

# 衛生環境研究所だより

第23号  
令和6年3月

腸管出血性大腸菌の MLVA 法(P1・2) 機器紹介 イオンクロマトグラフ(P2・3)  
じゃがいもによる食中毒について(P4)

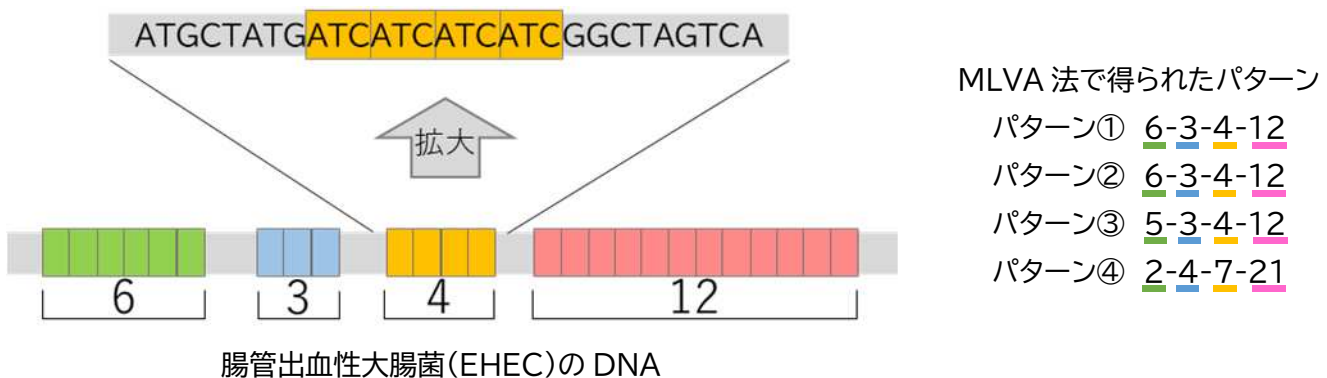
新潟市衛生環境研究所

## 腸管出血性大腸菌の MLVA 法

人や家畜の腸内には大腸菌が存在します。ほとんどは無害ですが、中には毒素を産生し、出血を伴う腸炎や溶血性尿毒症症候群(HUS)を起こすものがあり、腸管出血性大腸菌(EHEC)と呼ばれ、食中毒の原因となります。喫食調査等により原因が判明する場合がありますが、中には原因不明の感染事例も多くあります。新潟市内で発生したEHEC事例から分離された菌株は、シーケンサーという装置を用いてMLVA法で解析し、全国のデータと比較します。そうすると全国規模での菌株の繋がりが見えてくることがあります。

### MLVA法とは

細胞の持つ染色体のなかには、同じ塩基配列が複数回にわたり反復(リピート)する領域が存在します。このような反復配列は細胞の分裂に伴ってリピート数が高頻度に増減することが知られています。これらの反復配列領域を複数カ所解析することを反復配列多型解析法(MLVA法)と呼びます。MLVA法はDNAシーケンサーという装置を用いて目的のDNA断片の長さを測定し、各領域のリピート数を判別することにより菌同士の関連性を解析します。得られた数字の組み合わせ(パターン)に近いほど菌同士の由来が近いことを表します。



上図は EHEC の DNA の一部分の例です。灰色の帯が DNA、緑青橙赤の長方形一つ一つが反復配列を模しています。DNA は、A(アデニン)、T(チミン)、C(シトシン)、G(グアニン)の4塩基から成り立っています。上図(拡大部分)の橙の反復配列領域では、ATGCTATG ATC ATC ATC ATC GGCTAGTCA の中に ATC が4回反復しています。MLVA法は、DNAの複数の領域の塩基の繰り返し数を調べます(例では緑青橙赤の4領域)。①～④の4種類のEHECがあったとします。このうち①の菌からMLVAパターン①6-3-4-12が得られ、同様に②～④の菌からパターン②～④が得られたとします。各パターンをもとに①とそれ以外の菌のパターンを比べると、①と②は、由来の同じ菌と考えられます。①と③は、同じ由来の菌が変異した、近縁の菌と考えられます。①と④は、まったく由来の異なる菌と考えられます。

上記の例では、4領域でのパターンを用いて説明していますが、実際にはさらに多くの反復領域でのリピート数を比較し検査精度を確保しています。また、実際の食中毒事例では、疫学的情報と検査結果を合わせて関連性が判断されます。



