が3株、23m0161が3株、その他が6株であった。

O26のMLVA型は、23m2076が12株、23m2025が3株、16m2155が2株、その他が5株であった（表2）。

表 2. O157・O26 の MLVA 型 (n=40)

O157			O26		
MLVA型	株数	疫学調査	MLVA型	株数	疫学調査
22m0027	6	家庭内	23m2076	12	集団感染
23m0161	3	散発	23m2025	3	家庭内
23m0106	3	家庭内・散発	16m2155	2	家庭内
23m0520	1	散発	23m2078	1	集団感染
23m0303	1	散発	23m2077	1	散発
23m0133	1	散発	21m2091	1	散発
23m0077	1	食中毒	15m2199	1	散発
23m0023	1	散発	15m2097	1	散発
22m0480	1	散発			
合計	18		合計	22	

3.2 保育施設のEHEC集団感染事例成績

10月11日に医療機関からA保健所へEHEC O26（VT1）感染症の届出があった。患者は成人女性で、10月3日より腹痛及び下痢を呈していた。10月13日に患者家族3人（夫及び子供2人）の検便を実施し、子供2人から同菌が検出された。その1人は保育施設（園児89人）を利用していたため、同施設の他の園児全ての検便検査を実施した。園児8人から同菌が分離され、その6家族17人についても検便を実施し、1家族2人から同菌が分離された。初発の患者とその家族を含め、合計で13人のEHEC O26（VT1）感染症が発生した。園児4人と家族1人は無症状病原体保有者であった。

13人由来株のMLVA型は、23m2076が12株、2遺伝子座（EH26-7及びO157-37）の異なる23m20781が1株で、PFGEでは13株全てがバンド3本以内の違いであった。

なお、13株を他の散発事例や家庭内感染由来株と比較すると、MLVA法で4遺伝子座以上が、PFGE法でバンド4本以上が異なっていた（表3、図1）。

当該保育施設では、EHEC感染者5人を含む園児18人が、9月1日から10月15日にかけて下痢等を呈していた。

表 3. O26MLVA 型の各遺伝子座のリポート数

遺伝子座*	集団感染		散発	家庭内
	23m2076 (n=12)	23m2078 (n=1)	23m2077 (n=1)	23m2025 (n=3)
EH26-7	3	4	3	3
EHC-1	14	14	12	6
EHC-2	13	13	15	15
EHC-5	-2	-2	12	-2
EHC-6	8	8	18	12
O157-9	8	8	9	8
O157-37	6	7	18	2

* リポート数の異なる遺伝子座のみ記載

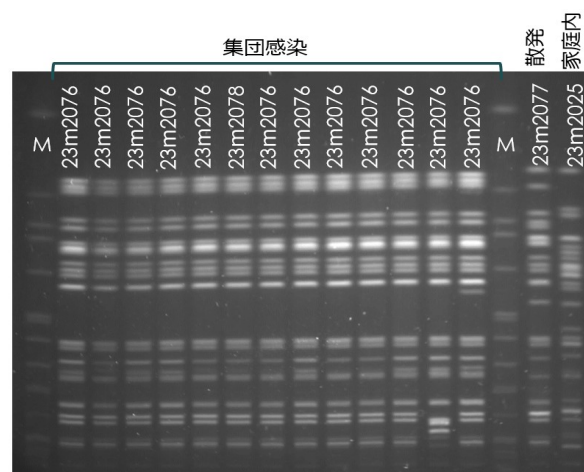


図 1. O26 の PFGE パターン

4 考 察

令和 5 年に県内で発生した 3 類感染症は、EHEC 感染症 55 人と細菌性赤痢 1 人であった。EHEC18 人と細菌性赤痢 1 人は定期検便で検出され、特定の職業へ就業する従事者の検便の重要性が示唆された。

1 保育施設で 13 人の EHEC O26（VT1）感染症が発生した。1 株は他の 12 株とリポート数が異なっていたが、PFGE 及び疫学調査結果から、13 人は同一クローン由来株による集団感染と推察された。

13 人のうち園児 4 人は無症状で、発症した園児 5 人中 4 人は発症から便採取日まで 22 日以上（最大 48 日）経過していた。このことから、無症状病原体保有者の存在及び感染者の長期間の排菌が集団感染の一因と思われた。

感染経路として、9 月から 10 月にかけて下痢などを呈する園児が 18 人確認されたことから、保育施設又は家庭において接触感染が持続的に起きていたと思われた。

EHEC の感染予防及び蔓延防止として、正しい手洗いの励行などが重要である。保健所による感染症対策の指導の結果、当該保育施設内で新たな発生は見られず終息した。

参考文献

- 1) Kanayama *et al.* : BMC Infectious Diseases, 15 : 539 (2015)
- 2) Izumiya *et al.* : Microbiol Immunol, 54, 569-577 (2010)
- 3) Tourdjman *et al.* : J Pediatric Infect Dis Soc, 1, 329-32 (2012)

宮城県で過去 5 シーズンに検出された ノロウイルスの遺伝子型について

Report on Norovirus genotypes detected in infectious gastroenteritis outbreak in Miyagi prefecture between September 2018 and August 2023

茂庭 光*¹ 沖田 若菜 大槻 りつ子*² 坂上 亜希恵
鈴木 優子 佐々木 美江 山木 紀彦

Hikari MONIWA, Wakana OKITA, Ritsuko OTSUKI, Akie SAKAGAMI,
Yuko SUZUKI, Mie SASAKI, Norihiko YAMAKI

