

Ⅱ 調 査 研 究 報 告

資 料

富山県における新生児マススクリーニングの成果について (2021年度)

九曜 雅子 湊山 亜未 高岡 美紗 笹島 仁
大谷 直美¹

Neonatal Mass Screening Results in Toyama Prefecture
(Apr.2021-Mar.2022)

Masako KUYO, Ami MINATOYAMA, Misuzu TAKAOKA, Hitoshi SASAJIMA,
and Naomi OTANI

目的: 先天性代謝異常マススクリーニング（新生児マススクリーニング：以下「スクリーニング」と表記）は、1977年4月に厚生省母子保健事業の一環として導入された。実施主体は都道府県および政令市で、代謝異常症等の早期発見、早期治療により心身障害の発生を防止・軽減することを目的としている。

富山県では、1977年10月より富山県先天性代謝異常等検査事業実施要綱に基づき、検査料公費負担で、フェニルケトン尿症等を対象に検査を実施してきた。厚生労働省の通知[1]を受けて、本県では2014年3月からタンデムマス法を導入し、スクリーニングの対象疾患は19疾患となった。さらに、2018年4月から1疾患追加[2]されて、現在は、20疾患（表1）が検査の対象となっている。

本県では、タンデムマス法の導入に伴い、新たに、富山県先天性代謝異常等検査事業マニュアル[3]を作成した。また、富山県先天性代謝異常等検査事業部会が設置され、検査やフォローアップ体制、普及啓発、保健指導等について検討し、事業全体の評価を行っている。

本報では、2021年度のスクリーニング結果について報告する。

実施方法：

1. 対象疾患

アミノ酸代謝異常症5疾患、有機酸代謝異常症7疾患、脂肪酸代謝異常症5疾患、ガラクトース血症、先天性甲状腺機能低下症および先天性副腎過形成症の計20疾患（表1）を対象とした。

2. 対象者

県内で出生した新生児（里帰り児含む）のうち、

保護者が「先天性代謝異常等検査申込書兼同意書」を提出した者を対象とした。

なお、「先天性代謝異常等検査申込書兼同意書」には、検査終了後の血液ろ紙を検査法の改良等を使用することに対する同意の有無を記入する欄を設けた。また、随時、同意の撤回もできるような様式とした[4]。

3. 検査期間

2021年4月から2022年3月までの1年間の検査実施状況をまとめた。

4. スクリーニング方法

(1) 検査検体

県内の各医療機関において採血されたろ紙血液を用いた。

(2) 検査方法

1) アミノ酸代謝異常症(5疾患)、有機酸代謝異常症(7疾患)、脂肪酸代謝異常症(5疾患)

タンデムマス法（質量分析装置：Sciex 社製 TQ4500, LC 装置：SHIMADZU 社製 Prominence-20 シリーズ、試薬：シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス社製キット「MS² スクリーニング Neo II」、非誘導体化法[5]）により、ろ紙血液中のアミノ酸およびアシルカルニチン（表1）を測定した。データの解析は、Sciex 社製 ChemoView を使用した。

2) ガラクトース血症

マイクロプレート・酵素法（シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス社製キット「エンザプレート GAL」使用）により、ろ紙血液中のガラクトースを測定した。ガラクトースの抽出には、トランスファープレートを使用する改良法[6]を用いた。

また、全検体について、自家調製試薬 [7] によるボイトラー法で、Galactose-1-phosphate uridyl transferase (UT) 活性の有無を検査した。なお、判定用のろ紙は、短時間でも判定可能である Whatman DE81[8] を使用した。

3) 先天性甲状腺機能低下症

ELISA (栄研化学社製キット「クレチン TSH ELISA II 栄研」使用) による TSH (Thyroid stimulating hormone) 値の測定を行った。

4) 先天性副腎過形成症

ELISA (シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス社製キット「エンザプレート Neo-17 α -OHP」使用) による 17-OHP (17-hydroxy progesterone) 値の測定を行った。

(3) 検体のサンプリング

バーコードを利用した自動サンプリング [9] を行った。

(4) 判定基準

表 1 に示した判定基準に従い、疑陽性と判定した検体は再採血を依頼し、再検査を行った。再検査でも疑陽性となった場合には、精密検査実施医療機関を受診するよう主治医に報告した。緊急に精密検査を要する場合は、初回検査でも、直ちに主治医に連絡し、小児科受診を勧奨した。

タンデムマス法での判定基準値については、定期的に判定基準の見直しを行っているが、2021 年度から Leu+Ile のカットオフ値を変更した。日本マススクリーニング学会の精度管理事業における内部精度管理支援 [10] の一環として実施している 2020 年度実施状況調査において、Leu+Ile および Val を指標とするメープルシロップ尿症の再採血率が、設定された疾患ごとの基準値 (0.15%) よりも高く、カットオフ値の見直しが必要との指摘を受けた。そのため、カットオフ値について検討した結果、当所のカットオフ値は全国の施設と比

表 1. 対象疾患および判定基準

	疾患名	検査法	指標	再採血カットオフ値		即精密検査カットオフ値	
				($\mu\text{mol/L}$)	アミノ酸(mg/dl)	($\mu\text{mol/L}$)	アミノ酸(mg/dl)
アミノ酸代謝異常症	フェニルケトン尿症(PKU)	タンデムマス法	Phe	120	2.0	500	8.3
	メープルシロップ尿症(MSUD)		Leu+Ile & Val	340 250	4.4 2.9	600	7.9
	ホモシスチン尿症(HCU)		Met	67	1.0	340	5.0
	シトルリン血症1型(CTLN1)		Cit	100		250	
	アルギニノコハク酸尿症(ASA)						
有機酸代謝異常症	メチルマロン酸血症(MMA)		C3	3.9		8.0	
	プロピオン酸血症(PA)		& C3/C2	0.24		0.24	
	イソ吉草酸血症(IVA)		C5	1.0		5.0	
	メチルクロトニルグリシン尿症(MCCD)		C5-OH	1.00		2.00	
	ヒドロキシメチルグルタル酸血症(HMGA)						
	複合カルボキシラゼ欠損症(MCD)		C5-DC	0.35			
	グルタル酸血症 1 型(GA1)						
脂酸代謝異常症	中鎖アシルCoA脱水素酵素欠損症(MCAD)		C8 & C8/C10	0.28 1.2		0.28 1.2	
	極長鎖アシルCoA脱水素酵素欠損症(VLCAD)		C14: 1 & C14: 1/C2	0.3 0.013		0.3 0.013	
	三頭酵素欠損症/長鎖 3-ヒドロキシアシルCoA脱水素酵素欠損症(TFP/LCHAD)		C16-OH & C18:1-OH	0.100 0.100		0.100 0.100	
	カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ 1 欠損症(CPT-1)		C0/ (C16+C18)	75		75	
	カルニチンパルミトイルトランスフェラーゼ 2 欠損症(CPT-2)		(C16+C18:1)/C2 C14/C3	0.37 0.42		0.37 0.42	

	疾患名	検査法	測定物質	再採血カットオフ値	即精密検査カットオフ値
糖代謝異常症	ガラクトース血症	マイクロプレート・酵素法	Gal Gal-1-P	3mg/dL または 15mg/dL	Galが3mg/dL以上 かつ ボイトラー法で蛍光無
		ボイトラー法	Gal-1-P Uridyltransferase	蛍光が微弱または無	
内分泌異常症	先天性甲状腺機能低下症	エンザイムイムノアッセイ法 (ELISA)	TSH	8 μ U/mL	30 μ U/mL
	先天性副腎過形成症	エンザイムイムノアッセイ法 (ELISA)	17-OHP	直接法 10ng/mL 抽出法 4ng/mL	直接法 10ng/mL 以上で有症状 または 抽出法 10ng/mL 以上

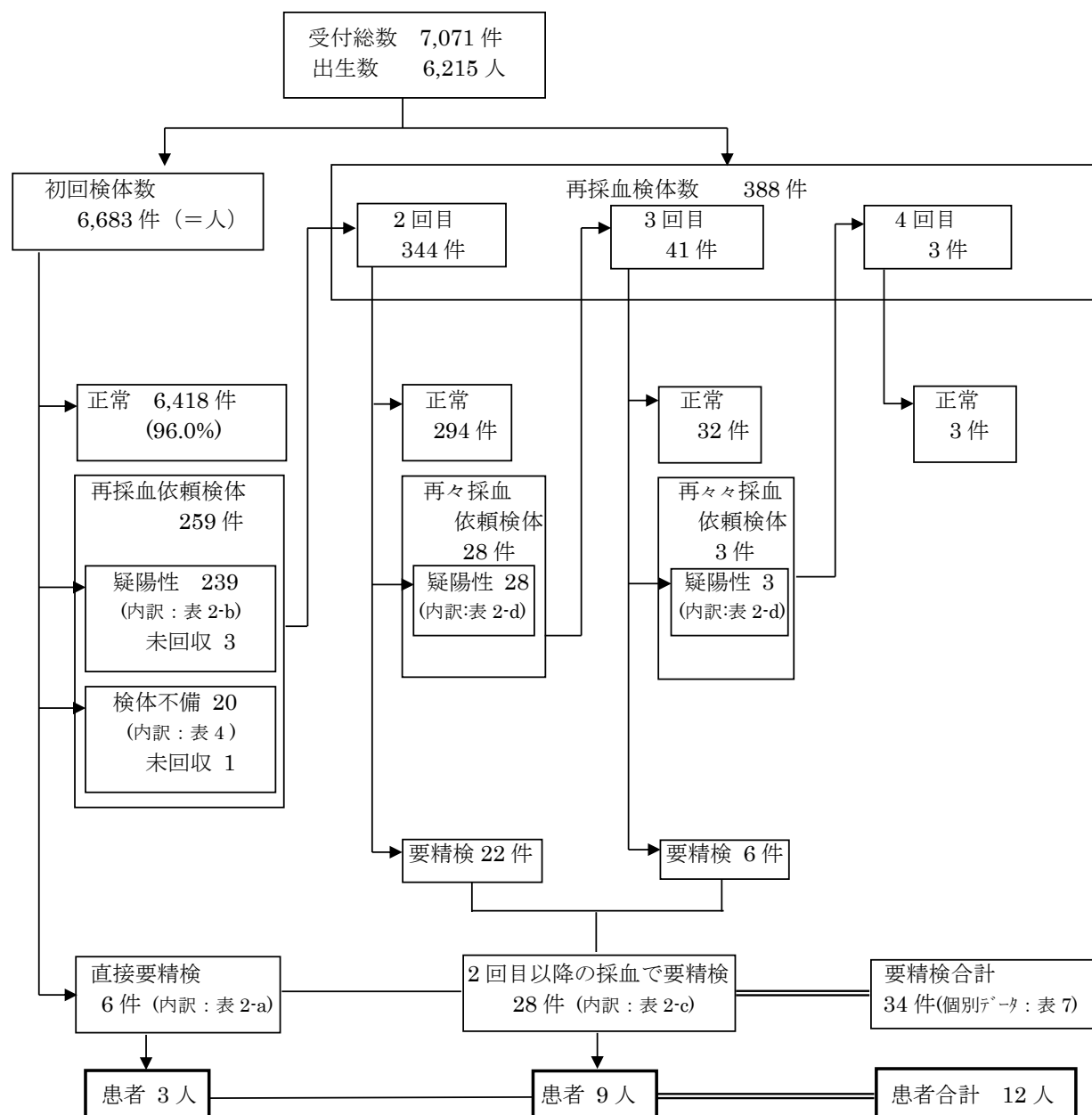


図 1. 検査の流れおよび検査数の概要

較するとやや低めの設定であり、偽陽性が生じやすい状況であった。特にLeu+Ileのカットオフ値が低い傾向であったことから、適正な再採血率となるカットオフ値として340 $\mu\text{mol/L}$ に変更した。

(5) 結果報告

毎週金曜日に、その前週の月～金曜日に受付したすべての検体の結果個票を各医療機関に郵送した。保護者には、各医療機関から、結果個票の受診者用の部分が手渡されることになっている[4]。

(6) データ処理

システムケイ社製『新生児マススクリーニングシステム』により、検査検体の受付事務処理、検

査結果の判定、結果報告、月報集計、年度集計を行った。

結果：

1. 検査実施状況

(1) 検査件数と検査結果の概要

今年度の受付総数は、7,071件で、県内26か所の医療機関（おもに産婦人科）から送付されてきたものである。

図1に検査の流れと検査件数の概要を示した。今年度の出生数は6,215人[11]であり、初回検体数6,683件（人）から計算すると受検率は107.5%

となった。100%を超えているのは、県外在住者がいわゆる『里帰り出産』のため県内で出産するケースを含んでいるためと考えられる。また、県内居住者が他県で受検するケースもあることから、正確な受検率は算定できないが、県内で出生した新生児はほぼ全員この検査を受けているものと推定される。

初回検体のうち6,418件（人）（96.0%）は正常と判定されたが、239件（人）（3.7%）は疑陽性のため、20件（人）（0.3%）は血液量の不足等の検体不備の理由で、再採血を依頼した。また、6件（人）（0.1%）は初回検査で直ちに精密検査が必要（直接要精検）と判定された。

再採血検体として受付した388件のうちでは、28件（人）（7.2%）が要精密検査と判定された。今年度の要精密検査数は、直接要精検の6件（人）と合わせて34件（人）となった。

(2) 疑陽性による再採血

表2に疾患別の疑陽性による再採血依頼数を示した。タンデムマス法によるアミノ酸代謝異常症、有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症の計17疾患の再採血率は0.34%であった。ガラクトース血症も合わせた代謝異常症の再採血率は0.82%となった。先天性甲状腺機能低下症は1.78%、先天性副腎過形成症は1.30%となり、すべての対象疾患の合計は3.90%であった。再採血率の目安は、タンデムマス法17疾患では0.1～0.6%[12]、先天性甲状腺機能低下症は0.5～1.0%、先天性副腎過形成症は0.3～0.5%[13]とされている。タンデムマス法の再採血率は適正であったが、先天性甲状

腺機能低下症と先天性副腎過形成症の再採血率は高くなった。

先天性甲状腺機能低下症については、再採血依頼数（126件）のうち58件（46.0%）は初回検体のTSH値がカットオフ値をわずかに超える程度（8～9 $\mu\text{U/ml}$ ）の検体であった。このような例の中には、再採血時にTSH値が上昇し、患者と診断された例もある。通常、再採血率が高い場合には、カットオフ値を高く設定し直す等の検討が必要となるが、その際には、このようなTSHが比較的低値の患者例についても考慮する必要があると考えられる。

先天性副腎過形成症では、再採血依頼数の約半数が低体重児（出生体重2,000g未満の児）であった。低体重児は副腎機能が未熟でストレス状態にあるために17-OHP値が高くなりやすく、このような例が多かったことが、再採血率が高かった要因のひとつと考えられた。再採血率を低減するためには、出生体重別のカットオフ値の設定やLC-MSMS法による副腎ホルモンプロファイルの確認等が必要であると考えられた。

また、2疾患以上が重複して疑陽性となった例は6件あり、疑疾患の内訳を表2の注記に示した。なお、これらについては、表2、表4、表5の疑陽性数欄のそれぞれの項目に計上した。

疑陽性のため再採血を依頼した検体数は270件（人）で、そのうち、2022年5月30日現在267件（人）の再採血検体を回収した。再採血を依頼しても1か月以上検体が届かない場合は再依頼しているが、回収率は98.9%であった。

表2. 要精検数および疑陽性による再採血依頼数の内訳

[]: 患者数

2021年4月～2022年3月 疾患名	初回検体 6,683件			再採血検体 388件		総受付検体 7,071件		
	直接要精検数 [a]	疑陽性による 再採血依頼数 [b]	再採血率 (%)	要精検数 [c]	疑陽性による 再採血依頼数 [d]	要精検数合計 [a]+[c]	疑陽性による 再採血依頼合計 [b]+[d]	再採血率 (%)
アミノ酸代謝異常症	1 [1]	8	0.12	1	3	2 [1]	11	0.16
有機酸代謝異常症	0	7	0.10	2 [1]	0	2 [1]	7	0.10
脂肪酸代謝異常症	2	5	0.07	0	1	2	6	0.08
ガラクトース血症	0	34	0.51	2 [1]	0	2 [1]	34	0.48
先天性甲状腺機能低下症	2 [2]	114	1.71	21 [7]	12	23 [9]	126	1.78
先天性副腎過形成症 (内 出生体重2000g未満児の数)	1	77 (33)	1.15	2	15 (11)	3	92 (44)	1.30
2021年度総計 《内 疑疾患が重複している疾患数》	6 [3]	245 《6》*	3.67	28 [9]	31	34 [12]	276 《6》	3.90

* 《重複している疑疾患の内訳》

- ・メーブルシロップ尿症＋先天性副腎過形成症 3件
- ・極長鎖アシルCoA脱水素酵素欠損症＋先天性副腎過形成症 1件
- ・先天性甲状腺機能低下症＋先天性副腎過形成症 2件

表 3. 疑陽性以外の理由による再採血依頼数

依頼理由	件数
不備検体	20
血液量不足	3
生後 3 日以内の採血	1
濾紙汚染	1
哺乳不良	15
低体重	77

回収できなかった3件は、再採血検体を当所に送付せずに医療機関（小児科）において検査が行われていた例が1件、里帰り出産のため居住地の医療機関で再検査された例が1件、スクリーニング対象疾患以外の理由で死亡した例が1件であった。

(3) 疑陽性以外の理由による再採血

表 3 に疑陽性以外の理由による再採血依頼数を示した。

ろ紙の裏まで血液が十分にしみ込んでいない等の血液量不足の検体は3件であった。生後3日以内の採血であった1件は、日齢3で採血された検体であった。また、ろ紙が汚染していた例は1件であり、ろ紙の血液部分に血餅が付着していたものであった。測定値に影響が出ると考えられることから、再採血を依頼した。採血医療機関に対しては、あらためて、採血方法、採血後のろ紙の取り扱いについての注意喚起を行った。

このような検体不備のために再採血を依頼した検体は20件で、このうち再検査できたのは19件

で、回収率は95.0%であった。なお、回収できなかった1件は、NICUからの検体であった。

また、2,000 g未満の低体重児については、①生後1か月時②体重が2,500 gに達した時期③医療施設を退院する時期のうち、いずれか早い時期に再採血を依頼している[14]。2021年度の初回検体6,683件（人）のうち、低体重児は113人（1.8%）であった。このうち、35人は疑陽性として再採血を依頼した。また、1人は要精密検査となった。したがって、低体重児を理由として再採血を依頼したのは77人であった。

(4) 月および年度別推移並びに全国結果との比較

検査実施状況の月別比較、年度推移並びに全国集計[15]との比較をそれぞれ表4、表5および表6に示した。

富山県における現在までの患者発見率については、ガラクトース血症を含めた代謝異常症の患者数は14人（ヒスチジン血症除く）であり、発見率は1/32,800、先天性甲状腺機能低下症は1/2,000、先天性副腎過形成症は1/16,600となった（表6）。先天性甲状腺機能低下症の患者発見率は、全国と同様に高い。

2. 要精密検査者の検査結果

2021年度の疑陽性数は、代謝異常症（アミノ酸代謝異常症、有機酸代謝異常症、脂肪酸代謝異常症、ガラクトース血症）が58件、先天性甲状腺機能低下症が126件、先天性副腎過形成症が92件であった。このうち、精密検査の必要が認められたのは、代謝異常症8人、先天性甲状腺機能低下症23人、先天性副腎過形成症3人であった（表5）。

表 4. 月別検査実施状況

年		2021年									2022年			計	
月		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3		
受付検体総数（件）		553	537	666	619	706	619	571	590	578	531	513	588	7,071	
内 訳	初回検査数（件）	512	497	641	592	665	592	545	555	558	502	479	545	6,683	
	再採血総数（件）	41	40	25	27	41	27	26	35	20	29	34	43	388	
	採 血 回 数	2回目	33	36	22	25	38	24	23	32	19	26	33	344	
		3回目	7	4	3	2	2	3	3	3	1	3	1	9	41
		4回目以上	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	3
疑陽性数（要精検数）	アミノ酸代謝異常症	3	0	1	3	0 (1)	0	0	2	0	2	0	0	11 (1)	
	有機酸代謝異常症	1	0	0	2 (1)	3 (1)	0	0	0	0	0	1	0	7 (2)	
	脂肪酸代謝異常症	3	1	0	0 (1)	0	0	0 (1)	0	2	0 (1)	0	0	6 (3)	
	ガラクトース血症	6	5	2	0	3	2	1	2 (2)	3	4	4	2	34 (2)	
	先天性甲状腺機能低下症	11 (2)	9 (1)	9	8 (1)	12 (2)	8 (4)	13 (2)	7 (1)	7 (2)	8	12 (1)	22 (7)	126 (23)	
	先天性副腎過形成症	7	7	10	7	4	6	12 (1)	6	4 (1)	13	7 (1)	9	92 (3)	
計		31 (2)	22 (1)	22	20 (3)	22 (4)	16 (4)	26 (4)	17 (3)	16 (3)	27 (1)	24 (2)	33 (7)	276 (34)	