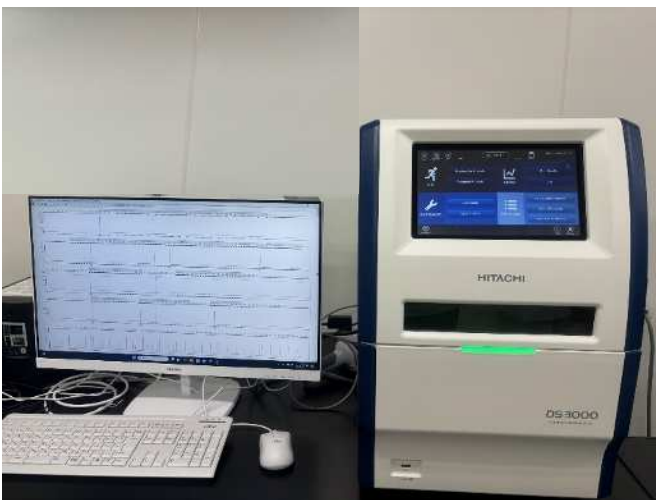
## MLVA法の利用

食中毒などが発生すると、同じ店、あるいは同じメニューの品を食べた患者さんから同じパターンを持つ菌(菌株)が検出されることがあります。また、原因施設で使われていた食品からも同じパターンを持つ菌株が検出されることがあります。こうして関係した人や物から同じパターンの菌株が検出されるということは、感染源を強く示唆することにつながります。

現在では、EHEC の中でも患者数が多く、重篤な症状を起こしやすい O157、O26、O111 などについて MLVA 法が開発されており、詳細な解析を行うことができます。



## DNAシーケンサーとは



キャピラリー電気泳動型DNAシーケンサーとも呼ばれ、DNAの塩基配列や、塩基の長さを解析する装置です。次世代シーケンサーと区別するためにサングァーシーケンサーとも呼ばれます。当所のDNAシーケンサーは紹介したMLVA法の他、結核菌のVNTR解析、ウイルスや細菌の遺伝子型解析に使用されており、様々な病原体の特定に役立っています。

## 機器紹介 イオンクロマトグラフ

イオンクロマトグラフは、水溶液中でイオンとして存在する物質を分離・検出する分析機器です。試料はポンプで送られる「溶離液」と呼ばれる液に溶けて分離カラムに運ばれ、イオン成分の違いにより分離されます。分離した各イオン成分が電気伝導度検出器に到達すると、信号が出力される仕組みになっています。

イオンクロマトグラフでは、硝酸イオン ( $\text{NO}_3^-$ )、亜硝酸イオン ( $\text{NO}_2^-$ ) のような酸化状態の異なるイオンや、二価鉄イオン ( $\text{Fe}^{2+}$ )、三価鉄イオン ( $\text{Fe}^{3+}$ ) のような価数の異なるイオン種もわずかな電荷の違いにより分離定量が可能です。



イオンクロマトグラフ



## どんな調査に使っているの？

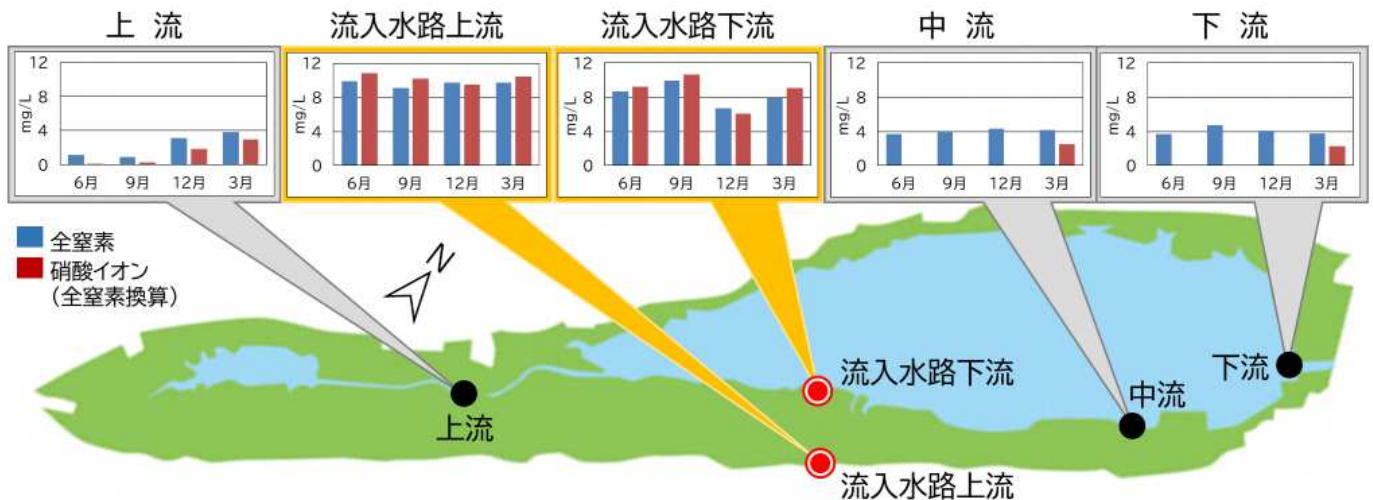
衛生環境研究所では、イオンクロマトグラフを湖沼水・地下水の水質調査や港湾工事等で発生する<sup>しゅんせつ</sup>浚渫土砂の有害物質調査に用いています。湖沼の水質調査では、鳥屋野潟や佐潟等において、塩化物イオン、硫酸イオンおよび硝酸イオンの濃度を定期的に測定し、化学肥料や工場排水等の異常水流入の指標にします。浚渫土砂の調査では、土砂から有機塩素化合物を抽出後、分解処理により無機化し、その塩化物イオン濃度を測定して有機塩素化合物含有量を分析します。