県内のノロウイルス（以下「NoV」という。）の動向を把握する目的で調査を実施した。平成 30 年 9 月から令和 5 年 8 月に県内で発生した胃腸炎のうち、当センターで NoV を検出した事例は 178 事例で NoVGⅡ群による胃腸炎の発生が全体の 99.5%（177 事例/178 事例）を占めていた。そのうち、集団発生事例 132 事例の遺伝子型を解析したところ、検出された NoV 遺伝子型は GⅡ.2（25.0%）、GⅡ.4（62.1%）で、この 2 種の遺伝子型が約 9 割を占めていた。シーズン別にみると、2021/22 シーズン以前は GⅡ.2、2021/22 シーズンからは GⅡ.4 の検出割合が多く、更に GⅡ.4 は 2021/22 シーズン前後で GⅡ.4[P31]から GⅡ.4[P16]へ移行していたことから、2021/22 シーズン以降の胃腸炎の流行には GⅡ.4 [P16] が関与していることが考えられた。今後も NoV 遺伝子型の解析を継続して流行状況を把握していく必要がある。

キーワード：ノロウイルス；感染性胃腸炎；遺伝子型

key words : Norovirus ; gastroenteritis ; genotype

1 はじめに

2016/17シーズンにノロウイルス（以下「NoV」という。）による感染性胃腸炎が県内で流行¹⁾し、当センターは原因究明のため感染性胃腸炎から検出されたNoV遺伝子型の解析を実施し、GⅡ.2が流行に関与していたことを報告した¹⁾。今回は県内のNoVの動向を把握するため、2018年9月から2023年8月の5シーズンのNoVによる胃腸炎の発生状況の把握と遺伝子型解析を実施したので報告する。

2 対象および方法

2.1 NoVによる胃腸炎の発生状況

2018年9月から2023年8月に仙台市を除く宮城県内で発生した胃腸炎のうち、当センターでNoVを検出した178事例を対象として発生状況を集計した。9月から翌年8月までを1シーズンとした。

2.2 NoV遺伝子型の解析

過去5シーズンの発生状況から事例数の多いNoVGⅡ群による集団感染事例132事例を対象とした。また、遺伝子型の解析は1事例につき1検体について実施した。

ノロウイルスGⅠ/GⅡ抽出キット（1液タイプ）ver.2（TaKaRa）でNoVGⅡ陽性と判定された検体について、RdRp領域の一部を増幅領域とするMON-431/G2-SKR

プライマー²⁾を用いてPCR反応を実施した。目的とするPCR増幅産物を確認した後、Microspin S-300HRカラム（Cytiva）で精製後、BigDye® Terminator v1.1 Cycle sequencing Kit（Applied Biosystems）を用いてシーケンス用PCRを行ってダイレクトシーケンスを実施し、塩基配列を決定した。

遺伝子型別はNorovirus Genotyping Tool(<https://www.rivm.nl/mpf/norovirus/typingtool/norovirus/>)又はHuman Calicivirus typing tool(<https://calicivirustypingtool.cdc.gov/>)を使用した。

3 結果

3.1 NoVによる胃腸炎の発生状況

2018年9月から2023年8月の期間に、仙台市を除く県内で発生した胃腸炎のうちNoVを原因とした事例は、集団感染事例133事例、食中毒疑い事例16事例、散発事例29事例であった（表1）。集団感染事例の1事例はNoVGⅠ群による感染事例で、ほかの集団感染事例132事例と食中毒疑い事例及び散発事例の45事例は全てNoVGⅡ群を原因としており、NoVGⅡ群による胃腸炎の発生が99.5%（177事例/178事例）を占めていた。

*1 現 気仙沼保健福祉事務所

*2 現 仙台保健福祉事務所岩沼地域事務所

表1 NoVによる胃腸炎の発生状況

事例	2018/19	2019/20	2020/21	2021/22	2022/23	計
胃腸炎 集団感染	37	22	11	35	28	133
散発	7	22	0	0	0	29
食中毒疑い	4	4	4	3	1	16

3.2 NoV遺伝子型の解析

集団感染事例のVP1領域による遺伝子型別では、GⅡ.2、GⅡ.3、GⅡ.4、GⅡ.6、GⅡ.8、GⅡ.17の6種の遺伝子型が検出された。調査期間中の132事例のうちGⅡ.4が62.1%(82/132)、GⅡ.2が25.0%(33/132)と多く、この2つの遺伝子型が全体の8割以上を占めていた(図1)。

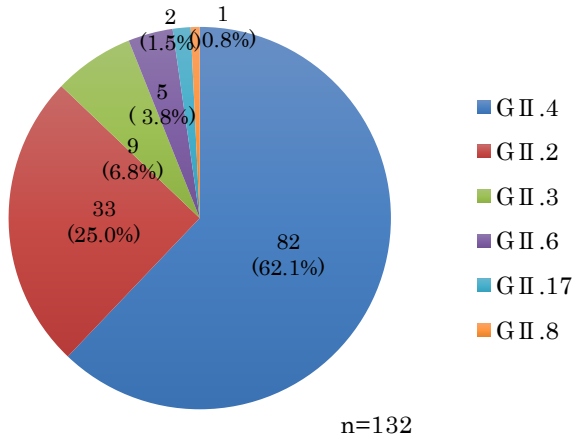


図1 NoV遺伝子型検出状況 (VP1領域)

シーズン別に検出された遺伝子型の比較では、2019/20シーズン、2020/21シーズンはGⅡ.2が検出された割合が高く、50%(11事例/22事例)、63.6%(7事例/11事例)であった。一方で、2021/22シーズン、2022/23シーズンはGⅡ.4が88.6%(31事例/35事例)、88.9%(24事例/27事例)とGⅡ.4が約9割を占めており、県内では2021/22シーズンを境にGⅡ.2からGⅡ.4にNoV遺伝子型が移行していたことが確認された(図2)。