表 5. 先天性代謝異常等検査実施状況

区分 期間	受付総数 (件)	検査実人員数 (人)	出生数 (人)	受検率 (%)	疑陽性数			要精検数 () : 患者数		
					代謝異常症*1)	甲状腺機能低下症	副腎過形成症	代謝異常症*1)	甲状腺機能低下症	副腎過形成症
1977年度～1979年度	29,229	28,450	39,688	71.7	262	—	—	6 (4)	—	—
1980年度～1988年度	122,841	115,435	116,956	98.7	1,811	841	—	75 (27)	130 (25)	—
1989年度～2012年度	261,186	245,739	230,021	106.8	2,620	3,369	2,616	196 (9)	586 (131)	367 (14)
2013年度～2018年度	51,324	48,788	44,693	109.2	426	552	815	43 (2)	80 (33)	53 (4)
2019年度	7,582	7,165	6,579	108.9	88	113	117	11 (0)	8 (5)	8 (1)
2020年度	7,152	6,763	6,299	107.4	78	101	119	10 (2)	26 (15)	5 (0)
2021年度	7,071	6,683	6,215	107.5	58	126	92	8 (3)	23 (9)	3 (0)
計	486,385	459,023	450,451	—	5,343 *2)	5,102	3,759	349*2) (47*3)	853 (218)	436 (19)

*1) 1977年度～1993年度：アミノ酸代謝異常症4疾患+ガラクトース血症の計5疾患
1994年度～2012年度：アミノ酸代謝異常症3疾患+ガラクトース血症の計4疾患
2013年度～2017年度：アミノ酸代謝異常症5疾患+有機酸代謝異常症7疾患+脂肪酸代謝異常症4疾患+ガラクトース血症の計17疾患
2018年度～：アミノ酸代謝異常症5疾患+有機酸代謝異常症7疾患+脂肪酸代謝異常症5疾患+ガラクトース血症の計18疾患の合計件数
*2) 1977年度～1993年度に検査実施のヒスチジン血症の数（疑陽性137人、要精検39人、患者33人）を含む
*3) この他に対象疾患以外の患者24人あり（高フェニルアラニン血症18人、チロジン血症2人、G6PD異常症2人、シトルリン欠乏症2人）

表 6. マスクリーニングによる富山県および全国の患者発見状況

区 分	富 山 県				全 国			
	2021年度		1977年度～2021年度		2020年度		1977年度～2020年度	
受検者数	6,683人		459,023人		851,221人		51,922,427人	
患者数、発見率	患者数 (人)	発見率	患者数 (人)	発見率	患者数 (人)	発見率	患者数 (人)	発見率
アミノ酸代謝異常症	0	—	6 ²⁾	1/ 76,500	36	1/ 23,600	1,093	1/ 47,500
アミノ酸代謝異常症 (2疾患) ¹⁾	1	1/ 6,700	1 ³⁾	1/ 459,000 ⁶⁾	4	1/ 212,800	39	1/ 217,500 ⁹⁾
有機酸代謝異常症	1	1/ 6,700	2 ⁴⁾	1/ 30,800 ⁶⁾	53	1/ 16,100	328	1/ 25,900 ⁹⁾
脂肪酸代謝異常症	0	—	3 ⁵⁾	1/ 20,500 ⁶⁾	25	1/ 34,000	211	1/ 40,200 ⁹⁾
ガラクトース血症	1	1/ 6,700	2	1/ 229,500	24	1/ 35,500	1,383	1/ 37,500
先天性甲状腺機能低下症	9	1/ 700	216	1/ 2,000 ⁷⁾	631	1/ 1,300	18,848	1/ 2,600 ¹⁰⁾
先天性副腎過形成症	0	—	19	1/ 16,600 ⁸⁾	43	1/ 19,800	2,176	1/ 16,500 ¹¹⁾

- 1) シトルリン血症Ⅰ型、アルギノコハク酸尿症
2) 患者内訳：フェニルケトン尿症 5人、メープルシロップ尿症 1人
3) 患者内訳：シトルリン血症Ⅰ型 1人
4) 患者内訳：プロピオン酸血症 2人
5) 患者内訳：極長鎖アシルCoA脱水素酵素欠損症 3人
6) 2013年度（2014年3月）～2021年度 タンデムマス法受検者数 61,535人
7) 1980年度～2021年度 受検者数 430,573人
8) 1989年度～2021年度 受検者数 315,138人
- 9) 2011年度～2020年度 タンデムマス法受検者数 8,484,078人
10) 1979年度～2020年度 受検者数 48,579,486人
11) 1988年度～2020年度 受検者数 35,837,886人

患者と診断されたのは、シトルリン血症Ⅰ型1人、プロピオン酸血症1人、ガラクトース血症Ⅲ型保因者1人、先天性甲状腺機能低下症9人であった。さらに、検査対象疾患の関連疾患として1人が軽症高フェニルアラニン血症と診断された。

表7に要精密検査者の個別の検査状況と結果をまとめた。

精密検査が必要となった場合には、富山県先天性代謝異常等検査事業マニュアルに従い、採血医療機関への精密検査依頼時に精密検査実施医療機関（小児科）および主治医名を把握し、さらに主治医からの精密検査結果報告書により、精密検査

結果、診断名等を把握した。

精密検査結果報告書の回収率は、97.1%（33例/34例）であった。

なお、2021年度に当所に届いたフォローアップ検体[16]は、34人延べ61件であった。また、2021年度に要精密検査となった34人のうちでは、11人延べ22検体についてフォローアップ検査を行った。

表7の診断名等の欄には、精密検査結果報告書に記載されていた診断名を記した。

要精密検査者の主な症例について経過を報告する。

(1) 代謝異常症

アミノ酸代謝異常症の疑いで2人、有機酸代謝異常症の疑いで2人、脂肪酸代謝異常症の疑いで

2人、ガラクトース血症の疑いで2人の計8人が要精密検査となった。

表7に示したアミノ酸、有機酸、脂肪酸代謝異

表7. 要精密検査者の検査状況と結果(1)

疑病名	症例	患者	性別	日 齢	検 査 成 績				診断名
アミノ酸、有機酸、脂肪酸代謝異常症	1	*	男	5	Phe	157.5 nmol/ml			軽症高フェニルアラニン血症
				11	Phe	123.2 nmol/ml			
				16	Phe	133.0 nmol/ml			
	2	*	女	4	C3	7.37 nmol/ml	C3/C2	0.402	プロピオン酸血症
				6	C3	6.70 nmol/ml	C3/C2	0.417	
	3		女	4	C5	1.15 nmol/ml	C14:1	0.37 nmol/ml	異常なし
					C14:1/C2	0.0180			
	4		男	8	(C16+C18:1)/C2	0.371	C14/C3	0.934	異常なし
	5		男	5	C5OH	1.60 nmol/ml			異常なし（一過性ビオチン欠乏の疑い）
				11	C5OH	1.46 nmol/ml			
	6	*	女	5	Cit	904.7 nmol/ml			シトルリン血症Ⅰ型
ガラクトース血症	1		男	4	Gal	11.15 mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	7.68 mg/dl 正常	門脈体循環シャントあり
				10	Gal	15.16 mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	4.90 mg/dl 正常	
	2	*	女	4	Gal	2.00 mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	56.56 mg/dl 正常	GALE欠損症保因者
				7	Gal	1.84 mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	62.78 mg/dl 正常	
先天性甲状腺機能低下症	1		男	4	TSH	13.43 μ U/ml			一過性甲状腺機能低下症 疑い
				8	TSH	11.69 μ U/ml			
	2		女	5	TSH	8.45 μ U/ml			一過性甲状腺機能低下症 疑い
				12	TSH	9.79 μ U/ml			
	3	*	男	5	TSH	15.94 μ U/ml			先天性甲状腺機能低下症
				13	TSH	14.89 μ U/ml			
	4		男	4	TSH	9.79 μ U/ml			一過性甲状腺機能低下症 疑い

表 7. 要精密検査者の検査状況と結果(2)

疑病名	症例	患者	性別	年齢	検 査 成 績	診断名
先天性甲状腺機能低下症	4		男	11	TSH 13.24 μ U/ml	一過性甲状腺機能低下症 疑い
	5		女	5	TSH 13.72 μ U/ml	一過性甲状腺機能低下症 疑い
				14	TSH 12.78 μ U/ml	
	6	*	女	4	TSH 98.94 μ U/ml	先天性甲状腺機能低下症
	7		男	5	TSH 8.99 μ U/ml	先天性甲状腺機能低下症 疑い
				12	TSH 8.04 μ U/ml	
				24	TSH 8.27 μ U/ml	
	8		男	4	TSH 15.68 μ U/ml	異常なし
				9	TSH 18.47 μ U/ml	
	9		女	5	TSH 10.80 μ U/ml	高TSH血症疑い
				9	TSH 8.12 μ U/ml	
				16	TSH 8.36 μ U/ml	
	10		男	5	TSH 11.15 μ U/ml	サブクリニカル甲状腺機能低下症疑い
				14	TSH 10.06 μ U/ml	
	11	*	女	4	TSH 15.48 μ U/ml	先天性甲状腺機能低下症
				13	TSH 33.73 μ U/ml	
	12		男	5	TSH 9.74 μ U/ml	一過性甲状腺機能低下症 疑い
				11	TSH 8.77 μ U/ml	
				19	TSH 9.09 μ U/ml	
	13	*	女	4	TSH 13.54 μ U/ml	先天性甲状腺機能低下症
				10	TSH 10.21 μ U/ml	
				17	TSH 21.59 μ U/ml	

表 7. 要精密検査者の検査状況と結果(3)

疑病名	症例	患者	性別	年齢	検 査 成 績				診断名
先天性甲状腺機能低下症	14		女	4	TSH	13.96	μ U/ml		高TSH血症（偽陽性の疑い）
				13	TSH	8.05	μ U/ml		
				23	TSH	9.09	μ U/ml		
	15		女	5	TSH	18.92	μ U/ml		一過性甲状腺機能低下症
				9	TSH	21.08	μ U/ml		
	16		男	4	TSH	11.02	μ U/ml		一過性甲状腺機能低下症 疑い
				9	TSH	19.84	μ U/ml		
	17	*	女	5	TSH	15.40	μ U/ml		先天性甲状腺機能低下症
				11	TSH	36.79	μ U/ml		
	18	*	男	5	TSH	9.29	μ U/ml		先天性甲状腺機能低下症
				17	TSH	15.56	μ U/ml		
	19	*	女	4	TSH	10.63	μ U/ml		先天性甲状腺機能低下症
				10	TSH	9.24	μ U/ml		
	20	*	男	4	TSH	175.80	μ U/ml		先天性甲状腺機能低下症
	21		男	4	TSH	10.00	μ U/ml		異常なし
				8	TSH	13.03	μ U/ml		
	22		男	4	TSH	8.05	μ U/ml		異常なし
				10	TSH	9.56	μ U/ml		
	23	*	男	4	TSH	13.47	μ U/ml		先天性甲状腺機能低下症
				12	TSH	16.65	μ U/ml		
先天性副腎過形成症	1		女	4	170HP直接法	11.49	ng/ml	170HP抽出法 5.61 ng/ml	非古典型21水酸化酵素欠損症疑い
				13	170HP直接法	8.87	ng/ml	170HP抽出法 5.25 ng/ml	

表 7. 要精密検査者の検査状況と結果(4)

疑病名	症例	患者	性別	日齢	検 査 成 績				診断名
先天性副腎過形成症	2		男	4	17OHP直接法	52.29 ng/ml	17OHP抽出法	27.35 ng/ml	(日齢5)敗血症性ショックで死亡
	3		女	5	17OHP直接法	7.79 ng/ml	17OHP抽出法	4.86 ng/ml	異常なし 出生体重 2,410g
				9	17OHP直接法	7.42 ng/ml	17OHP抽出法	6.09 ng/ml	

常症欄の症例1は、フェニルケトン尿症疑いの例であり、Phe 値軽度上昇が継続していたため要精密検査となった。治療なしで経過観察されており、軽症高フェニルアラニン血症と診断された。

症例2は、メチルマロン酸/プロピオン酸血症の疑いで要精密検査となった。遺伝子解析の結果から、プロピオン酸血症と診断された。

症例3は、極長鎖アシル CoA 脱水素酵素 (VLCAD) 欠損症疑いで要精密検査となった例である。イソ吉草酸血症の検査指標である C5 も高値であったが、精密検査の結果、すべて正常であった。

症例6は、シトルリン血症 I 型疑いの例である。日齢6で検体が到着して検査を行った結果、日齢7の午前中に Cit 異常高値が判明した。ほぼ同時に医療機関からの問い合わせがあり、検査結果を連絡した。この例は、日齢6ですでに痙攣、高アンモニア血症等の症状があり、日齢7では症状が重度になっていた。精密検査の結果、シトルリン血症 I 型と診断された。

ガラクトース血症疑いの症例1は、ガラクトース高値で要精密検査となった。門脈体循環シャントがあり、経過観察されている。

症例2は、Gal-1-P が異常高値で、要精密検査となった。精密検査の結果、UDP-ガラクトース 4-エピメラーゼ (GALE) 活性が低下しており、ガラクトース血症 III 型 (GALE 欠損症) 保因者と診断された。

(2) 先天性甲状腺機能低下症

要精密検査となった23人のうち、患者と診断されたのは症例3, 6, 11, 13, 17, 18, 19, 20, 23の9人であった。

初回検体で TSH 値が異常高値となり直ちに要精密検査となった例 (直接要精検例) は症例6および20の2例であった。いずれも患者と診断された。一方、初回検体で TSH 値がカットオフ値以上であったが、再採血検体 (2回目) では初回の

TSH 値より低下はしているもののカットオフ値をわずかに超えていたことから、再々採血 (3回目) を依頼し再度確認したところ、TSH 値が上昇していたために要精密検査となった4例 (症例7, 9, 12, 14) については、いずれも精密検査実施医療機関から報告では、疾患疑い、経過観察中とのことであった。

(3) 先天性副腎過形成症

要精密検査となった3人は、いずれも出生時体重は2,000 g 以上であった。2021年度は患者は発見されなかった。

症例1は、17-OHP 値 (抽出法) の軽度上昇が持続しており、要精密検査となった。非古典型 21 水酸化酵素欠損症疑い経過観察されている。

症例2は、初回検体で 17-OHP 値が異常高値であったため直ちに要精密検査となった。結果連絡時に、敗血症性ショックのために亡くなったとの報告があった。

(4) 検査対象外疾患及び関連疾患

要精密検査となった例の中には、診断の結果、検査対象外疾患や関連疾患の患者が発見される場合がある。2021年度は、前述した軽症高フェニルアラニン血症が1人発見されており、これまでに発見された対象外及び関連疾患の患者は、高フェニルアラニン血症17人、チロジン血症2人、グルコース-6-リン酸脱水素酵素 (G6PD) 異常症2人、シトルリン欠損症2人となった。

3. 精度管理

外部精度管理は、スクリーニング検査の実施主体である各自治体が NPO 法人タンデムマススクリーニング普及協会に委託して全国的に実施されている。

2014年度より、精度試験 (Quality Control : QC) 用検体と技能試験 (Proficiency Test : PT) 用検体の2種類による精度管理 [17] が行われており、これらによる評価は、タンデムマス法の導入に伴い制定された「タンデムマス・スクリーニン

グの検査施設基準および検査実施基準」[18]に準拠しているかどうかを判断するための一手段となる。

2021年度は、PT検体による精度管理が3回(5月、7月、1月)、QC検体による精度管理が1回(10月)実施された。外部精度管理の結果については、検査精度は適正であり、正常・異常の判定も適切で、記入の誤りもなかったとの評価であった。また、QC検体の測定精度にも問題はなと判定された。

考察：2021年度は、早期に発症したシトルリン血症Ⅰ型の患者が発見された。スクリーニング結果の判明と医療機関から問い合わせがほぼ同時であり、検体到着が遅れて、検査が1日でも遅くなってしまうと、早急に対応ができなかったと考えられる。

2021年10月の郵便法改正により、土曜日配達中止とともに、本県では2022年2月14日の差し出し分から翌日配達が無効化された。そのため、採血から検体到着までの日数が以前より多少遅くなっている。本県のスクリーニングにおける対応としては、2022年3月に富山県先天性代謝異常等検査事業マニュアルを改訂して、日齢4での採血の実施を推奨、日齢8～9までには検査施設に届くよう採血後は速やかに郵送すること等を追記した。また、検体の送付方法についても、速達、書留等を利用していただくように医療機関に依頼し、検体の郵送に遅延が生じないように対応したところではあるが、早期発症例があったことから、改めて関係機関へ周知していきたい。

新生児マススクリーニングの目的は、異常を早期に発見し、その後の治療・生活指導等につなげるにより生涯にわたって障害などの発生を予防すること[19]である。異常を早期に発見し、早期診断、早期治療開始に繋げるためには、より精度の高い二次検査を導入し、疾患特異的なデータの情報を得たうえで、早期に確実に異常と判定することも必要である。当所では、そのような対象疾患についての二次検査法の検討を進めている。

新生児マススクリーニングはこのような実施体制の充実とともに、生涯にわたる障害などの発生予防事業として、母子保健対策に貢献していくものとする。

文 献

1. 雇児母発 0331 第1号 厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課長通知(平成23年3月31日)
2. 雇児母発 0707 第2号 厚生労働省雇用均等・児童家庭局母子保健課長通知(平成29年7月7日)
3. 富山県先天性代謝異常等検査事業マニュアル(第4版) <https://www.pref.toyama.jp/120101/kurashi/kenkou/kenkou/sententaisya/kj00018894.html> (2022年5月31日アクセス可能)
4. 九曜雅子, 米田 豊, 高森亮輔, 他. (2014). 富山衛研年報, 37, 25-37
5. 重松陽介, 畑 郁江, 稲岡一考. (2011). 日本マス・スクリーニング学会誌, 21 (3), 13-18
6. 藤本昭栄, 大浦敏明, 長谷 豊. (1991). 日本マス・スクリーニング学会誌, 1(1), 211-212
7. 九曜雅子, 米田 豊, 加藤丈士, 他. (2005). 富山衛研年報, 28, 23-32
8. 美澄博雄, 高坂睦年, 和田 洋, 他. (1980). 代謝異常スクリーニング研究会会報, 5, 46-47
9. 九曜雅子, 米田 豊, 前多隆志, 他. (2010). 富山衛研年報, 33, 27-39
10. 花井潤師, 福士 勝, 石毛信之, 他. (2017). 日本マス・スクリーニング学会誌, 27 (2), 41
11. とやま統計ワールド「富山県の人口と世帯」, https://www.pref.toyama.jp/sections/1015/lib/jinko/_news/jinko220401/jinko220401.pdf (2022年5月31日アクセス可能)
12. 山口清次 (2012). 新しい新生児マススクリーニング タンデムマス Q&A 2012, 厚生労働科学研究(成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業) p14
13. 市原 侃, 鈴木 健, 青木菊麿. (1998). 日本マス・スクリーニング学会誌, 8 (Supplement 2), 73-81
14. 猪股弘明, 楠田 聡, 大関武彦, 他. (2006). 日本マス・スクリーニング学会誌, 16 (3), 6-7
15. 先天性代謝異常検査等検査状況(令和2年度) 厚生労働省子ども家庭局母子保健課.