## イオンクロマトグラフを用いた佐潟の窒素成分分析

新潟市では、「佐潟周辺自然環境保全計画」に基づき、佐潟の水質調査を毎月実施し、水質状況を把握しています。窒素成分については、様々な形態の窒素をまとめて「全窒素」として分析します。これとは別に、イオンクロマトグラフを用いた各種イオン濃度の分析を年4回実施しています。

佐潟は地下水を水源としており、地下水の流入水路では、年間を通し高濃度の全窒素が確認されています。湖沼において、多量の窒素成分の流入や滞留は富栄養化の原因となります。イオンクロマトグラフを用いた分析により、この窒素成分がほぼ硝酸態窒素( $\text{NO}_3^-$ -N)であることが分かりました。この硝酸態窒素はどこからやって来るのでしょうか。

佐潟に地下水を供給する地域(集水域)の多くは農地として利用されています。農地に散布された窒素肥料は、土壤中で微生物の働きにより最終的に硝酸態窒素に変化します。佐潟の集水域のような砂地では、農作物に吸収されず土壤中に残った硝酸態窒素が降雨などに溶け出しやすく、それが地下水となって佐潟に流れ込むと考えられています。



佐潟水質調査地点の全窒素および硝酸イオン濃度  
(R4年度データ)

※ グラフは硝酸イオン濃度を全窒素濃度に換算して表しています。赤の二重丸で示した流入水路地点で、全窒素(青)と硝酸イオン(赤)の濃度がほぼ一致していることが分かります。

# じゃがいもによる食中毒について

## じゃがいも中のソラニン、チャコニン

植物の中には、人間にとって毒として作用する成分を含むものがあります。そのなかでも有名な、じゃがいもの自然毒について紹介します。

じゃがいもは炭水化物やビタミンなど栄養素を多く含む野菜ですが、一方でソラニンやチャコニンと呼ばれる毒素が含まれています。これらは芽や緑化した部分に多く含まれており、また、未熟ないもには高い濃度で含まれていることがあります。これらの毒素を多く含むじゃがいもを食べると、吐き気、嘔吐、腹痛、下痢、頭痛、めまいなどの症状がでることがあります。

### 保存時の注意点

- 早めに食べることが基本ですが、保存する場合は…
- ・いもに光を当てないで、通気のよい冷暗所で保存する。
  - ・いもに傷がつくと毒素が増えるので、傷をつけないように注意して保存する。

### 調理時の注意点

- ソラニンやチャコニンは茹でても分解しないので…
- ・皮や芽の周りに多く含まれるため、しっかりと取り除く。
  - ・緑化した皮は厚めにむき、その周りもしっかり皮をむく。

### 喫食時の注意点

- ・皮ごと食べる時は、皮を食べ過ぎないようにする。
- ・苦みやえぐみを感じたら、一緒に調理した他の食材も含めてそれ以上は食べない。

### 食中毒の事例

学校で栽培・収穫した未熟なじゃがいもを皮付きのまま茹で、喫食したところ、吐き気、嘔吐などの食中毒症状が出た、というようなことがありました。

じゃがいもを原因とする食中毒は全国で発生しています。近年では令和5年に1件、令和4年に3件で、全て学校で発生しています。

### 研究所での取り組みは？

衛生環境研究所では、じゃがいもからソラニンとチャコニンを抽出し、液体クロマトグラフ質量分析装置で分析する方法を検討してきました。これからも、分析できる成分を拡充しながら、自然毒食中毒発生時の検査体制の整備を図ってまいります。



左:冷暗所保管したじゃがいも  
右:日に当てて緑化させたじゃがいも



液体クロマトグラフ質量分析装置

編集・発行 新潟市衛生環境研究所

〒950-2023 新潟市西区小新 2151 番地 1 TEL:025-231-1231 FAX:025-230-5818

E-mail:eisei.rc@city.niigata.lg.jp