RdRp/VP1領域による遺伝子型別では、GⅡ.2、GⅡ.3、GⅡ.6、GⅡ.8、GⅡ.17は、GⅡ.2 [P16]、GⅡ.3 [P12]、GⅡ.6 [P7]、GⅡ.8 [P8]、GⅡ.17 [P17] にそれぞれ分類され、GⅡ.4はGⅡ.4 [P16]、GⅡ.4 [P31] の2種の遺伝子型に分類された(表2)。

表2 シーズン別NoV遺伝子型別検出状況 (RdRp/VP1領域)

遺伝子型	2018/19	2019/20	2020/21	2021/22	2022/23	合計
GⅡ.2 [P16]	9	11	7	4	2	33
GⅡ.3 [P12]	9					9
GⅡ.4 [P16]	1			21	21	43
GⅡ.4 [P31]	14	8	4	10	3	39
GⅡ.6 [P7]	2	2			1	5
GⅡ.8 [P8]	1					1
GⅡ.17 [P17]	1	1				2
計	37	22	11	35	27	132

2種の遺伝子型が認められたGⅡ.4についてシーズン別に検出状況を比較すると、2018/19シーズンから2020/21シーズンまではGⅡ.4 [P31]、2021/22シーズン以降はGⅡ.4 [P16] の検出数が多く、2021/22シーズンから遺伝子型がGⅡ.4 [P31] からGⅡ.4 [P16] へ移行していた。(図3)。

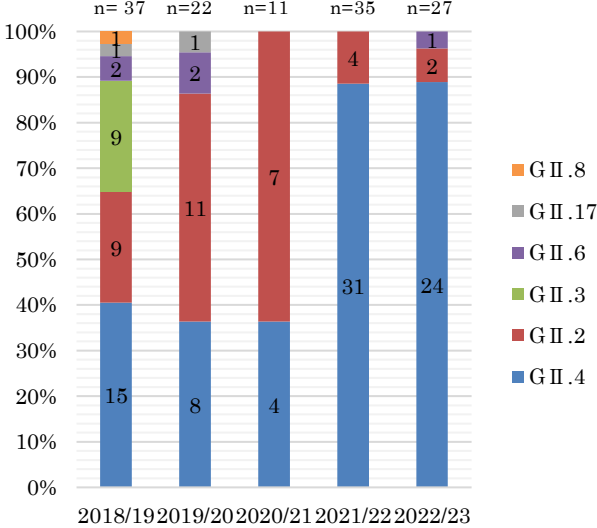


図2 シーズン別NoV遺伝子型の検出割合

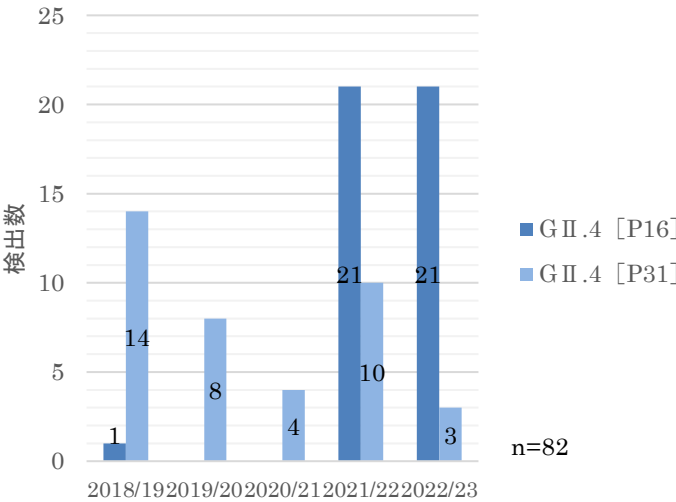


図3 シーズン別GⅡ.4検出状況

4 考察・まとめ

国内のNoVの胃腸炎は、2015/16シーズン以降、GⅡ.2とGⅡ.4を主流とした流行を繰り返している³⁾。本県の集団感染事例では2019/20シーズンからGⅡ.2を中心とした胃腸炎の流行がみられ、2021/22シーズンからはGⅡ.4による流行へと移行していた。更に県内で検出されたGⅡ.4は2021/22シーズン前はGⅡ.4 [P31]であったが、2021/22シーズンからはGⅡ.4 [P16]が優位に増えていることから、2021/22シーズン以降の胃腸炎の流行にはGⅡ.4 [P16]が関与していることが考えられた。

白井ら⁴⁾は2022年度の食中毒疑い事例からGⅡ.4 [P

16]を検出し、2021年度より急増していると報告した。
NoVGⅡ.4 [P16] が今後流行の主流となる可能性も考えられるため発生動向を注視し、今後も NoV 遺伝子型の解析を継続して流行状況を把握していく必要がある。

参考文献

- 1)小泉ら：宮城県保健環境センター年報 35, 36-39(2017)
- 2)Cannon JL et al. : J Clin Microbiol. 55(7) ; 2208-2221(2017)
- 3)国立感染症研究所：月別ノロウイルス GII 遺伝子型
検出報告数 2015/16-2022/23 シーズン(<https://www.niid.go.jp/niid/ja/norovirus-m/2082-idsc/iasr-noro/5701-iasr-noro-150529.html>)
- 4)白井ら：地方独立行政法人大阪健康安全基盤研究所研究年報 7, 52-61 (2023)

残留農薬検査における併行精度の変動要因

—GC-MS/MS による検討—

Factors Affecting the Variability of Repeatability in Pesticide Residue Testing -Examination by GC-MS/MS-

樋口 玲奈 千葉 美子 近藤 光恵*¹

Reina HIGUCHI, Yoshiko CHIBA, Mitsue KONDO

GC-MS/MSの更新及び全自動固相抽出装置が整備されたことに伴い、残留農薬検査の妥当性評価を実施したところ、これまでの評価実績と異なり、一部の作物で適合農薬数が添加濃度 0.01mg/kg の方が添加濃度 0.1mg/kg を上回る結果となった。この事例を精査したところ、添加濃度 0.1mg/kg における精度がガイドラインの目標値から逸脱している農薬が多かったことから、併行精度に着目し、5 回併行測定による添加回収試験を行い、その変動要因について検討を行った。その結果、GC-MS/MS のメンテナンスを含めたコンディションが変動要因となったと推察できる結果が得られた。