- 特殊ミルク情報, 57, 62-65
16. 九曜雅子, 米田 豊, 五十嵐 登, 他 (2009).
日本マス・スクリーニング学会誌, 19 (3),
53-62
17. 九曜雅子, 米田 豊, 西永真理, 他. (2015).
富山衛研年報, 38, 25-36
18. 日本マス・スクリーニング学会精度保証シス
テム委員会, 日本マス・スクリーニング学会
技術部会 (2013). 日本マス・スクリーニン
グ学会誌, 23 (3), 85-95
19. 子母発 0330 第2号 厚生労働省子ども家庭
局母子保健課長通知 (平成 30 年 3 月 30 日)

流産胎児の染色体分析結果(2021年度)

湊山 亜未 加藤 智子 高岡 美紗 笹島 仁

Chromosome Analysis of Abortus Cells (Apr. 2021 -Mar. 2022)

Ami MINATOYAMA, Tomoko KATO, Misuzu TAKAOKA, and Hitoshi SASAJIMA

目的：一般に自然流産胎児の約半数に、あるいはそれ以上の頻度で染色体異常が認められるとされているが、これまでの当所での経験からも同様の結果を得ている[1]。流産胎児の染色体異常の有無を検索することは、当該流産のみならず、習慣性流産、反復流産、不育症といった用語で括られる産科領域の疾患の治療および克服に、少なからず情報をもたらし、次回の妊娠およびその継続、さらには出産に向けた指針となりうる。富山県では、総合母子保健対策の一環として1973年度から染色体検査事業に取り組んでおり、血液および羊水に続いて、1975年度からは、自然流産胎児の染色体検査を実施している。2021年1月以降は自然流産胎児の染色体検査のみ取り扱っている。2021年度の流産胎児の検査状況および結果を報告する。

材料と方法：主に県内の医療機関から染色体検査依頼のあった流産胎児検体として、胎盤・絨毛組織を酵素処理法や貼り付け法により、10日間程度培養し、染色体標本を作製した。また、染色法は通常のG分染法を使用した。核型分析は可能な限り中期分裂像を5個以上、数の分析は20個以上について行った。Fluorescent in situ hybridization (FISH) 法はモザイクおよび微細な異常が疑われた場合に併用した。詳細な方法等は既報[2]に従った。

結果：流産胎児検体として、胎盤・絨毛組織、臍帯等を受け入れ、染色体核型分析検査に供している。検体受け入れ件数は、近年60件前後で推移し、2021年度は76件であった。76検体中75検体の分析を完了した。

受け入れた検体は絨毛のみが74件、絨毛+臍帯が1件、絨毛+皮膚が1件であった。流産確認時の在胎週数が記載されていた74件について、流産確認時の在胎週数を表1に示した。依頼された流産胎児の週数は6週から31週の範囲で、もっ

とも件数の多かったのは9週の22件（全体の29.7%）、次いで8週の18件（24.3%）であった。10週未満と10週以降で分けると、10週未満が51件（68.9%）、10週以降が23件（31.1%）であった。74件全体の週数の中央値（四分位範囲）は9（8-10）週であった。

検査依頼理由別の依頼件数と流産回数内訳、異常件数および染色体異常の核型を表2に示した。

検査完了した検体75件中58件（77.3%）に染色体異常が認められた。参考までに、当所での流産胎児染色体検査受付件数は、1975年以来46年間で1,058件を数えるが、分析を完了できた検体1,006件のうち、異常を確認したのは621件であり、検査完了件数に占める異常検体の確認率は61.7%となっている。

染色体異常58件の内訳は、数的異常36件、モザイク5件（47,XX,+21/46,XXや48,XY,+14,+15/47,XY,+15など）、ターナー症候群4件（45,X）、構造異常3件、3倍体5件、構造異常+数的異常4件（47,XX,16qh+,+21など）、3倍体+数的異常+モザイク1件（69,XXY/70,XXY,+2）であった。

染色体異常の有無と、依頼時の流産を含む総流産回数、検査依頼時の母体年齢、流産確認時までの在胎週数について表3に示した。総流産回数の中央値（四分位範囲）は染色体核型に異常ありの群で2（1-3）回、異常なしが1（1-2）回であった。母体年齢は異常ありが36（32-40）歳、異常なしが32（28-36）歳であり、在胎週数は異常ありが9（8-10）週で異常なしが11（8-18）週であった。

考察：検体の8割近くに染色体異常を認めたが、この割合は、多くの報告[3,4]の記述と合致していた。

染色体異常のうち、数的異常のほとんどは卵母細胞が減数分裂する際の染色体不分離が原因である。染色体不分離の発生率は、一般に母体の加齢

表 1. 検査依頼を受けた流産胎児の在胎週数

週数	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	18	19	23	31
検体数	3	8	18	22	8	2	2	1	1	2	2	1	3	1
計	51				23									

表 2. 検査依頼理由、流産回数と検査結果

依頼理由(主訴)	依頼件数	合計流産回数						異常	染色体異常の核型
		1	2	3	4	5	6		
流産原因精査	39	23	9	4	3	0	0	30	45,X[2] 46,XX/46,XY 46,XY,der(13;14)(q10;q10),+13 46,XY,der(14;21)(q10;q10),+21 47,XX,+7 47,XY,+7 47,XX,+9 47,XY,+9 47,XY,+11 47,XX,+13 47,XY,+13 47,XX,+15[2] 47,XY,+15[2] 47,XX,+16 47,XY,+16 47,XX,+17 47,XY,+18 47,XX,+21 47,XY,+21 47,XX,+21/46,XX 47,XX,+21/48,XX,+21,+22 47,XX,+22[3] 48,XX,+16,+22 48,XY,+14,+15/47,XY,+15 69,XXX
不育症	23	0	8	9	3	2	1	18	45,X 45,XY,-21 46,XY,der(13;14)(q10;q10),+13,15ps+ 46,XY,der(9)t(9;18)(p22;q22.1) 47,XX,+15 47,XY,+15 47,XY,+16 47,XX,16qh+,+21 47,XY,+18 47,XX,+21[2] 47,XY,+21 47,XX,+22 47,XY,+22[2] 69,XXX[2] 69,XXY
反復流産	6	0	6	0	0	0	0	4	45,X 46,XY,der(13)t(7;13)(p12;q22) 46,XY/46,XX
習慣性流産	3	0	0	2	0	1	0	3	46,XX,der(13)t(7;13)(p12;q22),inv(9) 47,XX,+2 47,XY,+22
胞状奇胎	2	2	0	0	0	0	0	1	69,XXX
胎児に異常有り	3	2	0	1	0	0	0	2	47,XX,+22 69,XXY/70,XXY,+2
合計	76	27	23	16	6	3	1	58	

[2]: 同一核型が2件であることを示す

※inv(9)、15ps+、16qh+は正常変異

表 3. 染色体異常と流産回数・母体年齢・在胎週数の中央値(四分位範囲)

	異常あり	異常なし	全体
流産回数	2(1-3) (n=58)	1(1-2) (n=17)	1(1-2) (n=75)
母体年齢	36(32-40) (n=58)	32(28-36) (n=17)	35(30-38) (n=75)
在胎週数	9(8-10) (n=56)	11(8-18) (n=17)	9(8-10) (n=73)

に伴い上昇することが知られている[5]。染色体異常ありとなしで母体年齢を比較すると異常ありの方が、母体年齢が高い傾向が見られる。2021 年に確認された染色体異常の過半数は数値的異常であることから、加齢による染色体不分離の増加が一因であると考えられる。

2021 年度は、培養不可により核型分析できなかった検体が1 件あった。同時期に培養開始した他の検体では問題なく分析を行えたことから、培養能力に欠ける検体であったと判断した。

従来は染色体標本作製過程において、処理するシャーレは1 つとしていたが、2016 年度より、シャーレ2 つを1 組とし、処理する方法に変更している。これにより培養能力に乏しい検体で、十分な培養に達していなくても分析が可能になり、分析不可能な検体を減らし、標本作製にかかる日数を短縮することが可能になった。

流産胎児由来細胞では血液リンパ球や羊水細胞の場合と比較して、染色体標本作製が困難な場合

が多い。培養技術、標本作成技術を改良し、さらなる核型分析の効率化と検査システム全体の迅速化の実現が望まれる。

文 献

1. 本田幸子, 品川保弘, 林美貴子 (2007). 富山衛研年報, 30, 47-52
2. 品川保弘, 高森亮輔, 林美貴子 (2012). 富山衛研年報, 35, 38-42
3. 杉浦真弓 (2005). 産婦人科治療 91 (2), 140-143
4. 小澤伸晃 (2010). 不育症治療に関する再評価と新たな治療法の開発に関する研究: 平成 21 年度総括・分担研究報告書 (研究代表者: 齊藤滋) 135-137
5. Yogo Sakakibara, Shu Hashimoto, Yoshiharu Nakaoka, et al. (2015) Nat Commun. 6, 7550

富山県におけるRSウイルス感染症の発生状況について(2021年)

高岡 美紗 田村 恒介 加藤 智子 笹島 仁

Prevalent of Respiratory Syncytial Virus Infection in Toyama Prefecture, 2021

Misuzu TAKAOKA, Kosuke TAMURA, Tomoko KATO, and Hitoshi SASAJIMA

目的：RSウイルス(RSV)感染症は、乳幼児に多くみられるRSVを病原体とする急性呼吸器感染症である。生後1歳までに50%以上、2歳までにほぼ100%の子どもが初感染を受けるとされ、乳幼児における肺炎の約50%、細気管支炎の約50～90%がRSVによるものである[1]。感染症法における5類感染症(小児科定点把握)であり、指定医療機関は毎週届出が義務付けられている[2]。

本感染症は2015年以前に秋から冬にかけて流行していたが、近年は流行時期が早くなっており、夏から秋にかけて流行する傾向にある。2021年においては、全国的に例年と異なる時期に大きな流行がみられた[3]。本報では、富山県における2021年のRSV感染症の発生状況について近年の状況と比較して報告する。

材料と方法：2018年から2021年までの期間、感染症発生動向調査により、富山県内の小児科定点医療機関29定点から報告されたRSV感染症患者の報告数、年齢を用いて集計した。

結果：

1. 報告数推移

2018年から2021年までの報告数の推移を図1に示した。2018～2019年は、流行のピークは第36週前後の9月ごろに認められた。しかし、新型コロナウイルス感染症(COVID-19)によるパンデミックが発生した2020年にはピークがみられず、全く流行が起こらなかった。一方、2021年では例年とは異なり、第11週以降から報告数が増加し、第25週(6月21日～27日)に例年の約2倍のピーク(8.79人/定点)が認められた。

2. 年齢分布

2018年から2021年までの患者年齢分布を図2に示した。2018、2019年は、1歳以下が7割、2歳以下が9割を占めた。2020年は2歳児の割合が減少し、5歳以上の割合が増加した。2021年は、1歳以下の割合が4割と例年と比べて低く、一方で2歳以上の各年齢で増加した。2021年の年齢別報告数(図3)では、2018、2019年と比較して、6ヶ月未満および6ヶ月～1歳未満では同程度、1歳では約1.5～2倍となっている。一方、2歳では

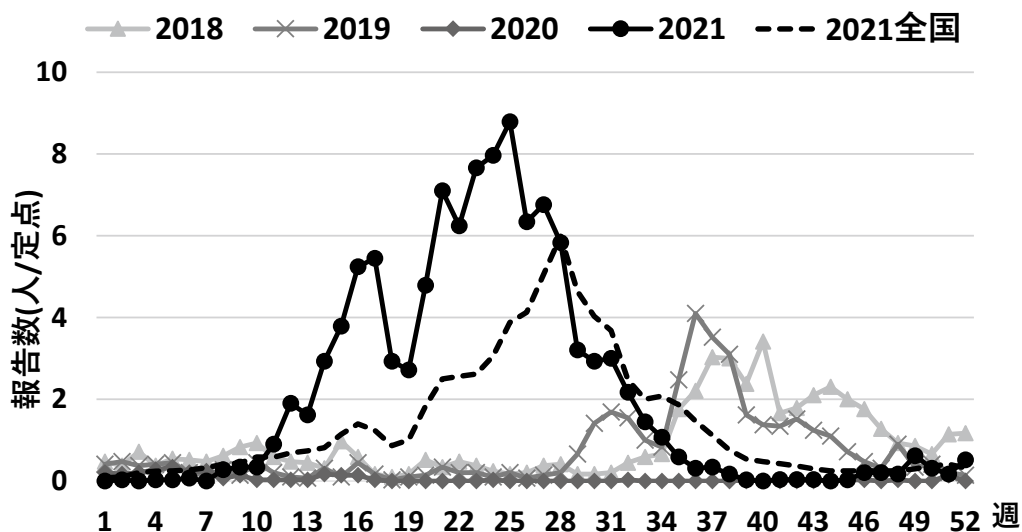


図1. RSV感染症報告数推移

約3～4倍、3歳では約6～7倍、4歳では約9倍と、2歳以上の各年齢では顕著に増加した。このことから、2歳以上の患者数の増加によって2021年の年齢分布の変化が起こったと考えられる。

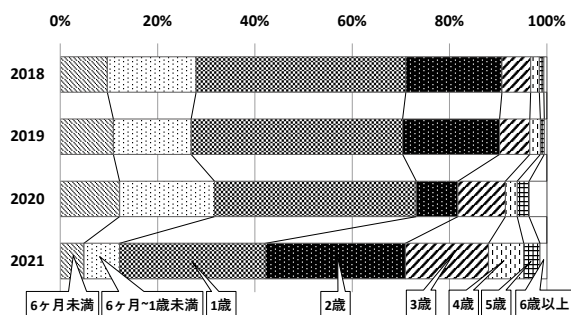


図2. RSV感染症年齢別分布

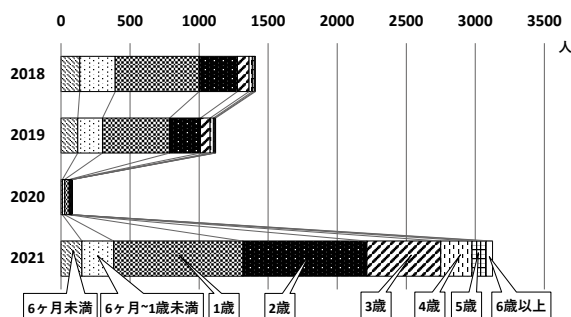


図3. RSV感染症年齢別報告数

考察：全国と同様、富山県内においても、RSV感染症の流行ピークは、2015年までは秋から冬（11月～12月）であったのが早くなってきており、近年では8月下旬から9月にピークを迎えるようになっている[1,4]。2021年はこれまでと異なり3月下旬頃から流行が始まったが、近年の流行ピークが早くなっている傾向の要因は定かではない。亜熱帯気候の沖縄県では、以前から夏に流行のピークが認められていたことから[5]、温暖化などの環境的要因や病原体による要因などの可能性も考えられるが、そのような知見は確認できていない。

2021年には、例年の約2倍の流行が認められ、2歳以上の年代で患者数が顕著に増加した。この要因として、2020年にRSV感染症の流行がなかったことが関係していると考えられる。2020年はCOVID-19のパンデミックが起り、県民に感染防止対策の徹底が浸透した。その影響で、インフルエンザなど他の呼吸器系感染症と同様、RSV感染症の流行が抑えられた可能性が考えられる。RSV感染症は1歳から2歳の間にほとん

どの子どもが初感染を受けるが、2020年においてその年代の子どもたちは、RSVの曝露をほとんど受けていないと考えられる。その結果、初感染が遅れて免疫を持たない子どもや、曝露機会の減少によってRSVに対する免疫力が低下した子どもたちの間で感染が拡大したと考えられる。

COVID-19の流行下にRSV感染症が減少し、その後例年と異なる流行が起こる現象は、日本に限らず世界各国でも報告されている[3]。オーストラリアでは、2020年のRSV感染症の流行ピークが例年より遅れ、患者年齢の中央値が例年より高くなったことが報告されている[6]。

本研究の制限として、以下3点があげられる。最初に、病原体の情報がなく、流行するウイルスの変化に関する知見が得られていない点である。二つ目に、RSVに対する抗体保有状況等の免疫に関する情報がない点である。真に2021年の大流行が、前年に流行がなく、十分な免疫を有していない乳幼児が増加した影響であることを証明できていない。最後に、RSV感染症は、小児科定点によるサーベイランスであり、成人における感染状況はわからない点である。

新型コロナウイルス感染症の流行の影響で、2021年は本感染症だけでなく様々な感染症が例年と異なる流行を示した。呼吸器感染症であるインフルエンザは、2020年以降の報告数が世界的に少ない状況が続いている[7]。また、RSV感染症と同じく5類小児定点把握疾患である手足口病およびヘルパンギーナについては、2021年に例年と異なる時期に流行が起こった[8]。今後もこれまでは異なる流行が起こる可能性を考慮し、RSV感染症の発生動向を注視していく必要がある。

謝 辞

日頃から感染症発生動向調査にご尽力いただいている県内各医療機関、富山市保健所、富山県内各厚生センター、富山県厚生部健康対策室感染症対策課の皆様に深謝いたします。

文 献

1. 国立感染症研究所. (2018). IASR, 39, 207-209
2. 厚生労働省. RSウイルス感染症. <https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekakukansenshou11/01-05-15.html> (2022年5月20日アクセス可能)
3. 国立感染症研究所. IDWR 2021年第27号<

- 注目すべき感染症＞ 直近の新型コロナウイルス感染症およびRSウイルス感染症の状況. 2021. <https://www.niid.go.jp/niid/ja/rs-virus-m/rs-virus-idwrc/10563-idwrc-2127r.html> (2022年5月20日アクセス可能)
4. 国立感染症研究所. (2022). IASR, 43, 79-81
 5. 沖縄県感染症情報センター. (2020). 沖縄県感染症発生動向調査事業報告書, 20-21
 6. Gemma L Saravanos, Nan Hu, Nusrat Homaira, et al. (2022). PEDIATRICS, 149 (2), 22-31
 7. 国立感染症研究所. (2021). IASR, 42, 259-261
 8. 国立感染症研究所. IDWR 2021 年第 43 号＜注目すべき感染症＞ 手足口病・ヘルパンギーナ. 2021. <https://www.niid.go.jp/niid/ja/hfmd-m/hfmd-idwrc/10767-idwrc-2143h.html> (2022年5月20日アクセス可能)

富山県における2021年度のウイルスおよびリケッチア検出状況

板持 雅恵 稲崎 倫子 五十嵐笑子 佐賀由美子
矢澤 俊輔 長谷川澄代 谷 英樹

Viruses and Rickettsiae Detected from Specimens of Patients in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2021

Masae ITAMUCHI, Noriko INASAKI, Emiko IGARASHI, Yumiko SAGA,
Shunsuke YAZAWA, Sumiyo HASEGAWA, and Hideki TANI

目的：富山県衛生研究所ウイルス部では、感染症発生動向調査や行政依頼検査、一般依頼検査など、種々の目的によって検査を行っている。ここでは、2021年度に検出されたウイルスおよびリケッチアの検査の概要を報告する。

材料と方法：検査は、検体の種類や状態に応じて、常法に従い実施した。

2021年4月から2022年3月までに受け付けた被検者は延べ17,538例、検体別では糞便（直腸拭い液を含む）76、鼻咽頭または鼻腔拭い液 9,603、唾液 8,000、喀痰 10、気管吸引液 1、髄液 13、尿 14、血液（全血、血漿、血清、末梢血単核球、パフィーコートなど）37、痂皮 1、水疱内容物 1の計 17,756件であった。

結果および考察：被検者 17,535例中 6,019例からウイルスあるいはリケッチアが検出された。以上の成績を臨床診断名別、患者別に表1に示し、若干の解説を加えた。

インフルエンザおよびインフルエンザ様疾患・呼吸器疾患：県内の医療機関を受診した患者6症例（鼻咽頭または鼻腔拭い液 5、髄液 1、血清 2、糞便 1）について検査を行ったが、インフルエンザウイルスは検出されなかった。インフルエンザウイルス以外では、10月に4症例からライノウイルスが検出された。うち1症例はヒトボカウイルスも同時に検出された。

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）：2021年4月～2022年3月に計 14,454例（咽頭または鼻腔拭い液 7,776、唾液 6,673、喀痰 4、気管吸引液 1）の検査を行ったところ、3,007症例から新型コロナウイルスが検出された。

新型コロナウイルス変異検査：2021年4月～

2022年3月に県内医療機関や当所における新型コロナウイルス検査により陽性となった症例のうち、863症例についてN501Y変異検査を、1,977例についてL452R変異検査を、146例についてins214EPE変異検査をそれぞれ行った。その結果、4～6月の611症例にN501Y変異（アルファ株疑い）が、7～10月の1,028症例に452R変異（デルタ株疑い）が、12～2月の316症例にL452（オミクロン株疑い）が、3月の19症例にins214EPEなし（オミクロン株BA.2疑い）が、それぞれみられた。これらのうち、669症例について次世代シーケンサーを用いたゲノム解析を行い、102症例がアルファ株（B.1.1.7系統）、245症例がデルタ株（B.1.617.2系統、AY.29系統、AY.29.1系統、AY.5系統）、271症例がオミクロン株（BA.1系統 260症例、BA.2系統 11症例）と判定された。

脳炎・脳症：計 12症例（髄液 10、血清 10、糞便 3、鼻咽頭拭い液 9、尿 5）の検査を行ったところ、1症例の血清からヒトヘルペスウイルス 6型が、1症例の糞便および鼻咽頭拭い液からパレコウイルス 1型が、それぞれ検出された。

無菌性髄膜炎：1症例（髄液 1、血清 1、鼻咽頭拭い液 1）の検査を行ったが、ウイルスは検出されなかった。

感染性胃腸炎：集団発生事例では、食中毒および有症苦情事例を含む9事例（45名、糞便 45）について検査を行ったところ、6月と1月の2事例 10名からノロウイルス GII が検出された。集団発生事例は、月別では、4月に2事例、6月に3事例、10月に1事例、12月に1事例、1月に2事例それぞれ発生した。

散発例では、小児科医療機関に受診された計 15症例（糞便 15）について検査を行い、ノロウイルス

表 1. 2021 年度 疾患別, 月別ウイルスおよびリケッチア検出状況

臨床診断名	検出病原体	2021年					2022年								合計
		4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月		
インフルエンザ・	(被検者数)	1	1					4						6	
インフルエンザ様疾患	ライノ							3						3	
	ライノ+ボカ							1						1	
新型コロナウイルス	(被検者数) ^a	2,536	1,777	556	480	2,603	624	59		105	1,327	2,457	1,930	14,454	
感染症 (COVID-19)	新型コロナ ^a	175	126	41	27	383	65	1		1	517	873	798	3,007	
新型コロナウイルス	(被検者数)	361	466	36										863	
N501Y変異検査	N501Y変異あり	227	354	30										611	
	N501Y変異なし	83	16											99	
	判定不能	51	96	6										153	
新型コロナウイルス	(被検者数)			126	181	1,061	100	5		1	429	74		1,977	
L452R変異検査	L452R変異あり				67	886	73	2			20			1,048	
	L452R変異なし			92	88	34				1	252	63		530	
	判定不能			34	26	141	27	3			157	11		399	
新型コロナウイルス	(被検者数)													146	
ins214EPE変異検査	ins214EPE変異あり													124	
	ins214EPE変異なし													19	
	判定不能													3	
脳炎・脳症	(被検者数)			3	1	2		3			1		2	12	
	ヒトヘルペス6型				1									1	
	パレコ1型					1								1	
無菌性髄膜炎	(被検者数)										1			1	
	-													0	
感染性胃腸炎 (集団)	(被検者数)	4	12					5		4	20			45	
	ノロGII ^b		2								8			10	
感染性胃腸炎 (散発)	(被検者数)	3			1	1				1	3	3	3	15	
	ノロGII	1									1		2	4	
	アデノ2型				1									1	
	サポ ^c										2			2	
麻疹	(被検者数)								1					1	
	-													0	
風疹	(被検者数)	1		1										2	
	-													0	
つつが虫病	(被検者数)	2	1			1		1						5	
(SFTS ^c , 日本紅斑熱疑い含む)	つつが虫病リケッチア	1												1	
急性肝炎	(被検者数)					1				1				2	
	-													0	
その他 ^d	(被検者数)			2			2	2	1	1		1		9	
	単純ヘルペス1型			1										1	
	RS			1										1	
	ライノ							1						1	
	サイトメガロ								1					1	
症例合計	(被検者数)	2,908	2,245	736	663	3,669	726	79	2	113	1,781	2,535	2,081	17,538	
	病原体検出者数	538	592	207	210	1,445	166	11	0	2	957	947	946	6,021	

■, 灰色の影で記した数は, 無症状の施設関係者及び接触者を含む。

a. のべ被検者数(以前検査した症例の再検査は、複数症例として計上した)。

b. ノロGII: ノロウイルスGenogroup II.

c. SFTS: 重症熱性血小板減少症候群

d. その他: 6月の2症例はそれぞれヘルペスウイルス感染症疑い, 心筋症・呼吸器疾患. 9月の2症例はそれぞれパレコウイルス感染症疑い, 心筋炎. 10月の2症例はそれぞれ自己免疫性溶血性貧血疑い, および川崎病疑い. 11月の1症例はパレコウイルス感染症疑い. 12月の1症例は敗血症様・血球貪食症候群. 2月の1症例は筋痛症.

月別被検者数は、検体採取日をもとに集計した。

ス GII が4 症例から、アデノウイルス 2 型が1 症例から、サポウイルスが2 症例からそれぞれ検出された。

麻疹：麻疹疑い例として検査依頼を受けた1 症例（咽頭拭い液 1，血清 1，尿 1）の検査を行ったが、麻疹ウイルスおよび風疹ウイルスは検出されなかった。

風疹：風疹を疑われた2 症例（咽頭拭い液 1，血漿または血漿 2，尿 1）の検査を行ったが、風疹ウイルスおよび麻疹ウイルスは検出されなかった。

つつが虫病 [マダニ咬症，重症熱性血小板減少症候群（SFTS），日本紅斑熱疑いを含む]：計 5 症例 [血液（全血，または血漿，血清，パフィーコート）8，痂皮 1] の検査を行ったところ，1 症例の血液からつつが虫病リケッチアが検出された。

急性肝炎：8 月，12 月に計 2 症例（糞便 2，鼻咽頭拭い液 2，血清 2，尿 2）について，アデノウイルスも対象に加えて検査を実施したが，ウイルスは検出されなかった。

その他：6 月にヘルペスウイルス感染症疑い 1 症

例（水疱内容物 1）の検査を行ったところ，単純ヘルペスウイルス 1 型が検出された。6 月に心筋症・呼吸器疾患 1 症例（咽頭拭い液 1，鼻腔拭い液 1）の検査を行ったところ，RS ウイルスが鼻咽頭拭い液から検出された。9 月にパレコウイルス感染症疑い（発疹症）1 症例（糞便 1，咽頭拭い液 1）の検査を行ったところ，パレコウイルスは検出されなかったが，ライノウイルスが咽頭拭い液から検出された。また，10 月に自己免疫性溶血性貧血疑い 1 症例（糞便 1，咽頭拭い液 1，血清 1，尿 1）の検査を行ったところ，サイトメガロウイルスが咽頭拭い液および尿から検出された。

謝 辞

ウイルス検査は結果が判明するまでに時間がかかりますが，感染症の発生動向を知るうえで貴重な資料となります。ご多忙の中でご理解，ご協力をいただいた多くの医療機関および防疫機関の関係各位に深くお礼申し上げます。

ウイルス性胃腸炎の集団発生事例及び散発例について (2021年度)

稲崎 倫子 頼成 明奈¹ 五十嵐笑子 矢澤 俊輔
佐賀由美子 板持 雅恵 長谷川澄代 谷 英樹

Outbreaks and Sporadic Cases of Viral Gastroenteritis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2021

Noriko INASAKI, Akina RAIJOU, Emiko IGARASHI, Shunsuke YAZAWA,
Yumiko SAGA, Masae ITAMOCHI, Sumiyo HASEGAWA, and Hideki TANI

目的：ウイルス性の感染性胃腸炎や食中毒の集団発生は、冬季を中心に多発し、ノロウイルス (NoV)、ロタウイルス、サポウイルス、アデノウイルスなどが原因ウイルスとなる。この中でも発生が多いのはNoVで、厚生労働省の食中毒統計 [1] では、患者数が最も多い。

NoV は、冬季に散発および集団発生する感染性胃腸炎の主たる原因ウイルスであり、乳幼児から高齢者までの全年齢層に経口感染する [2]。ヒトに感染するNoVは主にGenogroup I (GI) と Genogroup II (GII) に分けられる。さらに、それぞれが複数の遺伝子型に分類される [3-6]。

NoV のゲノムには3つの蛋白質コード領域 (open reading frame; ORF) が存在しており、ORF1 は非構造蛋白質、ORF2 は構造蛋白質 (VP1, カプシド)、ORF3 は構造蛋白質 (VP2) をコードしている。従来の遺伝子型判別は、主にVP1 のカプシド N/S 領域における塩基配列を元に行われてきた。しかし、NoV はORF1 の最下流に存在するRNA依存性RNAポリメラーゼ (RdRp) をコードする領域とVP1 領域の境界 (ORF1-2 ジャンクション領域) を起点とするゲノムの組み換えが多発することから、RdRp 領域およびVP1 領域のそれぞれの遺伝子型を決定する dual typing 法による遺伝子型分類法が提唱されている [7]。

NoV はヒトの小腸で増殖し、吐物や糞便中に排泄される。吐物には1 g あたり $10^3 \sim 10^6$ 個、糞便には 10^9 個ものNoVが含まれている [8]。NoV は、感染者から2週間以上にわたり排泄され [9,10]、環境中でも長期間感染性を維持するとされる。100 個以下で感染・発病させるといわれている [11]

ため、調理従事者が感染すると、その手指を介して食品がNoVで汚染され、集団食中毒を引き起こすことがある。また、ヒトから排泄されたNoVは、海に入り、カキなどの二枚貝の中腸腺に蓄積されるため [12]、二枚貝を生あるいは不十分な加熱で喫食することによって食中毒を起こすことがある。一方、NoV は食中毒のみならず、ヒトからヒトへ手指等を介して感染し、散発例、集団発生なども引き起こしている。

近年、本県ではウイルス性胃腸炎の集団発生のほとんどがNoVによるものであるため [13-26]、主にNoVを対象としたウイルス性胃腸炎の集団発生事例および散発例の調査を実施した。

材料と方法：

1. 集団発生事例

2021 年 4 月～2022 年 3 月までに当所および富山市保健所で受け付けた集団発生事例を対象とした。検体採取と疫学調査は各事例の管轄厚生センター、富山市保健所で実施した。

2. 散発例

2021 年 4 月～2022 年 3 月までに当所で受け付けた小児散発例の検体を対象とした。検体採取は感染症発生動向調査病原体定点医療機関、管轄厚生センターおよび調査に協力の得られたしんたにこどもクリニック (富山市) が実施した。

3. ウイルスの検出

病原体検出マニュアル [27] に準じ、糞便からのRNA抽出、逆転写反応を行い、リアルタイムPCR法によるNoV GI およびGII の検出を行った。陽性検体のcDNAについては、Kimura ら [28] の nested PCR 法により RdRp 領域の一部から VP1

1. 富山市保健所

表 1. NoV のPCR 法およびシーケンスに用いたプライマー

プライマー	塩基配列 (5'→3')	Polarity	Position		出典
			GI (M87661)	GII (X86557)	
1421f	ATACCACTATGATGCAGAYTA	+	4554-4572	4281-4299	[28]
NV2oR	GTRAACGCRTTYCCMGC	-		5428-5412	[28]
G1-SKR	CCAACCCARCCATTRTACA	-	5671-5653		[27]
1364f	YTCYTTCTATGGYGATGATGA	+	4858-4878	4585-4605	[28]
G2-SKR	CCRCCNGCATRHCCRTTTRACAT	-		5389-5367	[27]
COG1F	CGYTGGATGCGNTTYCATGA	+	5291-5310		[27]
COG1R	CTTAGACGCCATCATCATTYAC	-	5375-5354		[27]
G2-SKF	CNTGGGAGGGCGATCGCAA	+		5046-5067	[27]
RIGHT184	ATTCGACGCCATCTTCATTC	-		5103-5083	

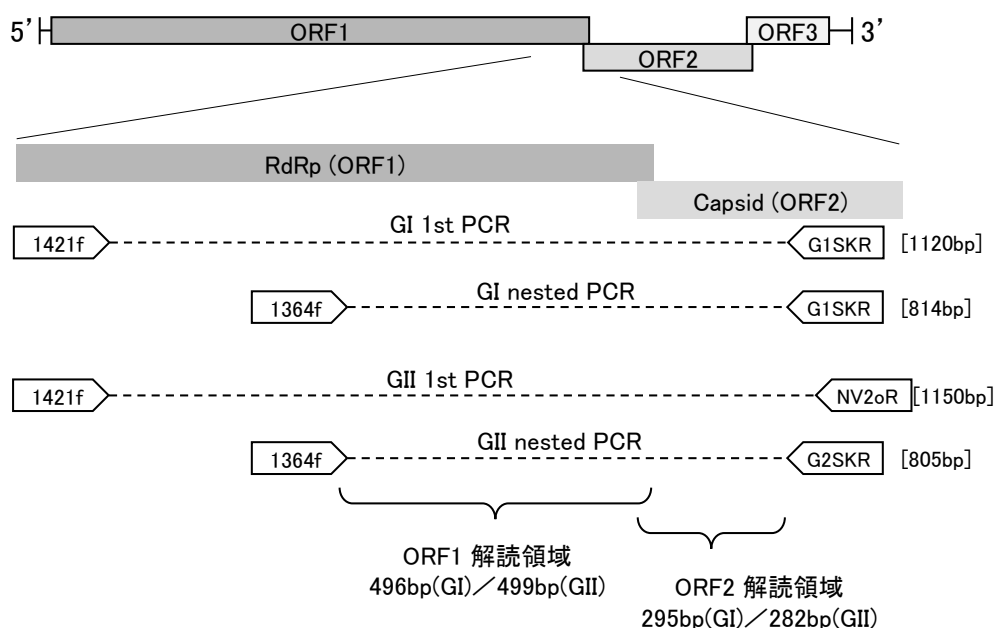


図 1. NoV のnested PCR 法に用いたプライマーの位置

表 2. 2021 年度に受け付けたウイルス性胃腸炎集団発生事例

事例No.	発生日	発生／原因施設	患者数	推定原因ウイルス	推定感染源
1	2021年 6月	保育所	12	NoV GII.2[P16]	ヒト-ヒト
2	2022年 1月	飲食店(仕出し弁当)	10	NoV GII.2[P16]	不明

表 3. 2015-2021 年度に県内で採取された NoV の dual typing 法による遺伝子型別検出状況

遺伝子群		Genogroup I						Genogroup II							
遺伝子型	カプシドN/S領域	GI.2	GI.3		GI.4	GI.6	GI.7	GII.2	GII.3	GII.4 Sydney 2012			GII.6	GII.9	GII.17
	RdRp領域	GI.P2	GI.P3	GI.P13	GI.P4	GI.P11	GI.P7	GII.P16	GII.P12	GII.P12	GII.P16	GII.P31	GII.P7	GII.P7	GII.P17
発生 年度	2015年度	1							1			14			8
	2016年度		1			1	1	8	3			3	2		2
	2017年度	1								1		13			4
	2018年度	1	1	1			2	8			1	14	2	1	1
	2019年度							12	4			2	1		
	2020年度											1			
	2021年度							3				3			
計		3	2	1	1	1	2	31	8	1	1	50	5	1	15

(数値：集団発生事例数と小児散発例症例数の合計)

領域の一部（カプシド N/S 領域）にまたがる領域の遺伝子を増幅した（図 1）。シーケンス用プライマーには、PCR に用いたプライマーに加えて、GI : COG1F, COG1R, GII : G2-SKF, RIGHT184(表 1) を用いて、ダイレクトシーケンスにより塩基配列（GI : 774bp, GII : 761bp）を決定した。加えて、2015 ～ 2020 年度に県内で採取された NoV 陽性検体についても、同様に塩基配列を決定した。

遺伝子型および亜型の判定は、Norovirus Genotyping Tool Version 2.0 (<https://www.rivm.nl/mpf/typingtool/norovirus/>) を用いて dual typing 法により行った。遺伝子型番号は、Norovirus Genotyping Tool の分類 [29] に従い、VP1 領域タイプ [RdRp 領域タイプ] の形式で表記した。また、RdRp 領域およびカプシド N/S 領域の塩基配列について、近隣結合法による系統樹解析を行った。

結果および考察：

1. 集団発生事例の概要

2021 年度に当所で受け付けた感染性胃腸炎の集団発生 9 事例のうち、2 事例からウイルスが検出された（表 2）。富山市保健所においては、ウイルス陽性事例は確認されなかった。2 事例の検出ウイルスは NoV GII であり、遺伝子型はいずれも GII.2[P16] であった。事例 No.1 は感染者の吐物や糞便で汚染された手指等を介してウイルスが伝播した可能性が考えられた。仕出し弁当店の利用者内で発生した事例 No.2 については調理従事者 1

名からも患者と同一遺伝子型のウイルスが検出されたものの、食中毒とは断定されず、感染経路は不明であった。

2. 月別発生事例数（図 2）

NoV 陽性事例の発生時期は 6 月および 1 月であり、事例数が少ないため流行時期については不明であった。1 年間の発生数は、過去 5 年間の発生数と比較すると、2016 ～ 2019 年度（年 9 ～ 16 件）と比べて大幅に少なく、2020 年度（1 件）と同程度であった。このことから、2020 年 3 月以降の COVID-19 県内流行に伴う県民の感染症対策への意識の向上や、集団胃腸炎発生事例の主な発生施設の 1 つである飲食店の利用機会の減少などの要因による NoV の集団発生事例数の減少傾向が継続していると考えられた。

3. 散発例からの遺伝子型別

2021 年度に受け付けた感染性胃腸炎の小児散発例 15 例のうち、4 例から NoV が検出された。なお、その他の検出ウイルスの詳細については別途示す [30]。検出された NoV の遺伝子型は、4 月に採取された 1 例は GII.2[P16]、1 月および 3 月に採取された 3 例は GII.4[P31] であった。

4. NoV の遺伝子解析（図 3,4）

集団事例 2 例においては、いずれも複数の患者から NoV が検出されており、NoV の塩基配列は事例内で 100% 一致していたことから、2 事例ともに患者は同じ感染源から感染したと考えられた。事例 No. 2 においては発生施設の従業員から NoV が検出されており、検出株の塩基配列は、カプシ

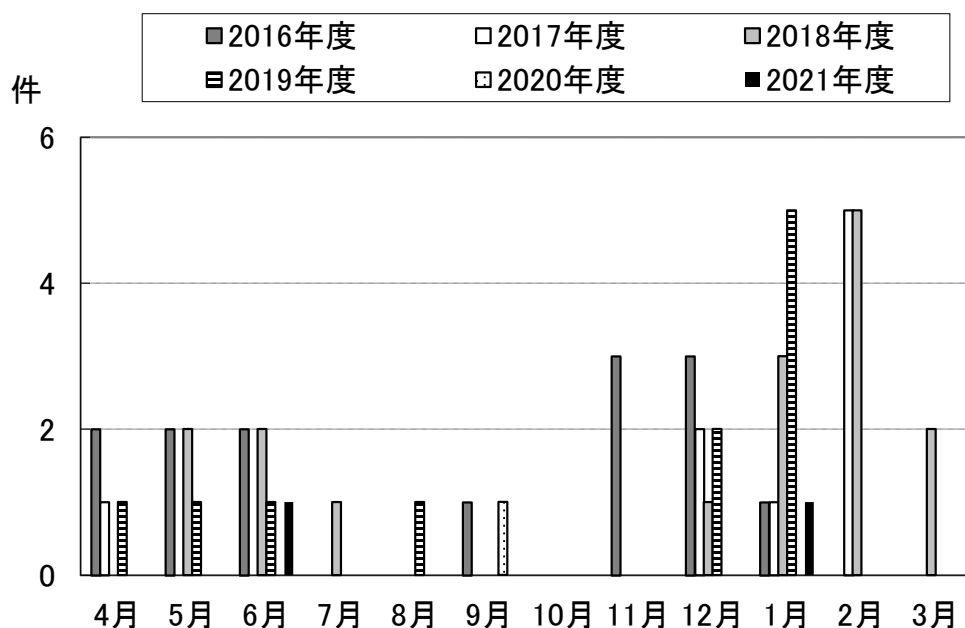


図 2. 年度ごとの月別事例発生数

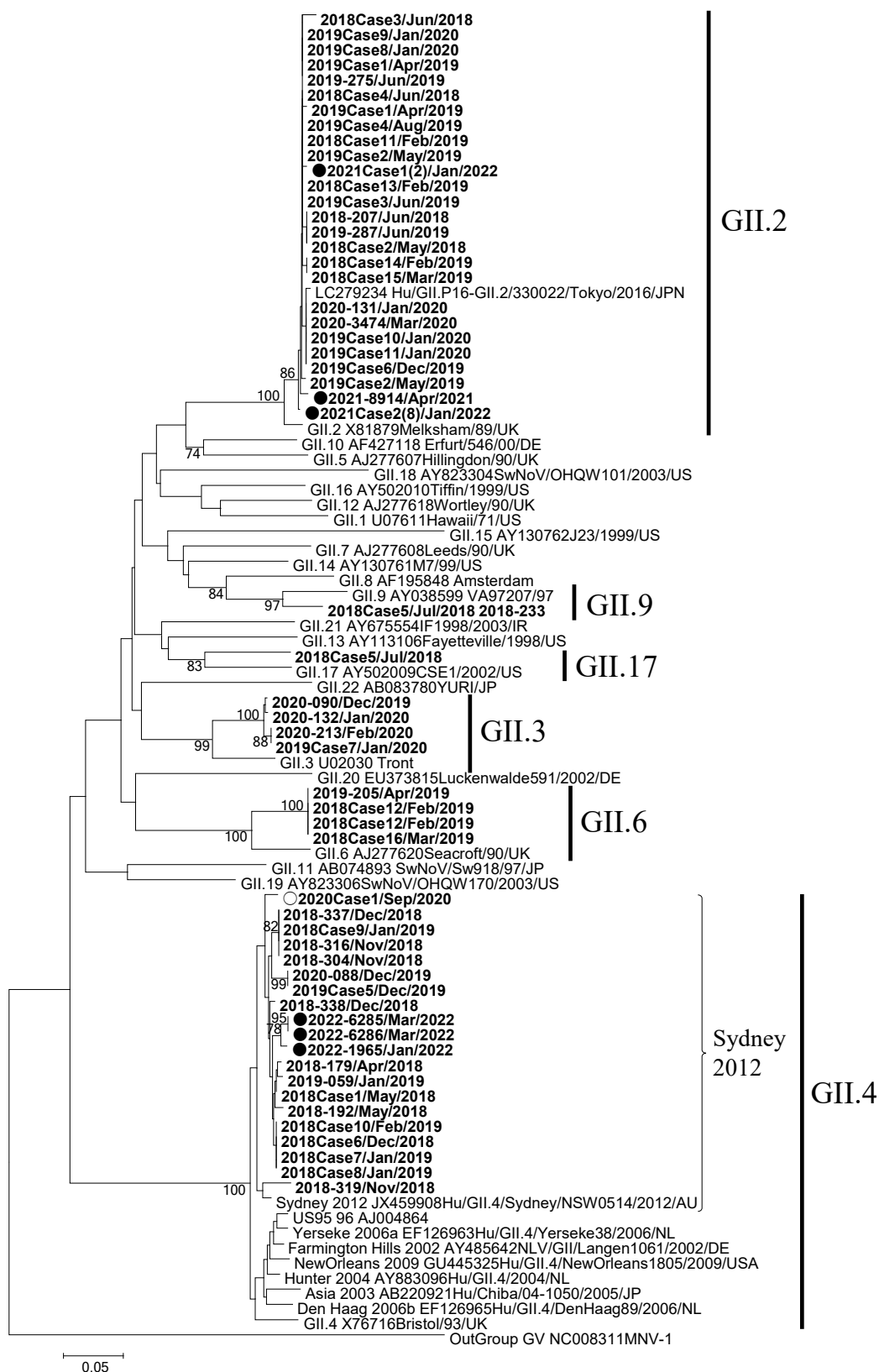


図 3. 2021 年度に得られたノロウイルス GII のカプシド N/S 領域 (282 塩基) における系統樹

分岐上の数値は、ブートストラップ値 (1000 回試行) の 70% 以上の値を示す。太字のうち●は 2021 年度検体を、○は 2020 年度検体を、その他は 2018-2019 年度検体を示す。集団発生事例の検体は「年度 - 事例番号 (2021 年度検体は検体数) / 発生月 / 年」、散发例の検体は「検体番号 / 発生月 / 年」で示す。参照株については「遺伝子型 accession no. 株名」で示す。GII.4 亜型の参照株については「亜型名 accession no. 株名」で示す。