キーワード：残留農薬；併行精度；トリプル四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計；全自動固相抽出装置

Key words: Pesticide residue; Concurrent accuracy; GC-MS/MS;

Fully automated solid-phase extraction system

1 はじめに

当センターは、機器の導入や更新に伴い、検査対象品目について標準作業手順書（以下「SOP」という。）を作成するため、妥当性評価を実施している。

令和5年度は、トリプル四重極型ガスクロマトグラフ質量分析計（以下「GC-MS/MS」という。）にてキャベツ、りんご、ほうれんそう、ブルーベリー、スイートコーン、トマト、えだまめ及びぶどうの8つの作物で妥当性評価を行った。このうち5つの作物は添加濃度0.1mg/kgで妥当性ありと評価した農薬数が添加濃度0.01mg/kgで妥当性ありと評価した農薬数を上回っていた。一方、ほうれんそうは添加濃度0.01mg/kgで160農薬、添加濃度0.1mg/kgで149農薬、スイートコーンは添加濃度0.01mg/kgで221農薬、添加濃度0.1mg/kgで184農薬、トマトは添加濃度0.01mg/kgで226農薬、添加濃度0.1mg/kgで208農薬となり、添加濃度0.01mg/kgの農薬数が添加濃度0.1mg/kgの農薬数を上回る結果が得られた。

以前の分析方法との違いは、精製操作が InertSep AL-N/C18/SAX/PSA（100mg/200mg/100mg/100mg）1mL を用いた手動操作から全自動固相抽出装置（以下「ST-L400」という。）を使用した自動操作への変更、及び分析機器の7890B/7000C から8890/7000E への更新であり、一部の作物が影響を受けていることから妥当性評価の結果を精査した。

その結果、ほうれんそう、スイートコーン及びトマトは、精度において食品中に残留する農薬等に関する試験

法の妥当性評価ガイドライン（最終校正;食安発1224第1号平成22年12月24日）（以下「ガイドライン」という。）を満たさない農薬数が多い傾向にあり、特に日内変動が大きかった。これらのことから併行精度に着目し、5回併行測定による添加回収試験を行い、GC-MS/MS への注入条件による比較を含めた検討を行ったので報告する。

なお、ほうれんそうは ST-L400における精製のメソッドが異なるため、今回の検討からは除外した。

2 分析方法

2.1 試料

農薬が残留していないことを確認したスイートコーン（冷凍食品）及び農薬8割減栽培のトマトを予冷式ドライアイス凍結粉碎法で処理して試料とした。

2.2 標準品

富士フイルム和光純薬(株)農薬混合標準液農・PL-1、農・PL-2、農・PL-3、農・PL-4、農・PL-5、農・PL-6、農・PL-9、農・PL-10、農・PL-11、農・PL-12、農・PL-13 及びその他定量に必要な農薬単成分（エスフェンバレレート、 α -BHC、 β -BHC、 γ -BHC）を使用した。

単成分はアセトンを溶媒として 1000 μ g/mL の標準原液を調製し、20 μ g/mL に希釈して富士フイルム和光純薬(株)農薬混合標準液 20 μ g/mL とともに、アセトンで 1 μ g/mL に調製したものを農薬混合標準液とした。検量線の調製に用いた溶媒は、100 ng/mL 以上はアセトンで希釈し、100 ng/mL 未満はアセトン/ヘキサン (3:17) で適宜希釈した。妥当性評価は、検量点 0、2、4、6、8、10 ng/mL で行った。

2.3 対象農薬

299 成分 264 農薬 (GC-MS/MS 測定項目)

*1 現 北部保健福祉事務所

2.4 試薬など

アセトニトリル、アセトン及びヘキサンは、関東化学(株)残留農薬試験・PCB試験用(300倍濃縮)を、塩化ナトリウムは、関東化学(株)残留農薬試験・PCB試験用を、Q-sep QuEChERS抽出塩は、Restek(株)のEN法15662を使用した。

Analyte Protectants (以下「AP」という。)はアセトンを溶媒として、グルコノ-δ-ラク톤は関東化学(株)鹿特級、D-ソルビトールは関東化学(株)鹿1級で調製し、擬似マトリックス溶液として使用した。

また、精製用固相カラムはアイスティサイエンス(株)のSmart-SPE C18-50mg及びSmart-SPE PSA-30mgを使用した。

2.5 装置及び測定条件

GC-MS/MSはアジレント・テクノロジー(株)8890/7000Eを、大量注入装置はアイスティサイエンス(株)LVI-S250を、全自動固相抽出装置はアイスティサイエンス(株)ST-L400を使用した。測定条件を表1に示す。

2.6 抽出及び精製

農薬混合標準液添加後30分放置した試料を、QuEChERS法の一部を変更してアセトニトリルで10mLと9mLの2回抽出を行い、アセトニトリルで20mLに定容したものを抽出液とした。図1に示す。

精製は、ST-L400を用い、GC-B1法(固相カートリッジ:C18-50mg×2、PSA-30mg)により行った。

2.7 妥当性評価

妥当性評価はガイドラインに従い、選択性、真度及び精度(併行精度及び室内精度)について、ガイドラインの目標値に適合するか判定した。添加濃度は0.01mg/kg及び0.1mg/kg(一部の項目については0.02mg/kg及び0.2mg/kg)とし、分析者1名が1日1回(2併行)、5日間の枝分かれ試験を行った。ガイドラインの目標値を表2に示す。