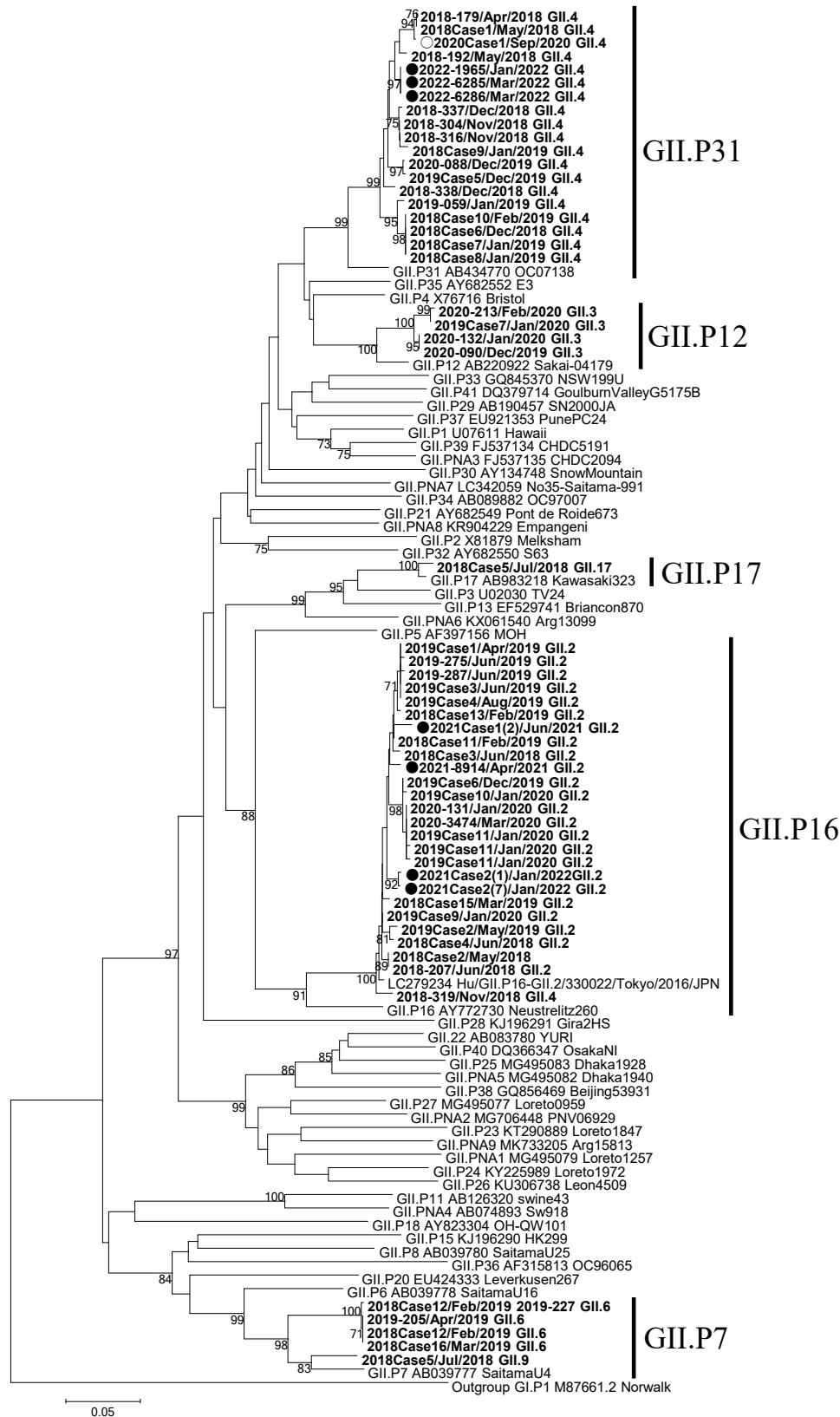


図 4. 2021 年度に得られたノロウイルス GII の RdRp 領域 (499 塩基) における系統樹

分岐上の数値は、ブートストラップ値 (1000 回試行) の 70% 以上の値を示す。太字のうち●は 2021 年度検体を、○は 2020 年度検体を、その他は 2018-2019 年度検体を示す。集団発生事例の検体は「年度 - 事例番号 (2021 年度検体は検体数) / 発生月 / 年 カプシド N/S 領域の遺伝子型」、散发例の検体は「検体番号 / 発生月 / 年 カプシド N/S 領域の遺伝子型」で示す。参照株については「遺伝子型 accession no. 株名」で示す。GII.4 亜型の参照株については「亜型名 accession no. 株名」で示す。

ド N/S 領域 (282bp) は患者株と一致したものの、RdRp 領域 (499bp) において1塩基異なっていた。このことから、従業員が患者と異なる感染源から感染した可能性も否定できないが、従業員が事例の感染源であったか同一感染源から感染しており、腸内でNoV がわずかに変異した可能性も考えられた。

GII.2[P16] 株の塩基配列は、RdRp 領域、カプシド N/S 領域ともに2016/17 年冬季に国内外で流行したGII.2 変異株 (参考株: Hu/GII.2-P16-GII.2/330022/Tokyo/2016/JPN, accession no. LC279234) [31] と近縁であった。GII.4[P31] 株のカプシド N/S 領域はSydney 2012 亜型 (標準株: Sydney/NSW0514/2012/AU, accession no. JX459908 に近縁の株) [32] に分類されたことから、2021 年度は2013 ~ 2020 年度 [18-26] に引き続きこの亜型がGII.4 の流行の中心であったと推測された。

2015 ~ 2020 年度に採取された胃腸炎集団事例および小児散発例から得られたNoV 陽性検体について dual typing 法による遺伝子型分類を行ったところ、NoV GI は6種類、NoV GII は8種類の遺伝子型が確認された (表3)。このうちカプシド N/S 領域の遺伝子型がGI.3 およびGII.4 Sydney 2012 の株についてはRdRp 領域の遺伝子型が複数確認され、これはウイルス間での遺伝子組み換えによるものと考えられた。2021 年度に確認された遺伝子型 GII.2[P16] およびGII.4[P31] は、いずれも2015 ~ 2020 年度の流行遺伝子型であり、新たな遺伝子組み換え株の流行は確認されなかった。

2021 年度に採取されたGII 株について、2018 ~ 2020 年度の県内株と共に系統樹解析を行った。その結果、2022 年1月および3月に小児散発例3症例から検出されたGII.4[P31] 株は、カプシド N/S 領域およびRdRp 領域ともに独立したクラスターを形成していたことから、この期間には小児の間でこのクラスターに属する株が流行していた可能性が考えられた。これに対して、集団事例および散発例から検出されたGII.2[P16] 株はそれぞれ異なるクラスターに分類されたことから、これらの事例の間に関連は認められなかった。

遺伝子解析により、各遺伝子型や亜型の流行状況が明らかとなった。集団発生事例では、複数の検体で遺伝子配列が一致すれば、単一暴露と推測できると考えられる。このように、遺伝子解析は、流行状況の把握、集団発生事例の原因究明などに有効であると考えられた。

謝 辞

本調査の実施にあたり、検体採取等にご協力いただきました厚生センター、富山市保健所、健康対策室、生活衛生課、感染症発生動向調査定点医療機関の関係各位ならびにしんたにこどもクリニックの新谷尚久先生に深謝いたします。

文 献

1. 厚生労働省: 食中毒統計資料. https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryou/shokuhin/syokuchu/04.html (2022 年6月28日アクセス可能)
2. 食品媒介ウイルス性胃腸炎集団発生実態調査研究班: 国立予防衛生研究所 (1995).
3. Ando T, Noel JS, Fankhauser RL. (2000) . J. Infect. Dis., 181, S336-348
4. Vinjé J, Green J, Lewis DC, et al. (2000) . Arch. Virol., 145, 223-241
5. Kawamoto H, Yamazaki K, Utagawa E, et al. (2001) . J. Med. Virol., 64, 569-576
6. Katayama K, Sirato-Horikoshi H, Kojima S, et al. (2002) . Virology, 299, 225-223
7. 片山和彦, 木村博一. ノーウォークウイルス (ノロウイルス) の遺伝子型 (2015 年改訂版). 2015. <https://www.niid.go.jp/niid/ja/id/778-disease-based/na/norovirus/idsc/iasr-news/5913-pr4274.html> (2022 年5月18日アクセス可能)
8. 西尾 治, 新川奈緒美. (2002). 日本医事新報, 4105, 6-9
9. 杉枝正明, 新川奈緒美, 大瀬戸光明, 他. (2004). 臨床とウイルス, 32, 189-194
10. Obara M, Hasegawa, S, Iwai M, et al. (2008) . J. Clin. Microbiol., 46, 3397-3403
11. Glass RI, Noel J, Ando T, et al. (2000) . J. Infect. Dis., 181, S254-261
12. 染谷雄一. (2000). ウイルス, 50, 173-184
13. 長谷川澄代, 小原真弓, 中村一哉, 他. (2008). 富山衛研年報, 31, 104-110
14. 長谷川澄代, 小原真弓, 中村一哉, 他. (2009). 富山衛研年報, 32, 90-96
15. 小原真弓, 長谷川澄代, 森岡誠二, 他. (2010). 富山衛研年報, 33, 97-102
16. 小原真弓, 森岡誠二, 小淵正次, 他. (2011).

- 富山衛研年報, 34, 74-79
17. 名古屋 (小原) 真弓, 森岡誠二, 堀元栄詞, 他. (2012). 富山衛研年報, 35, 74-79
18. 名古屋真弓, 稲崎倫子, 石田 徹, 他. (2013). 富山衛研年報, 36, 51-57
19. 稲崎倫子, 名古屋真弓, 石田 徹, 他. (2014). 富山衛研年報, 37, 53-59
20. 稲崎倫子, 森岡誠二, 稲畑 良, 他. (2015). 富山衛研年報, 38, 49-54
21. 稲崎倫子, 名古屋真弓, 森岡誠二, 他. (2016). 富山衛研年報, 39, 47-52
22. 稲崎倫子, 名古屋真弓, 森岡誠二, 他. (2017). 富山衛研年報, 40, 49-54
23. 稲崎倫子, 名古屋真弓, 森岡誠二, 他. (2018). 富山衛研年報, 41, 27-31
24. 稲崎倫子, 森岡誠二, 寫田嵩久, 他. (2019). 富山衛研年報, 42, 33-38
25. 稲崎倫子, 頼成明奈, 寫田嵩久, 他. (2020). 富山衛研年報, 43, 37-42
26. 稲崎倫子, 頼成明奈, 五十嵐笑子, 他. (2021). 富山衛研年報, 44, 83-86
27. 木村博一, 片山和彦, 大森亮介, 他. 病原体検出マニュアル ノロウイルス (第1版). <https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/Norovirus20190611.pdf> (2022年5月18日アクセス可能)
28. Nakamura K, Iwai M, Jie Zhang, et al. (2009). Jpn J Infect Dis 62 (5) : 394-398
29. Chhabra P, de Graaf M, Parra GI, et al. (2019). J Gen Virol, 100, 1393-1406
30. 板持雅恵, 稲崎倫子, 五十嵐笑子, 他. (2022). 富山衛研年報, 45, 46-48
31. Somura Y, Mizukoshi F, Nagasawa K, et al. (2018). Jpn J Infect Dis., 71 (2) , 172-173
32. van Beek J, Ambert-Balay K, Botteldoorn N, et al. (2013). Euro Surveill., 18 (1) , 8-9

ポリオ流行予測調査(2021年度)

板持 雅恵 矢澤 俊輔 五十嵐笑子 佐賀由美子
稲崎 倫子 長谷川澄代 関口 健治¹ 平 麻衣子²
伊藤 有美³ 坂井 美穂⁴ 橋本 尚人⁵ 浦野 卓也⁶
谷 英樹

Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2021

Masae ITAMOUCHI, Shunsuke YAZAWA, Emiko IGARASHI, Yumiko SAGA,
Noriko INASAKI, Sumiyo HASEGAWA, Kenji SEKIGUCHI, Maiko HIRA,
Yumi ITO, Miho SAKAI, Naoto HASHIMOTO, Takuya URANO,
and Hideki TANI

急性灰白髄炎（ポリオ）は、ポリオウイルスが中枢神経へ侵入することにより弛緩性麻痺を呈する感染症である。ヒトの腸管で増殖したポリオウイルスは糞便中に排泄され、経口感染によってヒトの間を伝播する。1988年に世界保健機関（WHO）によりポリオ根絶計画が提唱されて以来、ポリオウイルス野生株によるポリオ症例数は、当初125か国で35万例と推計されていたが、2021年には2か国（アフガニスタン、パキスタン）からの5例の報告となり、99%以下まで減少した[1]。アフガニスタンやパキスタンでは1型野生株による麻痺症例が報告されている。2型野生株は1999年以降、3型野生株は2012年11月以降報告されていない。世界ポリオ根絶認定委員会は、2015年9月、2型野生株の根絶を宣言した。

一方、ワクチン株が変異し、地域伝播することにより複数の患者に麻痺を発症させる伝播型ワクチン由来ポリオウイルス（cVDPV）による症例は2021年にはアフリカ地域や中東地域、ヨーロッパ地域の31か国で報告されている[1]。このような流行地からの野生株やcVDPVの侵入を阻止するためには、ポリオウイルスに対する高い集団免疫と、高感度のサーベイランスを維持していくことが重要であると考えられる。一方、国内では生ワクチン関連麻痺を防ぐために、2012年9月からポリオワクチンは不活化ワクチンに変更された。不活化ワクチンへの移行により集団免疫保有状況がどのように変化したかを評価することは重

要である。

富山県におけるポリオ流行予測調査は、国内のポリオウイルスの動向を監視するために、厚生労働省感染症流行予測事業の一つとして毎年実施されている。2021年度の調査内容は、下水流入水についてポリオウイルスの検索を行う「感染源調査」と、県民のポリオウイルスに対する中和抗体保有状況を調べる「感受性調査」であった。本稿では両調査結果を併せて報告する。

なお、検体を採取するにあたり、本調査の主旨およびプライバシーの保護に対する適切な予防措置が行われることなどについて説明し、承諾の得られた場合にのみ検査を行った。

感染源調査

材料と方法：2021年4月から2022年3月まで、富山県内の1下水処理場（分流式）において、月1回下水流入水を約2L採取した。下水流入水は4℃で3,000 rpm、30分間遠心し上清を回収後、「フィルター吸着溶出法」[2, 3]により濃縮した。すなわち、下水流入水遠心上清1Lに、最終濃度0.05 Mとなるように塩化マグネシウムを添加し、0.5 Nの塩酸を用いてpH 3.5に調整した。この液を陰電荷膜に加圧濾過して吸着させた後、陰電荷膜を細切し、 1.0×10^{-3} N NaOH(pH 10.5) 10 mLを添加してボルテックスミキサーによりウイルスを溶出した。溶出液を回収し、100 × TE Buffer

1. 新川厚生センター、2. 中部厚生センター、3. 高岡厚生センター、4. 砺波厚生センター、
5. 富山市保健所、6. 富山県厚生部健康対策室

表 1. 下水流入水からのウイルス分離株数

分離ウイルス	2021年												2022年			計
	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月				
ポリオ	1型															0
	2型															0
	3型															0
アデノ レオ	1型										1	1				2
	2型	1	1	1	1	5										9
	3型			1												0
計		1	1	2	1	5	0	0	0	0	0	1	1			11

表 2. ポリオウイルス（セービン株）に対する各中和抗体価の年齢区分別保有状況

1型		各中和抗体価の保有者数										抗体価4倍以上		
年齢区分	検体数													
(歳)	(人)	<4	4	8	16	32	64	128	256	≥512	保有者数	保有率(%)	平均抗体価	
0～1	12	0	0	1	0	1	0	2	4	4	12	(100)	181.0	
2～3	8	0	0	1	1	1	1	1	1	2	8	(100)	83.0	
4～9	15	1	1	2	1	5	3	1	1	0	14	(93.3)	32.0	
10～14	24	1	1	2	1	5	3	5	4	2	23	(95.8)	68.0	
15～19	11	0	0	0	2	0	3	2	2	2	11	(100)	106.0	
20～24	25	0	0	2	0	4	6	2	5	6	25	(100)	111.4	
25～29	25	1	1	1	1	4	4	5	5	3	24	(96.0)	87.9	
30～39	32	0	2	1	4	3	5	4	8	5	32	(100)	84.8	
40～49	23	3	1	4	1	2	4	4	2	2	20	(87.0)	52.0	
50～59	26	3	4	0	7	4	5	3	0	0	23	(88.5)	25.1	
60～	20	2	1	0	3	2	4	1	4	3	18	(90.0)	80.6	
合計	221	11	11	14	21	31	38	30	36	29	210	(95.0)	70.7	
(%)		(5.0)	(5.0)	(6.3)	(9.5)	(14.0)	(17.2)	(13.6)	(16.3)	(13.1)	(95.0)			

2型		各中和抗体価の保有者数										抗体価4倍以上		
年齢区分	検体数	<4	4	8	16	32	64	128	256	≥512	保有者数	保有率(%)	平均抗体価	
(歳)	(人)													
0～1	12	0	0	0	0	0	0	1	2	9	12	(100)	406.4	
2～3	8	0	0	0	0	1	2	0	0	5	8	(100)	215.3	
4～9	14	0	0	1	0	0	0	3	5	5	14	(100)	220.7	
10～14	24	1	0	3	2	5	4	8	0	1	23	(95.8)	51.8	
15～19	11	0	0	0	1	2	2	3	3	0	11	(100)	87.7	
20～24	25	0	1	0	2	7	9	3	3	0	25	(100)	54.2	
25～29	25	0	0	2	6	4	7	5	0	1	25	(100)	43.4	
30～39	32	0	0	2	7	4	8	6	5	0	32	(100)	53.8	
40～49	23	0	0	0	1	4	3	8	3	4	23	(100)	116.9	
50～59	26	1	0	0	3	4	4	5	3	6	25	(96.2)	108.4	
60～	20	6	0	0	3	3	2	1	3	2	14	(70.0)	78.0	
合計	220	8	1	8	25	34	41	43	27	33	212	(96.4)	84.2	
(%)		(3.6)	(0.5)	(3.6)	(11.4)	(15.5)	(18.6)	(19.5)	(12.3)	(15.0)	(96.4)			

3型		各中和抗体価の保有者数										抗体価4倍以上		
年齢区分	検体数	<4	4	8	16	32	64	128	256	≥512	保有者数	保有率(%)	平均抗体価	
(歳)	(人)													
0～1	12	0	0	0	0	1	2	2	1	6	12	(100)	215.3	
2～3	8	0	0	1	1	0	1	0	1	4	8	(100)	139.6	
4～9	15	2	0	2	0	2	3	3	3	0	13	(86.7)	67.5	
10～14	24	8	3	2	6	3	1	0	0	1	16	(66.7)	17.4	
15～19	11	6	0	0	1	3	0	1	0	0	5	(45.5)	36.8	
20～24	25	8	3	3	4	4	1	1	1	0	17	(68.0)	18.8	
25～29	25	6	2	6	6	2	1	2	0	0	19	(76.0)	16.0	
30～39	32	4	6	2	10	6	4	0	0	0	28	(87.5)	16.0	
40～49	23	4	6	1	2	4	3	1	2	0	19	(82.6)	21.4	
50～59	26	9	2	3	6	2	4	0	0	0	17	(65.4)	18.1	
60～	20	2	1	4	2	1	5	3	1	1	18	(90.0)	38.8	
合計	221	49	23	24	38	28	25	13	9	12	172	(77.8)	28.5	
(%)		(22.2)	(10.4)	(10.9)	(17.2)	(12.7)	(11.3)	(5.9)	(4.1)	(5.4)	(77.8)			

(pH 8.0) 100 μ L と 0.1 N 硫酸 50 μ L を加えた後、4 $^{\circ}$ C で 10,000 rpm, 30 分間遠心した。遠心上清を回収し、ポアサイズ 0.45 μ m のフィルターに濾過して得られた濾液を 100 倍濃縮下水検体とした (1 番溶出液)。同様の溶出操作を繰り返し、2 番溶出液を得た。24 穴プレートに培養した細胞 (Vero, MA104, RD, HEp-2, L20B) に、1 番溶出液は各細胞当り 5 穴、2 番溶出液は 3 穴の計 8 穴 (総計 40 穴) 接種し (180 μ L/穴)、細胞変性効果を指標にウイルスを分離した。分離株は、エンテロウイルス抗血清 (国立感染症研究所より分与、またはデンカ生研) を用いた中和試験により同定した。

結果および考察：下水流入水からは、ポリオウイルスは分離されなかった (表 1)。その他のウイルスでは、アデノウイルス 1 型、レオウイルス 2 型、および 3 型が分離された。

富山県内では、感染症発生動向調査における急性弛緩性麻痺患者が 1 名報告されたが、ウイルス検査の結果、ポリオウイルスは検出されなかった。これらのことから、県内におけるポリオウイルスや cVDPV の伝播の可能性は低いと推察された。

県内では、不活化ワクチンが導入された 2012 年 9 月以降、ポリオウイルスの検出例はないが、他県では国外で生ワクチンを接種した人や下水流入水からポリオウイルスが検出された例がある [4-6]。検出されたウイルスはすべてワクチン株であり、生ワクチン使用国からの持ち込みによると考えられている。世界で野生株、及び cVDPV の検出例や、生ワクチンの使用がある限り、本調査等によるポリオウイルス伝播の監視を継続する必要があると考えられる。

感受性調査

材料と方法：2021 年 7 月から 9 月にかけて、県内住民 0 ～ 90 歳の合計 221 名 (ポリオウイルス 2 型については 220 名) について、採血と予防接種歴の調査を行った。

中和抗体価の測定は、「感染症流行予測調査事業検査術式」[7] に準じて行った。なお、2017 年度から WHO によるポリオウイルス病原体バイオリスク管理の基本方針に基づいた調査実施要領 [8] により、2 型ポリオウイルスに対する中和抗体価は国立感染症研究所において測定されることとなっている。1 型および 3 型のポリオウイルスに

対する中和抗体価はこれまでと同様、当所において測定した。すなわち、被験血清を Eagle-MEM 培養液で 4 倍希釈し、56 $^{\circ}$ C 30 分間非働化した後、その 25 μ L を 96 穴マイクロプレート上で 2 段階希釈した。希釈血清それぞれに、100 TCID₅₀/25 μ L となるように調製した 1, 3 型のポリオウイルス (弱毒セービンウイルス) 25 μ L を加えてよく混和し、35 $^{\circ}$ C、3 時間の中和反応を行った。中和後、Vero 細胞浮遊液 (1 ～ 2 $\times 10^5$ 細胞/mL) を 100 μ L ずつ加え、35 $^{\circ}$ C、5% 二酸化炭素の条件下で培養した。細胞変性効果を 1 週間観察し、ウイルス増殖を抑制した最大血清希釈倍数を中和抗体価とした。各検体は同時に 2 穴ずつ測定した。ポリオウイルスは、国立感染症研究所から分与され、当研究所において VeroE6 細胞で 1 代継代後、さらに Vero 細胞で 1 代継代したものを使用した。

結果および考察：表 2 にポリオウイルスに対する各中和抗体価の年齢区分別保有状況を示した。4 倍以上を陽性とした抗体保有率は、全体では 2 型が 96.4% (212/220) で最も高く、次いで 1 型が 95.0% (210/221)、3 型が 77.8% (172/221) であり、ポリオウイルスに対する集団免疫は 1, 2 型については高く維持されていると考えられた。年齢区分別の抗体保有率は、1 型では 40 ～ 49 歳が 87.0%、50 ～ 59 歳が 88.5%、60 歳以上が 90.0%、4 ～ 9 歳が 93.3% であったが、それ以外の年齢区分は 95% 以上の抗体保有率であった。2 型では 60 歳以上が 70.0% であったが、それ以外の年齢区分は 95% 以上の抗体保有率であった。一方、3 型は 15 ～ 19 歳が 45.5%、50 ～ 59 歳が 65.4%、10 ～ 14 歳が 66.7%、20 ～ 24 歳が 68.0% と低く、それ以外の年齢区分が 75% 以上であった。ポリオウイルス生ワクチン接種者において、1 型、2 型に比し 3 型の抗体保有率が低いのは、これまでの全国の調査でも同様である [5]。

一方、抗体保有者の幾何平均抗体価は、全体では 1 型 70.7 倍、2 型 84.2 倍、3 型 28.5 倍であった。年齢区分別では、1 型では 50 ～ 59 歳の 25.1 倍から 0 ～ 1 歳の 181.0 倍までを示した。2 型では 25 ～ 29 歳の 43.4 倍から 0 ～ 1 歳の 406.4 倍までを示した。3 型では 25 ～ 29 歳および 30 ～ 39 歳の 16.0 倍から 0 ～ 1 歳の 215.3 倍までを示した。

表 3 にワクチン接種回数別にみた抗体保有状況を示した。4 回以上の不活化ワクチン接種者における抗体保有率は、1 型 96.3%、2 型 100%、3 型 96.3% と高かった。4 回以上の不活化ワクチン接

表 3. ワクチン接種歴別 抗体保有状況

1型		ワクチン接種歴あり										接種歴なし		接種歴不明	
年齢区分 (歳)	検体数 (人)	生2回以上		生1回		生1回不活化3回		不活化4回以上		不活化3回		回数不明		接種歴なし	
		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)
0～1	12							5 / 5	(100)	6 / 6	(100)	1 / 1	(100)		
2～3	8							8 / 8	(100)						
4～9	15							12 / 13	(92.3)	2 / 2	(100)				
10～14	24	18 / 19	(94.7)	1 / 1	(100)	1 / 1	(100)	1 / 1	(100)			1 / 1	(100)	1 / 1	(100)
15～19	11	11 / 11	(100)												
20～24	25	9 / 9	(100)									1 / 1	(100)	15 / 15	(100)
25～29	25													24 / 25	(96.0)
30～39	32													32 / 32	(100)
40～49	23	3 / 3	(100)											17 / 20	(85.0)
50～59	26													23 / 26	(88.5)
60～	20													15 / 16	(93.8)
合計	221	41 / 42	(97.6)	1 / 1	(100)	1 / 1	(100)	26 / 27	(96.3)	8 / 8	(100)	3 / 3	(100)	3 / 4	(75.0)
								80 / 82	(96.3%)					127 / 135	(94.1)

2型		ワクチン接種歴あり										接種歴なし		接種歴不明	
年齢区分 (歳)	検体数 (人)	生2回以上		生1回		生1回不活化3回		不活化4回以上		不活化3回		回数不明		接種歴なし	
		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)
0～1	12							5 / 5	(100)	6 / 6	(100)	1 / 1	(100)		
2～3	8							8 / 8	(100)						
4～9	14							13 / 13	(100)	1 / 1	(100)				
10～14	24	18 / 19	(94.7)	1 / 1	(100)	1 / 1	(100)	1 / 1	(100)			1 / 1	(100)	1 / 1	(100)
15～19	11	11 / 11	(100)												
20～24	25	9 / 9	(100)									1 / 1	(100)	15 / 15	(100)
25～29	25													25 / 25	(100)
30～39	32													32 / 32	(100)
40～49	23	3 / 3	(100)											20 / 20	(100)
50～59	26													25 / 26	(96.2)
60～	20													10 / 16	(62.5)
合計	220	41 / 42	(97.6)	1 / 1	(100)	1 / 1	(100)	27 / 27	(100)	7 / 7	(100)	3 / 3	(100)	4 / 4	(100)
								80 / 81	(98.8%)					128 / 135	(94.8)

3型		ワクチン接種歴あり										接種歴なし		接種歴不明	
年齢区分 (歳)	検体数 (人)	生2回以上		生1回		生1回不活化3回		不活化4回以上		不活化3回		回数不明		接種歴なし	
		陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)	陽性数/検査数	保有率(%)
0～1	12							5 / 5	(100)	6 / 6	(100)	1 / 1	(100)		
2～3	8							8 / 8	(100)						
4～9	15							12 / 13	(92.3)	1 / 2	(50.0)				
10～14	24	11 / 19	(57.9)	1 / 1	(100)	1 / 1	(100)	1 / 1	(100)			1 / 1	(100)	1 / 1	(100)
15～19	11	5 / 11	(45.5)												
20～24	25	6 / 9	(66.7)									0 / 1	(0)	11 / 15	(73.3)
25～29	25													19 / 25	(76.0)
30～39	32													28 / 32	(87.5)
40～49	23	3 / 3	(100)											16 / 20	(80.0)
50～59	26													17 / 26	(65.4)
60～	20													14 / 16	(87.5)
合計	221	25 / 42	(59.5)	1 / 1	(100)	1 / 1	(100)	26 / 27	(96.3)	7 / 8	(87.5)	2 / 3	(66.7)	4 / 4	(100)
								62 / 82	(75.6%)					106 / 135	(78.5)

種者で1型, または3型の抗体を持たない人がそれぞれ8歳1名と9歳1名にみられた。一方, 2回の生ワクチン接種では, 1型で97.6%, 2型で97.6%と高い抗体保有率を示したが, 3型は59.5%と1, 2型に比し低値を示した。

表4に1, 2, 3型ポリオウイルスに対する中和抗体の年齢区分別保有状況を示した。すべての型に対する抗体を保有している人の割合は, 全体では70.9% (156/220) であった。年齢区分別では, 0～1歳および2～3歳が100%と高かった。15～19歳が45.5%と比較的低い値を示したが, 同年齢層の3型に対する比較的低い中和抗体保有率(45.5%)を反映しているものと考えられた(表2)。

わが国では, ポリオワクチンは1961年に乳幼

児を対象に一斉に生ワクチンの接種が開始され, 1963年からは2回接種が定期的に行われてきた[9]。その後, 2012年9月からは不活化ワクチンの個別接種に切り替えられた[5]。不活化ワクチンの接種スケジュールは, 生後3か月以上90か月未満の間に計4回接種する。初回接種として20～56日間隔で(標準として12か月までに)3回接種し, その後追加免疫として初回免疫終了後12～18か月の間を標準として1回接種する[10]。

生ワクチンから不活化ワクチンへの移行が集団免疫へ及ぼした影響をみるために, 移行前後の年(2011～2021年)における小児(0～9歳)の抗体保有状況[11-20]を比較した。検体数は, 表5に示す計750件であり, このうち, 生ワクチン2

表 4. 1・2・3 型ポリオウイルスに対する中和抗体の年齢区分別保有状況

年齢区分 (歳)	検体数 (人)	1,2,3型 ともに 抗体陰性	中和抗体の型別保有者数						
			1型	2型	3型	1,2型	2,3型	1,3型	1,2,3型(%)
0～1	12								12 (100)
2～3	8								8 (100)
4～9	14					1	1		12 (85.7)
10～14	24					8	1	1	14 (58.3)
15～19	11					6			5 (45.5)
20～24	25					8			17 (68.0)
25～29	25					6	1		18 (72.0)
30～39	32					4			28 (87.5)
40～49	23					4	3		16 (69.6)
50～59	26			1	1	8	1		15 (57.7)
60～	20				1	2	1	5	11 (55.0)
合計 (%)	220 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (0.5)	2 (0.9)	47 (21.4)	8 (3.6)	6 (2.7)	156 (70.9)

表 5. 小児の血清検体数 (2011～2021 年)

年齢	検体数(人)										
(歳)	2011年	2012年	2013年	2014年	2015年	2016年	2017年	2018年	2019年	2020年	2021年
0	18	11	10	7	6	9	8	11 (9)	5	9	1
1	15	23	15	18	17	13	8	11 (9)	12	9	11
2	15	19	12	14	10	18	11 (10)	11 (10)	15	5	4
3	12	14	10	12	12	4	8	8 (7)	6	7	4
4	7	8	5	9	4	7	3	7 (6)	1	4	2
5	5	3	7	5	4	9	4	3	6	1(0)	4
6	2	6	2	3	9	5	2	4	2	3	2
7	6	4	5	5	6	3	6	2	6	0	2
8	2	5	1	3	1	2	2	3	6	4(3)	1
9	10	8	7	3	3	1	1	5	5	3	3

カッコ内の数値は、ポリオ 2 型の検体数

回以上接種者は267名(35.6%)、不活化ワクチン4回以上接種者は207名(27.6%)であった。図1A、1Bに2011年から2021年までの小児(0～9歳)におけるポリオワクチン接種歴、および抗体保有率のそれぞれの推移を示した。不活化ワクチン移行前の2011～2012年では、未接種者以外のすべてが生ワクチンを接種していた。不活化ワクチン移行後は、低年齢層から不活化ワクチンの接種にかわり、2021年では0～9歳のすべてが不活化ワクチンを接種していた。生ワクチンから不活化ワクチンへの切り替えにより、特に3型の抗体保有率がほぼ100%と高くなり改善した。

図2に、不活化ワクチン4回以上接種者における中和抗体価を、最終接種日からの経過月数別に示した。不活化ワクチン4回以上接種者では、1型、2型、3型ともに、接種後83か月まで、経過月数が増えるごとに中和抗体価が低くなる傾向がみ

られた。84～96か月経過後に平均抗体価が上昇したが、検体数が2名と少ないため、検体数を増やしてさらなる検討が必要と考えられる。

生ワクチンは3種類のウイルスを同時に接種するため、ウイルスの干渉作用により、2型に比べ1型、さらに3型のポリオウイルスに対する免疫が得られにくいことが報告されている[21, 22]。不活化ワクチンの臨床試験では、4回の接種で生ワクチン接種と同等の免疫原性を有した結果が報告されている[23-26]。本調査でも不活化ワクチン接種者は今のところ3型も含めて高い抗体保有率を示しているが、不活化ワクチンへの移行が接種後の持続免疫や集団免疫保有状況にどのような影響を及ぼすかは、今後も推移を見ていく必要がある。

本調査では、県内においてポリオウイルスに対する高い抗体保有率が維持されていた。しかしながら、世界で野生株の伝播が止まり、生ワクチン

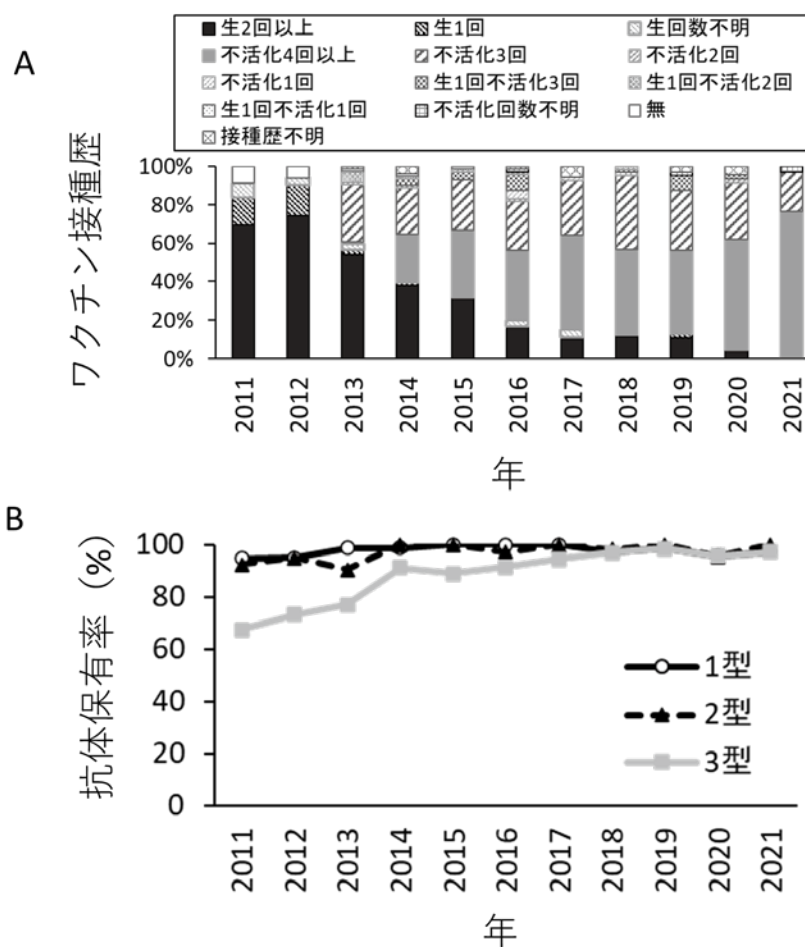


図 1. 0 ～ 9 歳の小児におけるポリオワクチン接種歴と抗体保有状況 (2011 ～ 2021 年).

A: ワクチン接種歴, B: 抗体保有率

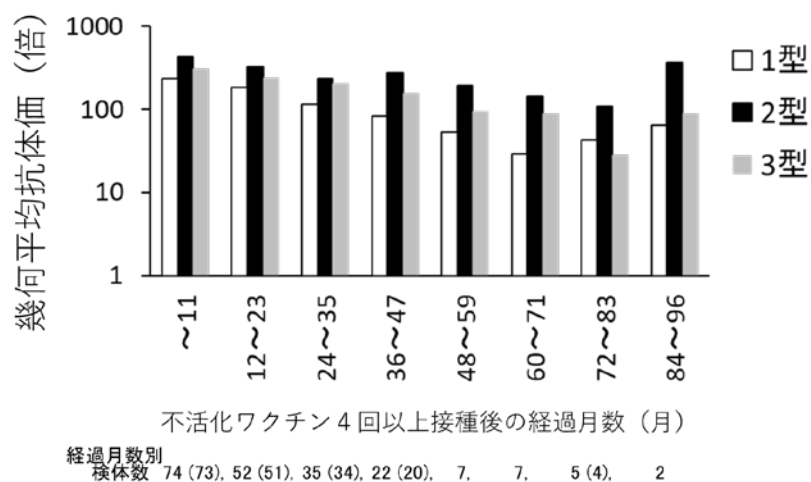


図 2. 不活化ワクチン 4 回以上接種後の平均抗体価.

* 抗体価 512 倍以上を 512 倍とし, 4 倍未満を 2 倍とした. 検体数のかっこ内の数値はポリオ 2 型の検体数.