3 結果

3.1 GC-MS/MSへの注入条件

精製後、アセトン/ヘキサン(3:17)で1mL(試料当たり0.25g)に定容して試験溶液とした。試験溶液40μL又は試験溶液を2倍に濃縮した溶液20μL及びAP1μLをサンドイッチ注入法によりGC-MS/MSに注入し、分析を行った。回収率を100%とした場合の検出濃度は、添加濃度0.01mg/kg試験溶液では2.5ng/mL、添加濃度0.1mg/kg試験溶液では25ng/mLとなる。また、添加濃度0.1mg/kg試験溶液の定量については試験溶液を10倍に希釈して分析するモデルと、希釈せずに高濃度測定用検量線を調製して定量するモデルの2法を比較した。低濃度測定用検量線は検量点0、2.5、5、10ng/mLで行い、高濃度測定用検量線は検量点0、2.5、5、10、25、50、75ng/mLで行った。精製操作フローを図2、注入条件を表3に示す。表中の①～⑥は5回併行測定を行った。

なお、妥当性評価時は、添加濃度0.01mg/kg試験溶液を2倍に濃縮した溶液と、添加濃度0.1mg/kg試験溶液を10倍に希釈した溶液を各20μL注入で測定を行っていた(①と②の組合せ)。

3.2 各条件による併行精度の比較

妥当性評価時に併行精度を満足しなかった農薬数は、添加濃度0.01mg/kgにおいてスイートコーンとトマトともに0農薬、添加濃度0.1mg/kgにおいてスイートコーン31農薬、トマト23農薬であったが、今回の測定結果ではいずれもガイドラインの目標値を満たしていた。

添加濃度0.1mg/kgにおいてスイートコーン31農薬及びトマト23農薬の併行精度の平均値を図3に示す。

今回の結果から、40μL注入や添加濃度0.1mg/kg試験溶液は10倍に希釈した方が併行精度は小さい傾向が認められた。

妥当性評価時のGC-MS/MSのコンディションとして、トマトはメンテナンス直前で、JetCleanセルフクリーニングイオン源を使用しているためイオン源の汚れは確認できなかったが、胃袋型インサートはかなり汚れていた。一方、スイートコーンはメンテナンス直後で、GC-MS/MS系内の活性点の影響を受けやすいなど、必ずしも最適とは言えない状態であった。これらが日内変動の大きくなった要因と考えられた。また、⑥のトマトが高値となった原因は、スイートコーンとトマトを続けてメンテナンスを行わずに実施したことにより胃袋型インサートに汚れが蓄積したためと推測された。

4 まとめ

妥当性評価時に、添加濃度0.01mg/kgの農薬数が添加濃度0.1mg/kgの農薬数を上回る結果が得られたスイートコーンとトマトにおいて、併行精度に着目し、GC-MS/MSへの注入条件による比較を含めた検討を行った。その結果、妥当性評価時に併行精度を満足しなかった農薬において、いずれもガイドラインの目標値を満たしていた。妥当性評価時は、GC-MS/MSのコンディション不良時に実施していたことから、GC-MS/MSにおけるメンテナンスを含めたコンディションが変動要因となったと推察される。

今後も、GC-MS/MSを常に最適な状態で分析できるようマトリックスの差や起爆注入など活性点に対する条件やインサートの汚れに対する条件などの検討を進めていきたい。

表1 測定条件

装置	Agilent Technologies 8890/7000E
分析カラム	VF-5ms
カラム温度	70℃(4min)→25℃/min→150℃(0min) →3℃/min→200℃(0min) →8℃/min→310℃(5min)
注入口温度	70℃
検出器温度	280℃
注入方式	大量注入(アイスティサイエンス(株)LVI-S250)
キャリアーガス	He
注入量	20μL又は40μL
イオン化モード	EI
検量線の種類	絶対検量線(マトリックス添加)
添加したマトリックス	Analyte Protectants(AP)

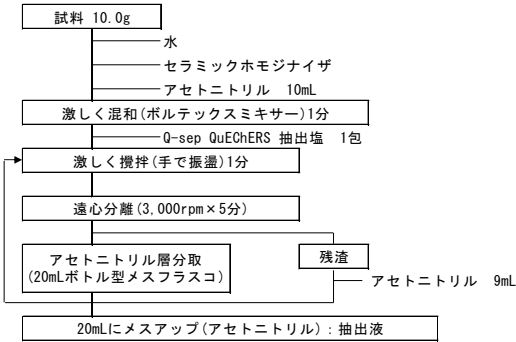


図 1 抽出操作フロー

表 2 目標値

濃度 (mg/kg)	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
0.001 < ~ ≤0.01	70 ~ 120	25 >	30 >
0.01 < ~ ≤0.1	70 ~ 120	15 >	20 >

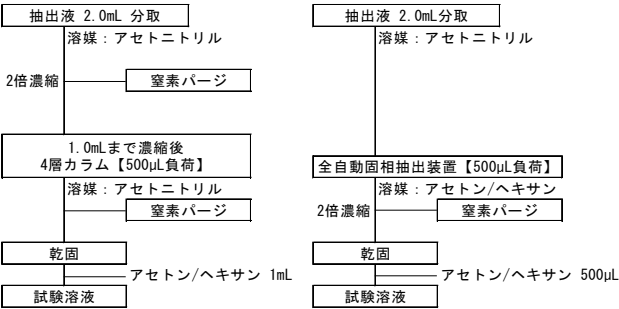


図 2 精製操作フロー

表 3 注入条件

	添加量	試料液	注入量	希釈倍率
①	0.01 mg/kg	2倍濃縮	20 μL	—
②	0.1 mg/kg	2倍濃縮	20 μL	10
③	0.1 mg/kg	2倍濃縮	20 μL	1
④	0.01 mg/kg	原液	40 μL	—
⑤	0.1 mg/kg	原液	40 μL	10
⑥	0.1 mg/kg	原液	40 μL	1