が使用されなくなるまでは、ウイルスの侵入や地域伝播を防ぐために、今後も高い集団免疫を保ち、適切な調査体制を維持していくことが重要である。

まとめ

感染源調査：2021年4月～2022年3月に毎月1回、下水流入水についてポリオウイルスの検査を実施した。その結果、ポリオウイルスは検出されなかった。

感受性調査：2021年7月から9月に採取された0歳から90歳までの221名（2型ポリオウイルスは220名）の血清について、ポリオウイルス（弱毒セービンウイルス）に対する中和抗体価を測定した。抗体価4倍以上の抗体保有率は1型95.0%、2型96.4%、3型77.8%であった。また、抗体保有者の幾何平均抗体価は1型70.7倍、2型84.2倍、3型28.5倍を示した。

謝 辞

本調査を実施するにあたり、検体採取等にご協力いただいた医療機関、下水処理場、ポリオウイルス2型の中和抗体価を測定いただいた国立感染症研究所、その他関係各位に深く感謝申し上げます。

文 献

1. WHO (2022). Weekly epidemiological record, 97, 28-32, 157-167
2. 国立感染症研究所, 全国地方衛生研究所 (2012). ポリオウイルス感染症の実験室診断マニュアル, 28-38
3. 板持雅恵, 名古屋真弓, 稲崎倫子, 他. (2017). 富山県衛生研究所年報 (平成28年度), 40, 55-60
4. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課 (2015). 病原微生物検出情報, 36, 86-87
5. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課 (2016). 病原微生物検出情報, 37, 17-31
6. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課 (2018). 病原微生物検出情報, 39, 67-69
7. 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所流行予測調査事業委員会 (2019). 感染症流行予測調査事業検査術式, 4-21
8. 厚生労働省 (2017). 平成29年度感染症流行予測調査実施要領, 5
9. 厚生労働省, 国立感染症研究所 (2001). 感染症発生動向調査週報, 3 (26), 8-11
10. 厚生労働省 (2013). 予防接種法第5条第1項の規定による予防接種の実施について, 平成25年3月30日付健発第0330第2号厚生労働省健康局長通知, 定期接種実施要領
11. 板持 (岩井) 雅恵, 堀元栄詞, 小渕正次, 他. (2012). 富山県衛生研究所年報 (平成23年度), 35, 62-67
12. 嶋一世, 板持雅恵, 堀元栄詞, 他. (2013). 富山県衛生研究所年報 (平成24年度), 36, 100-105
13. 板持雅恵, 嶋一世, 堀元栄詞, 他. (2014). 富山県衛生研究所年報 (平成25年度), 37, 93-99
14. 長谷川澄代, 稲畑良, 小渕正次, 他. (2015). 富山県衛生研究所年報 (平成26年度), 38, 80-85
15. 板持雅恵, 稲畑良, 名古屋真弓, 他. (2016). 富山県衛生研究所年報 (平成27年度), 39, 80-84
16. 板持雅恵, 稲畑良, 稲崎倫子, 他. (2017). 富山県衛生研究所年報 (平成28年度), 40, 88-93
17. 板持雅恵, 稲崎倫子, 米田哲也, 他. (2018). 富山県衛生研究所年報 (平成29年度), 41, 78-84
18. 板持雅恵, 稲崎倫子, 米田哲也, 他. (2019). 富山県衛生研究所年報 (平成30年度), 42, 87-94
19. 板持雅恵, 稲崎倫子, 畠田嵩久, 他. (2020). 富山県衛生研究所年報 (令和元年度), 43, 74-81
20. 板持雅恵, 稲崎倫子, 畠田嵩久, 他. (2021). 富山県衛生研究所年報 (令和2年度), 44, 58-65
21. Maladonado, Y.A., Pema-Cruz, V., Sanchez, M. et. al. (1997). J. Infect. Dis., 175, 545-553
22. 土居穰, 鎗水宏, 山本浩, 他. (1993). 臨床とウイルス, 21, 123-131
23. Modlin, J.F., Halsey, N.A., Thoms, M.L. (1997). J. Infect. Dis., 175, S228-234
24. 一般財団法人阪大微生物病研究会, 田辺三菱

- 製薬株式会社 (2013) . テトラビック皮下注
シリンジ医薬品インタビューフォーム, 改訂
第4版, 14-29
25. 一般財団法人科学及び血清療法研究所, アス
テラス製薬株式会社 (2013) . クアトロバツ
ク皮下注シリンジ医薬品インタビューフォー
ム, 改訂第3版, 7-21
26. Satoh, H., Tanaka-Taya, K., Shimizu, H., et
al. (2019) . Vaccine, 37, 1964-1971

日本脳炎流行予測調査における感受性調査(2021年度)

矢澤 俊輔 長谷川澄代 佐賀由美子 五十嵐笑子
板持 雅恵 稲崎 倫子 関口 健治¹ 平 麻衣子²
伊藤 有美³ 坂井 美穂⁴ 橋本 尚人⁵ 浦野 卓矢⁶
谷 英樹

Serological Investigation of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2021

Shunsuke YAZAWA, Sumiyo HASEGAWA, Yumiko SAGA, Emiko IGARASHI,
Masae ITAMOUCHI, Noriko INASAKI, Kenji SEKIGUCHI, Maiko HIRA,
Yumi ITO, Miho SAKAI, Naoto HASHIMOTO, Takuya URANO,
and Hideki TANI

目的：本調査は、富山県住民の日本脳炎ウイルスに対する中和抗体保有状況を調べ、今後の流行の可能性を推定し、感染予防に役立てることを目的として実施した。

調査および検査方法：2021年7月から9月に、県内住民219名について採血と予防接種歴、罹患歴の調査を行った。

日本脳炎ウイルスに対する中和抗体価の測定は、peroxidase-anti-peroxidase (PAP) 法を応用したフォーカス計数法にて行った。血清を56℃、30分間非働化した後、10倍から2倍階段希釈し、100 focus forming units (FFU) /50 μL に調整したウイルス液（日本脳炎 Beijing-1 株）と等量で混合した。37℃、1時間の中和反応の後、Vero Osaka 細胞に接種した。37℃で1時間ウイルスを吸着させた後、培養液を追加し、37℃で46時間培養した。細胞を洗浄・固定後、抗日本脳炎ウイルスウサギ血清を用いたPAP法によってウイルスフォーカスを染色した。被検血清を加えていないコントロールに比較して、フォーカス数が50%以上減少した最大希釈倍数を中和抗体価とした。抗体価10倍以上を抗体陽性とした。

結果および考察：219名のうち、日本脳炎ウイルスに対する抗体陽性者は147名（67.1%）であった。図1に年齢群別の抗体保有率を示した。年齢群別に見ると、5～39歳では84.4%以上と高い抗

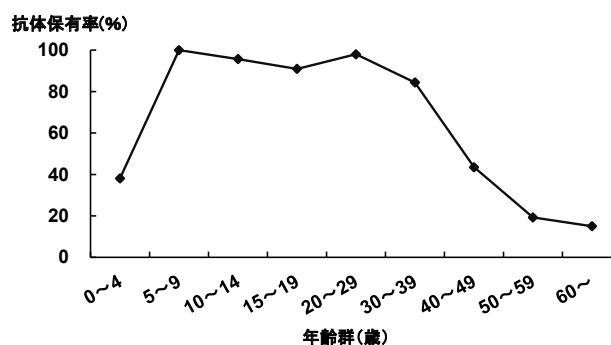


図1. 2021年度の年齢群別抗体保有率

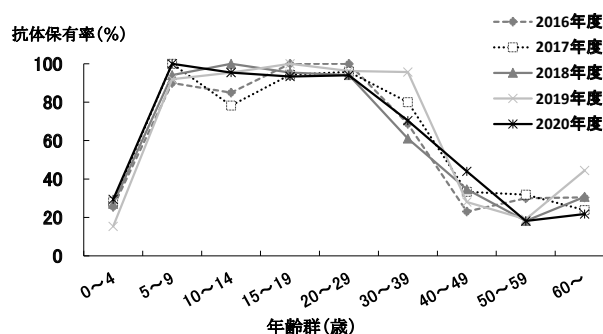


図2. 年齢群別の抗体保有率 (2016～2020年度)

体保有率を示した。これに対し、0～4歳では38.1%、40～49歳では43.5%、50～59歳では19.2%、60歳以上では15.0%と低い保有率を示す年齢群が存在した。この0～4歳の年齢群と40歳以上の年齢群で抗体保有率が低くなる傾向は、近年の富山県の結果[1-5](図2)や全国の結果[6]と

1. 新川厚生センター, 2. 中部厚生センター, 3. 高岡厚生センター, 4. 砺波厚生センター,
5. 富山市保健所, 6. 富山県厚生部健康対策室

表 1. ワクチン接種歴別の抗体保有率

年齢群 (歳)	接種歴あり		接種歴なし		接種歴不明		合計	
	陽性数/検査数	陽性率	陽性数/検査数	陽性率	陽性数/検査数	陽性率	陽性数/検査数	陽性率
0～4	9 / 9	100%	1 / 21	4.8%	0 / 4	0%	10 / 34	29.4%
0～2	0 / 0		1 / 19	5.3%	0 / 4	0%	1 / 23	4.3%
3	7 / 7	100%	0 / 0		0 / 0		7 / 7	100%
4	2 / 2	100%	0 / 2	0%	0 / 0		2 / 4	50.0%
5～9	11 / 11	100%	0 / 0		0 / 0		11 / 11	100%
10～14	20 / 20	100%	1 / 2	50.0%	0 / 0		21 / 22	95.5%
15～19	14 / 14	100%	0 / 1	0%	0 / 0		14 / 15	93.3%
20～29	14 / 15	93.3%	0 / 0		33 / 35	94.3%	47 / 50	94.0%
30～39	2 / 2	100%	0 / 0		17 / 25	68.0%	19 / 27	70.4%
40～49	0 / 0		0 / 1	0%	11 / 24	45.8%	11 / 25	44.0%
50～59	0 / 1	0%	0 / 0		4 / 21	19.0%	4 / 22	18.2%
60～	0 / 1	0%	0 / 1	0%	5 / 21	23.8%	5 / 23	21.7%
計	70 / 73	95.9%	2 / 26	7.7%	70 / 130	53.8%	142 / 229	62.0%

ほぼ同様であった。

0～4歳の乳幼児における抗体保有率が低い原因は、0～4歳の年齢群においてワクチン未接種者の割合が多いことが原因としてあげられる。日本脳炎ワクチンの標準的な接種年齢は3歳で2回（第1期）、4歳で1回（第1期追加）、9歳で1回追加（第2期）の計4回である[7]。図3に年齢群別のワクチン接種歴を、表1に年齢群別およびワクチン接種歴別の抗体保有率を示す。今回調査の0～4歳の年齢群におけるワクチン未接種者の割合は85.7%（18/21）であった（図3、表1）。また、0～4歳の年齢群では、「ワクチン接種歴なし」の抗体保有率は27.8%（5/18）であり、「ワクチン接種歴あり」の抗体保有率は100%（3/3）であった（表1）。このことから、0～4歳の年齢群においては、ワクチン未接種者がこの年齢群の抗体保有率を引き下げているといえる。

40歳以上の年齢群で抗体保有率が低い理由は、加齢に伴いワクチン効果が減弱したためと考えられる。

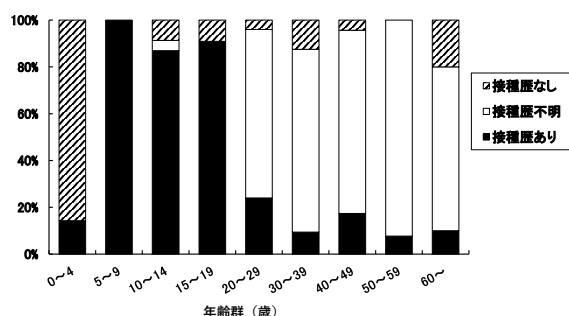


図 3. 年齢群別のワクチン接種歴 (2021 年度)

年齢群別およびワクチン接種歴別の抗体保有率（表1）を見ると、「接種歴なし」の中に抗体陽性者が13名（40.6%）存在した。いずれも「罹患歴なし」であり、不顕性感染していた可能性がある。この値は、過去5年平均（16.9%）と比較して大きく増加し、全国平均（15.3%）[6]と比較しても高いことから、今後の動向を注視していく必要がある。

富山県では1997年を最後に日本脳炎患者は発生していないが[8]、全国においては、日本脳炎ワクチン未接種の小児や高齢者からの患者発生が報告されている[6,7]。特に、2020年には隣県の石川県においても患者が発生している[9]。また、豚の抗体保有調査やウイルス分離調査において、近年も県内に日本脳炎ウイルスが存在していることが確認されている[8,10-13]。これらのことから、県内においても日本脳炎ウイルスに感染するリスクがあると推定されるため、日本脳炎の感染予防対策は継続して実施していかなければならない。したがって、引き続き感受性調査を実施し、日本脳炎ウイルスに対する抗体を保有していない者がどのくらい存在するのか把握する必要がある。

今回の調査では、例年と同様、県内においても0～4歳の小児や高齢者における抗体保有率が低いことが示された。したがって、これらの集団は日本脳炎ウイルスに感染するリスクが高いため、注意喚起が必要である。

まとめ：今回の調査では、県民の抗体保有率は67.1%であった。また、例年と同様、乳幼児および高齢者の抗体保有率が低いことが確認された。さらに、ワクチン接種歴なしの抗体陽性者が大きく増加したことから、不顕性な自然感染の可能性も含めて今後の動向に注視していく必要がある。富山県では1997年を最後に日本脳炎患者は発生していないものの[8]、近年においても県内に日本脳炎ウイルスが存在していることが確認されている[8, 10-13]。

したがって、日本脳炎ウイルスに感染するリスクの高い抗体保有率の低い年代に対して、注意喚起が必要である。

謝 辞

本調査の実施にあたり、採血にご協力いただいた方々、検体採取等にご協力いただいた医療機関の方々、その他関係各位に深謝いたします。

文 献

1. 稲崎倫子, 名古屋真弓, 長谷川澄代, 他. (2017). 富山衛研年報, 40, 84-87
2. 稲崎倫子, 青柳由美子, 米田哲也, 他. (2018). 富山衛研年報, 41, 75-77
3. 名古屋真弓, 畠田嵩久, 板持雅恵, 他. (2019). 富山衛研年報, 42, 84-86
4. 畠田嵩久, 長谷川澄代, 佐賀由美子, 他. (2020). 富山衛研年報, 43, 88-90
5. 畠田嵩久, 佐賀由美子, 五十嵐笑子, 他. (2021). 富山衛研年報, 44, 70-72
6. 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所感染症情報センター(2021). 令和元年度感染症流行予測調査報告書, 124-150
7. 国立感染症研究所 (2017). 病原微生物検出情報, 38, 151-152
8. Obara M, Yamauchi T, Watanabe M, et al. (2011). Am. J. Trop. Med. Hyg., 84, 695-708
9. 国立感染症研究所. 感染症発生動向調査週報(IDWR) <https://www.niid.go.jp/niid/ja/idwr-dl/2020.html> (2022年5月17日アクセス可能)
10. 佐賀由美子, 名古屋真弓, 稲崎倫子, 他. (2016). 富山衛研年報, 39, 69-75
11. 佐賀由美子, 名古屋真弓, 稲崎倫子, 他. (2017). 富山衛研年報, 40, 77-83
12. 佐賀由美子, 稲崎倫子, 青柳由美子, 他. (2018). 富山衛研年報, 41, 68-74
13. 佐賀由美子, 畠田嵩久, 長谷川 澄代, 他. (2021). 富山衛研年報, 44, 66-69

新型コロナウイルス感染症流行予測調査における感受性調査(2021年度)

佐賀由美子 五十嵐笑子 板持 雅恵 稲崎 倫子
 矢澤 俊輔 長谷川澄代 関口 健治¹ 平 麻衣子²
 伊藤 有美³ 坂井 美穂⁴ 橋本 尚人⁵ 浦野 卓矢⁶
 谷 英樹

Serological Investigation of Covid-19 in Toyama Prefecture
 in the Fiscal Year 2021

Yumiko SAGA, Emiko IGARASHI, Masae ITAMOCHI, Noriko INASAKI,
 Shunsuke YAZAWA, Sumiyo HASEGAWA, Kenji SEKIGUCHI, Maiko HIRA,
 Yumi ITO, Miho SAKAI, Naoto HASHIMOTO, Takuya URANO,
 and Hideki TANI

目的：本調査は、富山県住民の新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）に対する中和抗体保有状況を調べ、今後の流行の可能性を推定し、感染予防に役立てることを目的として実施した。

調査および検査方法：2021年7月から10月に、県内住民221名について採血と予防接種歴、罹患歴の調査を行った。

中和抗体価の測定は、「感染症流行予測調査事業検査術式」[1]に準じて行った。被験血清をDMEM培養液で2.5倍希釈し、56℃ 30分間非働化した後、その50 µLを96穴マイクロプレート上で2段階希釈した。希釈血清それぞれに、100 TCID₅₀/50 µLとなるように調製したSARS-CoV-2 WK-521株50 µLを加えてよく混和し、37℃、1時間の中和反応を行った。中和後、VeroE6/TMPRSS2細胞浮遊液（1×10⁵細胞/mL）を100 µLずつ加え、37℃、5% CO₂の条件下で5～6日間培養した。細胞を固定後、クリスタルバイオレットで染色・観察し、ウイルス増殖を抑制した最大血清希釈倍数を中和抗体価とした。各検体は同時に2穴ずつ測定した。SARS-CoV-2は、国立感染症研究所から分与され、当研究所においてVeroE6/TMPRSS2細胞で1代継代後、さらにVero E6/TMPRSS2細胞で1代継代したものを使用した。

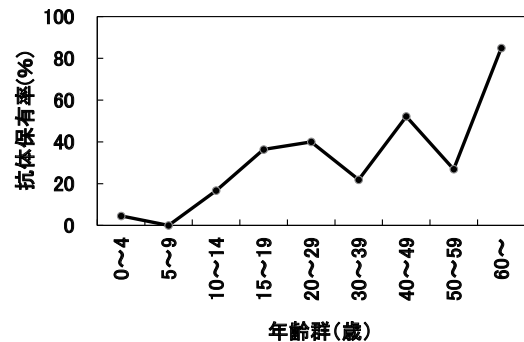


図1. 年齢群別の中和抗体保有率 (2021年度)

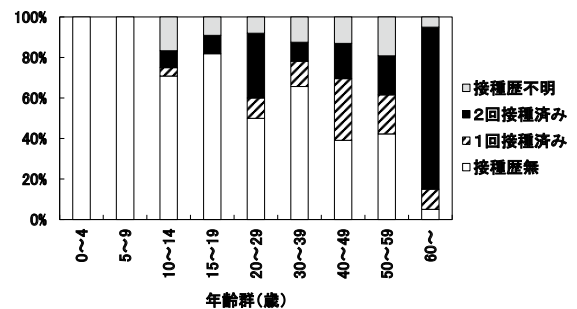


図2. 年齢群別のワクチン接種歴 (2021年度)

結果および考察：221名のうち、新型コロナウイルスに対する抗体陽性者は72名（33%）であった。図1に年齢群別の抗体保有率を示した。年齢群別に見ると、60歳以上では85%と高い抗体保有率を示した。一方、59歳以下の抗体保有率は、

1. 新川厚生センター、2. 中部厚生センター、3. 高岡厚生センター、4. 砺波厚生センター、
 5. 富山市保健所、6. 富山県厚生部健康対策室

表 1. 年齢群別およびワクチン接種歴別の中和抗体保有率

年齢群 (歳)	抗体保有者数/検体数(抗体保有率)							
	1回接種済み		2回接種済み		接種歴なし		接種歴不明	
0～4	0 / 0	-	0 / 0	-	1 / 22	(5%)	0 / 0	-
5～9	0 / 0	-	0 / 0	-	0 / 13	(0%)	0 / 0	-
10～14	1 / 1	(100%)	2 / 2	(100%)	1 / 17	(6%)	0 / 4	(0%)
15～19	0 / 0	-	1 / 1	(100%)	3 / 9	(33%)	0 / 1	(0%)
20～29	4 / 5	(80%)	16 / 16	(100%)	0 / 25	(0%)	0 / 4	(0%)
30～39	4 / 4	(100%)	3 / 3	(100%)	0 / 21	(0%)	0 / 4	(0%)
40～49	7 / 7	(100%)	4 / 4	(100%)	0 / 9	(0%)	1 / 3	(33%)
50～59	2 / 5	(40%)	5 / 5	(100%)	0 / 11	(0%)	0 / 5	(0%)
60～	0 / 2	(0%)	16 / 16	(100%)	0 / 1	(0%)	1 / 1	(100%)
計	18 / 24	(75%)	47 / 47	(100%)	5 / 128	(4%)	2 / 22	(9%)
					72 / 221	(33%)		

52%以下と低かった。特に、0～4歳では4.5%、5～9歳では0%と、極めて低い抗体保有率を示した。

図2に年齢群別のワクチン接種歴を、表1に年齢群別およびワクチン接種歴別の抗体保有率を示した。ワクチン接種歴別の抗体保有率は、「接種歴なし」が4% (5/128)、「1回接種済み」が75% (18/24)、「2回接種済み」が100% (47/47)、「接種歴不明」が9% (2/22)であった。60歳以上の年齢群で抗体保有率が高い理由は、65歳以上の高齢者へのワクチン接種が優先的に行われたためと考えられる。60歳以上のワクチン接種者の割合は90% (18/20)であった。一方、59歳以下で抗体保有率が低くなるのは、ワクチン未接種者の割合が多いことが原因であると考えられた。特に、0～4歳および5～9歳の年齢群において抗体保有率が著しく低い原因は、これらの年齢群においてワクチン接種者が存在しないためであると考えられた。2021年9月時点の新型コロナワクチンの標準的な接種年齢は12歳以上である。なお、新型コロナワクチンの接種年齢は、2022年2月より5歳以上に引き下げられた[2]。

年齢群別およびワクチン接種歴別の抗体保有率(表1)を見ると、「接種歴なし」の中に抗体陽性者が5名(3.9%)存在した。これら抗体陽性者5名に関しては新型コロナウイルスに自然感染した可能性が考えられた。これら5名の新型コロナウイルス罹患歴は、全員「なし」であったことから、不顕性感染であったと推定された。

図3にワクチン接種歴別の中和抗体保有状況を示した。抗体価40倍以上の抗体保有率は、「2回接種済み」では94% (44/47)に対し、「1回接種済み」では21% (5/24)であった。また、「接種