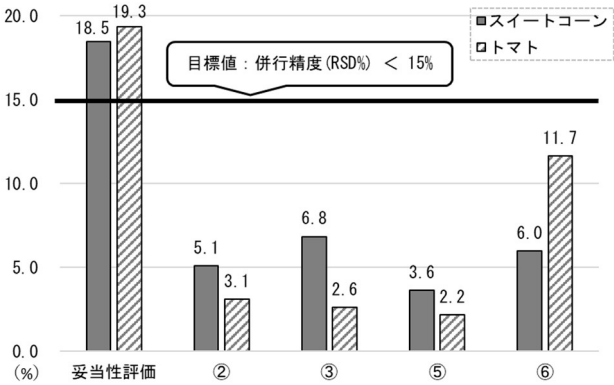


図 3 添加濃度 0.1mg/kg におけるスイートコーン 31 農薬及びトマト 23 農薬の併行精度の平均値

5 参考文献

- 1) アイスティサイエンス(株)：STQ 法ガイドブック，26-29，（2022）
- 2) 新貝 達成、大内 亜沙子、阿部 美和、千葉 美子、大槻 良子：宮城県保健環境センター年報，38，64-68（2020）

宮城県における酸性雨の状況について

Acid Rain Situation in Miyagi Prefecture

椎名 美月*¹ 飯塚 溪介 太田 栞*² 三沢 松子

Mizuki SHIINA, Keisuke IIZUKA, Shiori OHTA, Matsuko MISAWA

平成 24 年度から令和 3 年度までの 10 年間における国設簗岳環境大気測定所での湿性沈着の状況について報告する。年平均値の推移をみると、pH は改善傾向にあり、それは降水の酸性化に寄与する NO_3^- 、 $\text{nss}\cdot\text{SO}_4^{2-}$ 沈着量の減少に由来していると考えられる。また、月平均値について、 NO_3^- 、 $\text{nss}\cdot\text{SO}_4^{2-}$ 、 NH_4^+ は春季から夏季にかけて高くなる傾向があった。一方 $\text{nss}\cdot\text{Ca}^{2+}$ の推移を見ると、3 月から 5 月ごろに高い値を示す傾向がみられ、大陸方向から越境してくる黄砂の影響が考えられた。

キーワード：酸性雨；経年変化；季節変動

Key words : Acid Rain ; Long-term Trend ; Seasonal Variation

1 はじめに

国は、酸性雨の実態及びその影響を明らかにするため、昭和 58 年度から第 1 次酸性雨対策調査を開始した。本県は、国委託の酸性雨調査について、第 1 次酸性雨対策調査から参加しており、国設簗岳環境大気測定所においては昭和 63 年度の第 2 次調査から令和 5 年度まで継続して調査を行っていた。

本報では、平成 24 年度から令和 3 年度までの 10 年間における国設簗岳大気環境測定所の酸性雨調査結果について報告する。

2 方法

2.1 調査地点及び捕集方法

降水の捕集装置は、涌谷町の簗岳山中腹にある国設簗岳大気環境測定所の屋上に設置している。捕集方法は環境省の湿性沈着モニタリング手引書第 2 版¹⁾に基づき降水試料自動捕集装置（株）小笠原計器製作所 US-421 型）を用いて行った。1 週間分の降水をまとめて 1 試料とし、冷蔵保管を行った。

2.2 調査期間及び調査項目

調査期間は平成 24 年度から令和 3 年度までの 10 年間とした。経年変化を示すために年平均値、経月変化を示すために月平均値を算出した。

調査項目は、降水量、pH、 NO_3^- 、 $\text{nss}\cdot\text{SO}_4^{2-}$ 、 NH_4^+ 、 $\text{nss}\cdot\text{Ca}^{2+}$ （ nss は非海塩成分 non sea salt の略称）とした。 SO_4^{2-} と Ca^{2+} は海塩由来のものと非海塩由来のものが存在するが、本報告では降水の酸性化に寄与する非海塩由来のもののみ着目した。計算方法は下記のとおり。

$$\text{nss}\cdot[\text{SO}_4^{2-}] = [\text{SO}_4^{2-}] - 0.06028 \times [\text{Na}^+]$$

$$\text{nss}\cdot[\text{Ca}^{2+}] = [\text{Ca}^{2+}] - 0.02161 \times [\text{Na}^+]$$

降水量のデータについては、降水試料自動捕集装置付近に設置された雨量計の記録を用いた。pH はガラス電極法、イオン成分はイオンクロマトグラフ法により測定を行った。

3 結果

3.1 経年変化

降水量の経年変化（図 1）について、最も多かったのは平成 29 年度の 1441.8mm、少なかったのは平成 30 年度の 940.2mm となった。平成 25 年度、平成 29 年度、令和元年度は比較的降水量が多くなっており、梅雨前線や台風の影響と考えられる。ただし全国平均と比較すると半分程度の降水量であり、おおむね横ばいで推移している。

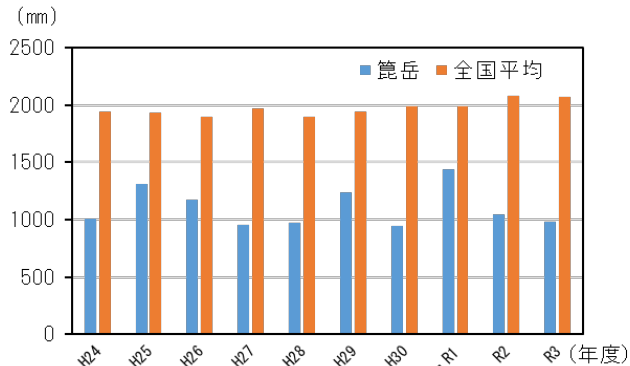


図 1 降水量の経年変化

pH（図 2）は 4.90～5.17 の範囲にあり、おおむね上昇傾向を示し、酸性化は改善してきていると考えられ、全国平均と比較しても、すべての年度で上回っていた。

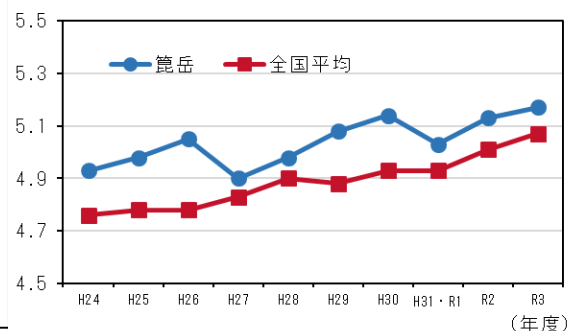


図 2 pH の経年変化

*1 現 北部保健福祉事務所

*2 現 仙南保健福祉事務所

次に各イオン成分沈着量の年平均値について示す。降水の酸性化に寄与する nss-SO_4^{2-} と NO_3^- については減少傾向がみられた（図 3）。そのため、pH の上昇については、これら酸性化に寄与するイオン成分の減少によってもたらされていると推測される。一方降水の中性化に関与する NH_4^+ と nss-Ca^{2+} について、 NH_4^+ はおおむね減少傾向がみられたものの、 nss-Ca^{2+} は元々の沈着量が少ないこともあり、横ばいで推移していた。（図 4）

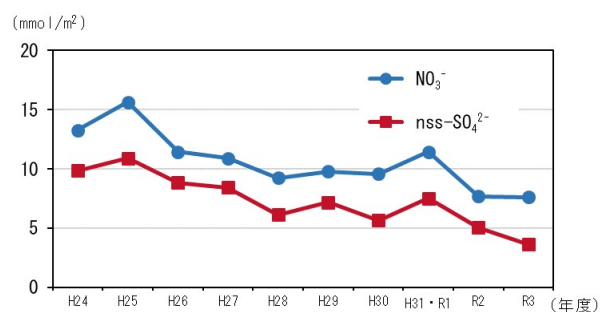


図 3 降水の酸性化に寄与するイオン成分の経年変化

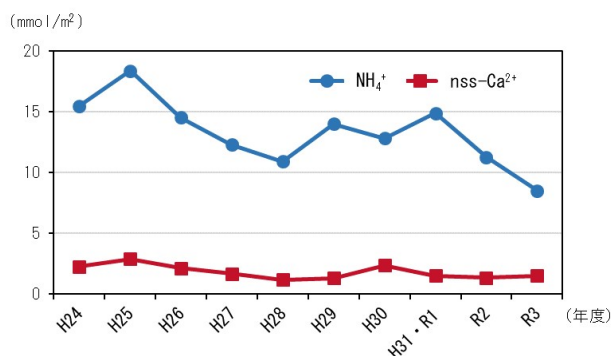


図 4 降水の中性化に寄与するイオン成分の経年変化

3.2 経月変化

降水量は夏季、春季の順に多く、冬季は少ない傾向がみられた。pH は 4 月と 10 月に若干高くなったが、季節変化や特徴は見られなかった。

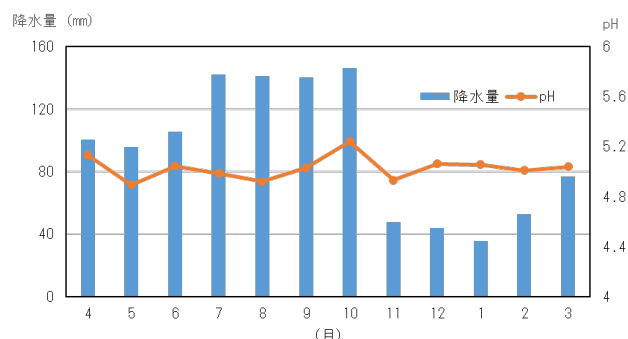


図 5 降水量と pH の経年変化

イオン沈着量の経月変化について、 nss-SO_4^{2-} 、 NO_3^- 、 NH_4^+ は春季から夏季にかけて高く、冬季は低い傾向がみられた。 nss-Ca^{2+} は他のイオン沈着量とは異なり 3～

5 月に高くなる傾向がみられた。この時期は黄砂の飛来がある時期で、 nss-Ca^{2+} は黄砂の成分の 1 つでもある。そのため、大陸から越境してきた黄砂の影響を受けた可能性があると考えられた。

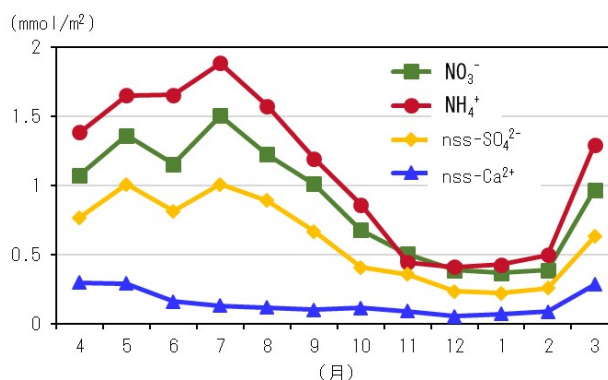


図 6 イオン沈着量の経月変化

3.3 大陸からの影響

3.2 で述べたとおり春季に中国大陸からの黄砂の影響を受けていると考えられたため、アメリカ海洋大気庁 (NOAA) 大気資源研究所のハイスプリットモデルを用い、気流を確認した。一例として、起点を「国設筥岳大気環境測定所」起点日時を「令和 2 年 3 月 29 日午前 2 時」としたものを図 7 に示す。なお、起点日時は比較的 nss-Ca^{2+} 濃度が高い令和 2 年 3 月 23 日から 3 月 30 日までの試料のうち、降水のあったタイミングである 3 月 29 日午前 2 時を選定した。3 日前までさかのぼって気流がどこから来ているのかを調べた結果、大陸から気流が伸びていることが確認できた。同様の傾向が他の日時でも確認できたことから、この時期は大陸からの黄砂の影響で nss-Ca^{2+} の沈着量が上昇している可能性がある。

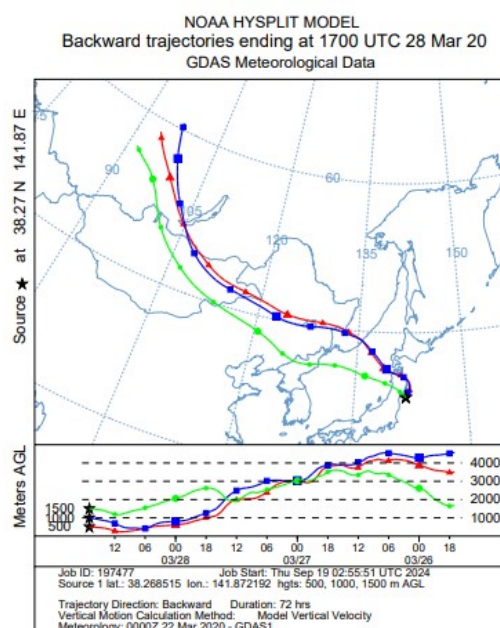


図 7 NOAA による後方流跡線解析

さらに、 nss-SO_4^{2-} と NO_3^- においても大陸からの影響があると考え、 nss-SO_4^{2-} と NO_3^- の当量比を確認した。その結果を図8に示す。 $\text{NO}_3^-/\text{nss-SO}_4^{2-}$ 当量比の経年変化を見ると、徐々に上昇している傾向があった。この傾向は全国平均で見ても同様の傾向であった。

次に、中国と日本の SO_2 、 NO_2 濃度の比較検討を行った。平成25年から令和3年までの SO_2 、 NO_2 濃度の経年変化について図9に示す²⁾³⁾。図9のとおり、 SO_2 、 NO_2 は日本より中国の方が高い状態が続いており、日本の SO_2 はすでに下げ止まっている。また、中国の SO_2 、及び両国の NO_2 濃度は減少傾向がみられる。このことから、 $\text{NO}_3^-/\text{nss-SO}_4^{2-}$ 比の減少は大陸から越境する SO_2 濃度の減少を受けたものだと考えられ、 nss-SO_4^{2-} と NO_3^- においても大陸からの影響を受けていることが示唆された。

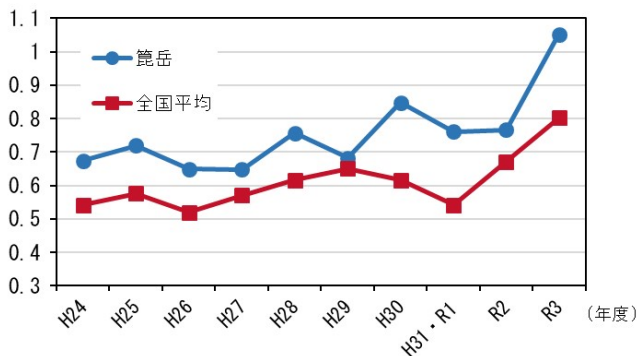


図8 $\text{NO}_3^-/\text{nss-SO}_4^{2-}$ 当量比の経年変化

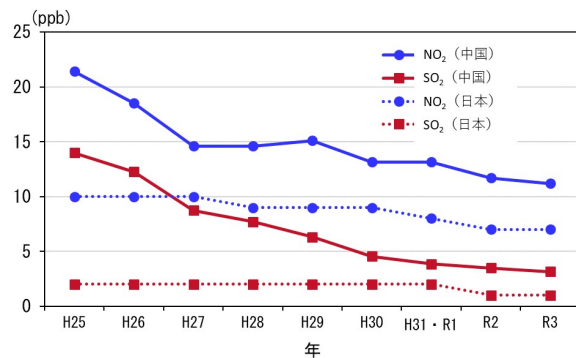


図9 中国及び日本の SO_2 、 NO_2 濃度の経年変化

4 まとめ

国設琵琶湖大気環境測定所のpHは近年上昇傾向にあり、降水の酸性化に寄与するイオン成分沈着量が減少傾向にあることが理由として考えられる。これは、中国の SO_2 及び NO_2 排出量の経年変化と類似した傾向であることから、越境汚染の改善を反映していると考えられる⁴⁾。

経月変化では、pHはさほど大きな変動が見られなかったが、 NO_3^- 、 nss-SO_4^{2-} 及び NH_4^+ の沈着量については3月から9月ごろまでに高い値を示した。このことから、この時期は、降水の酸性化に寄与するイオン沈着量が増

加している一方で、中和に寄与するイオンも増加し、pHが大きく変動しなかったと考えられる。 nss-Ca^{2+} については3月から5月ごろまで高い値を示す傾向が見られ、これは大陸方向から越境してくる黄砂の影響が考えられる。大陸からの影響については、後方流跡線解析及び $\text{NO}_3^-/\text{nss-SO}_4^{2-}$ 当量比の経年変化からも影響があったことが示唆された。

5 参考文献

- 1)環境省：湿性沈着モニタリング手引書 第2版
- 2)中国生態環境情報公報 2013～2021年
- 3)環境省：令和3年度大気汚染物質（有害大気汚染物質等を除く。）に係る常時監視測定結果
- 4)全国環境研協議会 酸性雨広域大気汚染調査研究部会：第6次酸性雨全国調査報告書 2021年度