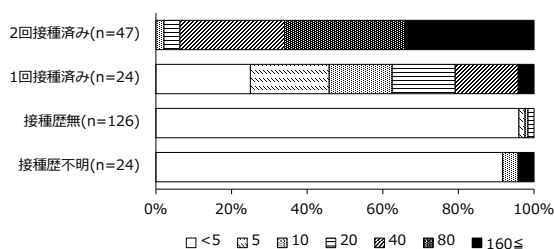


図 3. ワクチン接種歴別の中和抗体保有状況

歴なし」の抗体陽性者の抗体価は、いずれも20倍以下であった。この結果は、2回接種の抗体誘導効果は既感染や1回接種よりも高いという報告[3]と一致していた。したがって、感染および重症化予防の観点から、高い中和抗体価が得られると期待される2回以上のワクチン接種が望まれる。

富山県では2020年3月以降、32,549人の患者発生が報告されている(2022年5月5日時点)[4]。感染拡大の早期収束のために、ワクチンの追加接種や基本的感染対策は継続して実施していかなければならない。したがって、引き続き感受性調査を実施し、新型コロナウイルスに対する抗体保有率を把握する必要がある。

今回の調査では、0～9歳の小児における抗体保有率が低いことが示された。したがって、これらの集団は新型コロナウイルスに感染するリスクが高いため、注意喚起が必要である。

まとめ：今回の調査では、県民の抗体保有率は32.6%であった。また、ワクチン接種が進んでいない12歳以下で抗体保有率が低く、ワクチン接種が優先的に行われた高齢者の抗体保有率が高いことが確認された。さらに、不顕性な自然感染をしている人がいることも推定された。現在、3回

目接種や小児（5～11歳）への接種も進められているが、新型コロナウイルスに感染するリスクの高い抗体保有率の低い年代や重症化しやすい年代に対して、引き続き注意喚起が必要である。

謝 辞

本調査を実施するにあたり、検体採取等にご協力いただいた医療機関、その他関係各位に深謝いたします。

文 献

1. 厚生労働省健康局結核感染症課，国立感染症研究所流行予測調査事業委員会．令和3年度感染症流行予測調査事業検査術式，60-67
2. 厚生労働省．5歳から11歳のお子様と保護者の方へ 新型コロナワクチン接種についてのお知らせ．2022.<https://www.mhlw.go.jp/content/000896558.pdf> (2022年5月24日アクセス可能)
3. 国立感染症研究所．新型コロナワクチンの有効性を検討した症例対照研究の暫定報告（第一報）．2021. <https://www.niid.go.jp/niid/ja/2019-ncov/2484-idsc/10614-covid19-55.html> (2022年5月24日アクセス可能)
4. 富山県健康対策室．新型コロナウイルス感染症の県内における発生状況．2022. <https://www.pref.toyama.jp/120507/kurashi/kenkou/kenkou/covid-19/kj00021798.html> (2022年5月24日アクセス可能)

伴侶動物の重症熱性血小板減少症候群ウイルス感染状況調査(2021年度)

佐賀由美子 矢澤 俊輔 稲崎 倫子 板持 雅恵
五十嵐笑子 長谷川澄代 谷 英樹

Survey of Severe Fever Thrombocytopenia Syndrome Virus Infection in Companion Animals in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2021

Yumiko SAGA, Shunsuke YAZAWA, Noriko INASAKI, Masae ITAMOCHI,
Emiko IGARASHI, Sumiyo HASEGAWA, and Hideki TANI

重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) は、2011年に中国の研究者より報告されたフェニキュウイルス科バンダウイルス属に属するSFTSウイルス (SFTSV) によるマダニ媒介性感染症である[1]。国内では2013年に初めて患者が報告[2]されて以降、西日本を中心に年間50～100症例程度の患者が報告されている。富山県では、未だSFTS症例の報告はないが、隣県の石川県では2名のSFTS症例が報告されている[3]。SFTSの国内における致死率は27%と高く[4]、流行地域において公衆衛生上重要な問題となっている。

近年、SFTSVに感染したネコやイヌ等の伴侶動物の咬傷や体液を介してヒトに感染したと推定されるSFTS症例が報告されている[4-6]。このため、ヒトにおけるSFTSV感染リスクを検討する際には、SFTSを発症したネコなどの伴侶動物を介した感染も考慮する必要がある。

そこで、本県の伴侶動物のSFTSV感染状況を把握することを目的として、県内動物病院を受診した伴侶動物のSFTSV抗体保有状況について調査した。

材料と方法：2021年10月～2022年2月に県内動物病院2施設を受診したイヌ57頭およびネコ15頭の血清を材料とした(表1)。SFTSVに対するIgG抗体の検出は、国立感染症研究所獣医科学部のプロトコルに準じた酵素免疫測定法

(ELISA) または間接蛍光抗体法 (IFA) により実施した。IFA法の抗原は、SFTSV YG-1株感染VeroE6細胞を用い、抗体価10倍以上を陽性とした。

結果：イヌ57検体およびネコ15検体についてIFA法またはELISA法でSFTSVに対するIgG抗体検出を行ったところ、いずれも抗体陰性であった。

考察：今回の調査では、SFTSVに対する抗体を保有するイヌおよびネコは確認されなかった。また、本県では未だヒトのSFTS症例は報告されていない。さらに、当所のこれまでの調査では、野生動物やマダニ類からSFTSVの抗体や遺伝子は検出されていない。しかしながら、国立感染症研究所が実施した調査では、県内の猟犬から抗体が検出された報告[7]があることから、県内にSFTSVが存在する可能性は否定できない。また、隣県の石川県では既に2例のSFTS症例が報告されており、イノシシ等の野生動物の移動に伴ってSFTSVが県内に浸淫している可能性も考慮する必要がある。特に、2021年には千葉県や静岡県、愛知県で初めてヒトのSFTS症例が報告されており[8-10]、これまで報告のない地域もSFTS症例が発生する可能性を念頭に置いておかなければならない。

表 1. SFTSV 抗体検査に供したイヌおよびネコの概要

動物種	検体数	動物病院(所在地)		SFTSを疑う症状		年齢(推定年齢を含む)					屋外行動			ダニ予防薬		抗体検査法	
		A(富山市)	B(高岡市)	有	なし	0	1～5	6～10	11～	不明	有	なし	不明	有	なし	IFA	ELISA
イヌ	57	13	44	0	57	4	9	17	26	1	47	3	7	28	29	19	38
ネコ	15	3	12	0	15	6	5	2	2	0	6	9	0	3	12	0	15
合計	72	16	56	0	72	10	14	19	28	1	53	12	7	31	41	19	53

これらのことから、伴侶動物のSFTSV 感染状況を把握するためには、継続して調査を実施する必要があると考えられた。抗体調査のための検体を採取する定点動物病院の数を現在の2 施設から増やし、県内の広い地域から検体を集める予定にしている。さらに、抗体保有状況に加え、伴侶動物のSFTS 発症状況についても把握することを目的に、今後は、県内の全動物病院に対し、SFTS を疑う症状を呈する伴侶動物の検体の提供を依頼することを検討している。

謝 辞

本調査の実施にあたり、検体採取等にご協力いただいた関係各位に深謝いたします。

文 献

1. Yu XJ, Liang MF, Zhang SY, et al. (2011). N. Engl. J. Med., 364, 1523-1532
2. Takahashi T, Maeda K, Suzuki T, et al. (2014). J. Infect. Dis., 209 (6) , 816-827
3. 国立感染症研究所. 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS). 1998. <https://www.niid.go.jp/niid/ja/sfts/3143-sfts.html> (2022 年 5 月 24 日アクセス可能)
4. Kobayashi Y, Kato H, Yamagishi T, et al. (2020). Emerg. Infect. Dis., 26 (4) , 692-699
5. Yamanaka A, Kirino Y, Fujimoto S, et al. (2020). Emerg. Infect. Dis., 26 (12) , 2994-2998
6. Kida K, Matsuoka Y, Shimoda T, et al. (2019). Jpn. J. Infect. Dis., 72, 356-358
7. 森川 茂, 宇田晶彦, 加来義浩, 他. (2013). IASR, 34, 303-304
8. 平良雅克, 追立のり子, 西嶋陽奈, 他. (2021). IASR, 42, 150-152
9. 伊藤 雅, 安達啓一, 廣瀬絵美, 他. (2021). IASR, 42, 232-233
10. 国立感染症研究所. 感染症発生動向調査週報. 1998. <https://www.niid.go.jp/niid/ja/idwr.html> (2022 年 5 月 24 日アクセス可能)

富山県における新型コロナウイルス行政検査に関する実態調査

板持 雅恵 佐賀由美子 五十嵐笑子 稲崎 倫子
矢澤 俊輔 高田 嵩久 長谷川澄代 大石 和徳
谷 英樹

SARS-CoV-2 Testing by the Government in Toyama Prefecture

Masae ITAMOCHI, Yumiko SAGA, Emiko IGARASHI, Noriko INASAKI,
Shunsuke YAZAWA, Takahisa SHIMADA, Sumiyo HASEGAWA, Kazunori OISHI,
and Hideki TANI

地方衛生研究所は、病原体検査による科学的根拠を提示するなど、衛生行政および自治体の感染症健康危機対応の一翼を担っている。加えて、2016年4月の改正感染症法施行により法的根拠が付与された病原体情報の収集についても、役割を果たすことが求められている。感染症に関する健康危機管理において、2020年1月以降、世界的に流行した新型コロナウイルス感染症(COVID-19)のウイルス検査対応は最優先業務となった。新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)に限らず、病原体検査には精度と迅速性が求められる。

COVID-19の流行拡大に伴い、SARS-CoV-2の行政検査に関わる施設は、地方衛生研究所の他、保健所や民間検査所、大学、医療機関等、多くの施設に拡大した。SARS-CoV-2の行政検査には、病原体診断として実施されている通常検査PCR検査の他、陽性検体については、変異PCR検査や次世代シーケンサーを活用したゲノム解析が実施されており、検体の収集や、検体の情報、検査精度等について、検査に関わる施設間の連携が課題となっている。

そこで、今回、富山県におけるSARS-CoV-2検査の実態と、検査に関わる保健所や民間検査所と富山県衛生研究所との連携例について調査することにより、今後の検査体制の充実や健康危機対応力強化に資することを目的とした。

方法：

1. 調査対象機関

富山県内関係機関

2. 調査期間

2020年1月～2022年3月

3. 調査内容

3-1 SARS-CoV-2 検査実績

富山県内の厚生センター・保健所、富山県衛生研究所、民間検査所、医療機関において、行政検査として実施したPCR検査（通常検査および変異検査）、抗原検査、ゲノム解析検査数、実施日、実施機関数について、富山県厚生部健康対策室からの公表資料や、G-MISの集計資料、聞き取りにより情報を得た。

3-2 SARS-CoV-2 検査機関の連携

富山県における厚生センター・保健所および民間検査機関と衛生研究所における連携例についてまとめた。

結果：

1. SARS-CoV-2 検査実績

1-1 PCR 検査（通常検査）

図1に、富山県におけるSARS-CoV-2検査数の推移を示す。富山県では2020年1月30日からSARS-CoV-2の検査を実施している。2020年1～4月の流行初期は富山県におけるSARS-CoV-2 PCR検査のほとんどが衛生研究所で実施された。2020年4月28日からは、大学、厚生センター・保健所、医療機関で検査が実施され、また民間検査所への委託検査が開始された。2020年5月以降、COVID-19流行の拡大に伴い、衛生研究所以外の検査機関による検査数が増え、県全体の検査数に占める衛生研究所の検査数の割合は減少した（図1A, 1B）。2020年10月以降は、民間検査所や医療機関での検査が大部分を占めた。

2020年1月から2022年3月までに富山県において実施された計213,785件のPCR検査のうち、衛生研究所での検査数は、26,045件（17%）で

あった。その他の行政機関（厚生センター・保健所実施分および民間検査所委託）での検査数は32,646件（21%）、医療機関での検査数は95,270件（62%）であった。一方、医療機関で実施された抗原検査数は59,824件であり、合計で153,785件の行政検査が実施された。

富山県内においてもSARS-CoV-2の感染者は継続的に増加したため（図2）、迅速な病原体診断のために、検査機関の拡充が必要であった。

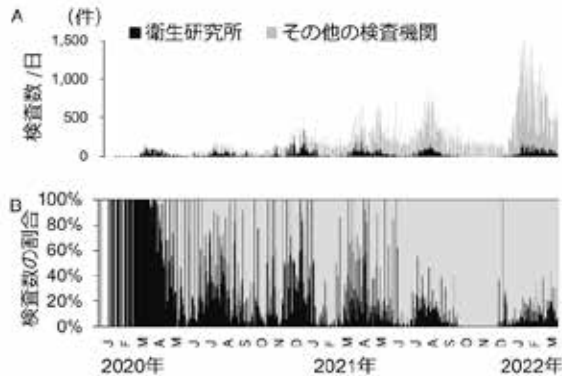


図1. SARS-CoV-2 検査数の推移（富山県）

A, 富山県衛生研究所とその他検査機関における日毎の検査数。B, 富山県の行政検査数全体に占める衛生研究所の検査数の割合。

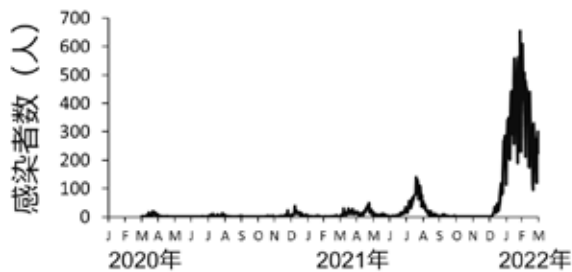


図2. SARS-CoV-2 感染者数（富山県）

1-2 変異検査（N501Y, L452R）

「新型コロナウイルス感染症の積極的疫学調査におけるゲノム解析及び変異株PCR検査について（要請）」（2021年2月5日健感発0205第4号）に準じ、2021年2月以降、アルファ株、デルタ株、またはオミクロン株の鑑別用にリアルタイムPCRによるN501Y変異検査またはL452R変異検査を実施した。富山県ではほぼすべての変異検査を衛生研究所で実施しており、民間検査所等への委託は行っていない。

変異検査の対象となる陽性検体は、それぞれの変異株がほぼ100%になるまでの期間においては、検査可能な全例を対象とし、医療機関や厚生セン

ター・保健所、民間検査所で判明した陽性検体を、保健所または民間検査所から衛生研究所へ搬入した。変異株がほぼ100%となった後は、医療機関や民間検査所での陽性検体の変異検査を中止し、厚生センター・保健所および衛生研究所の検査で陽性と判明した検体に限り、変異検査の対象とした。

富山県におけるN501Y変異検査は2021年2月から6月まで932件、11月に1件実施した。L452R変異検査は、2021年6月から2022年3月に1,976件実施した（図3）。

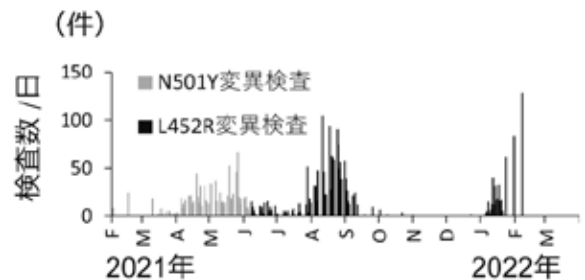


図3. 富山県におけるSARS-CoV-2 変異検査実施数の推移

1-3 ゲノム解析実施数の推移

SARS-CoV-2のゲノム解析は、Ct値30未満のウイルス量の多い検体や、疫学リンクのない検体を主な対象として実施されている。富山県では、2020年3月30日の富山県初発例から2021年5月まで、陽性検体のRNAを国立感染症研究所へ送付し、次世代シーケンサーによるゲノム解析は国立感染症研究所に依頼した。2021年5月以降は、富山県衛生研究所においてゲノム解析を実施しており、2021年1月の陽性検体から遡って解析を実施している。

富山県におけるゲノム解析数は、2020年332件、2021年528件、2022年328件であった。2020年の328件、2021年の174件は国立感染症研究所実施分である。2021年354件、2022年328件は富山県衛生研究所で実施した（図4）。

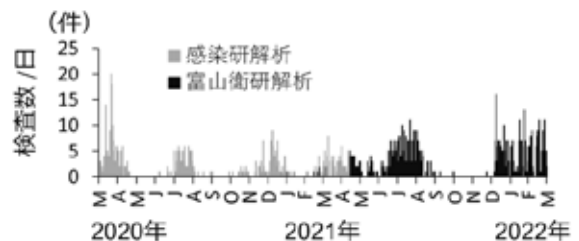


図4. 富山県におけるSARS-CoV-2 ゲノム解析実施数の推移

1-4 厚生センター・保健所におけるPCR検査

富山県内の厚生センター・保健所では、2020年5月からSARS-CoV-2のPCR検査を開始した。2022年3月現在、4か所の厚生センター・保健所で検査を実施している。4か所のうち3か所の厚生センター・保健所でのPCR検査の開始にあたり、富山県衛生研究所において検査に関する研修を行った。研修の内容は、病原体検査マニュアルおよび富山県衛生研究所の標準作業書に従った検査の実際の見学であった。

1-5 医療機関におけるCOVID-19検査

富山県内の医療機関では、2020年4月28日からSARS-CoV-2のPCR検査、6月から抗原検査が実施された。

SARS-CoV-2のPCR検査または抗原検査が可能な医療機関は、268機関であった(図5)。そのうち、2020年～2022年3月にSARS-CoV-2のPCR検査を実施したのは、187機関であった(表1)。

検体別では、鼻咽頭拭い液では抗原定性検査を、唾液や鼻腔拭い液ではPCR検査を行う医療機関が多かった(図5)。

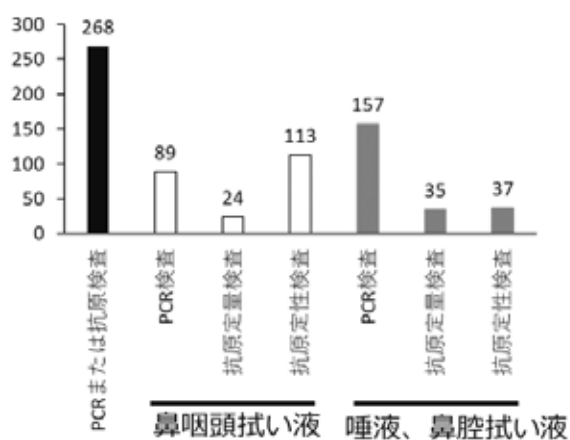


図5. SARS-CoV-2の検査が可能な医療機関の数(富山県)

表1. 2020年～2022年3月にSARS-CoV-2のPCR検査を実施した医療機関の数

医療機関	施設数
病院 (感染症指定医療機関を含む)	63
診療所	117
PCRセンター	4
急患センター・地域医療センター	3
計	187

2. 富山県衛生研究所と厚生センター・保健所および民間検査所との連携

2-1 検査情報に関する連携

厚生センター・保健所は、富山県衛生研究所への検査依頼時に、検体の臨床情報、氏名、住所、生年月日、性別、疫学情報、リアルタイムPCRのCt値(陽性例の場合のみ)を提供している。衛生研究所から厚生センター・保健所へは、検査結果(陽性、陰性、陽性の場合にはCt値)を回答している。民間検査所からの検体についても厚生センター・保健所からほぼ同様の情報を衛生研究所へ提供している。県厚生部健康対策室では上述の情報を共有している。ただし、臨床情報は検査依頼時のみで限られており、未記入の事例も多い。中核市からの流行初期の検査依頼では、特に臨床情報や疫学情報等が少なかったが、検体搬入前に当日の検体情報のリストを送付してもらうようになってからは、改善した。HER-SYSへの検査結果の入力は厚生センター・保健所が行っている。

2-2 検査技術および人材育成に関する連携

厚生センター・保健所がSARS-CoV-2の検査を導入するにあたり、衛生研究所で研修を行った。厚生労働省が実施した外部精度管理事業へは衛生研究所および厚生センター・保健所が参加した。

その他、毎年、富山県衛生研究所がバイオセーフティー講習会や検体輸送に関する講習会を開催し、検査等に係る関係者への教育を行っている。また、新たに検査業務に携わる新人職員に対しては、適宜メールや電話、実地見学等での指導を行える体制を構築している。

2-3 消耗品および機器に関する連携

検査に関わる消耗品のうち、リアルタイムPCRの試薬、検体輸送培地、検体採取容器は衛生研究所で購入し、厚生センターへ供与している。機器に関する連携はなされていないが、安全キャビネットやオートクレーブ等の点検やメンテナンスを計画的に進めるために、指針や連携が必要と考えられる。

考察：COVID-19の流行初期から流行拡大・継続期にかけて、SARS-CoV-2検査を行う機関は、衛生研究所から、厚生センター・保健所や民間検査所、医療機関等と多くの施設に拡充され、検査数も大幅に増加した。検査機関の拡充は、SARS-CoV-2の病原体診断の迅速な実施による、医療や感染対策に必須であった。医療機関では抗原定性検査、抗原定量検査の他、PCR検査数も多い。

地方衛生研究所では、地域の流行状況を把握し対策に資するために、SARS-CoV-2の継続的な病原体サーベイランスが求められている。SARS-CoV-2の検査に関わる施設は多岐にわたり、施設数も多いが、サーベイランスを効率的に行うためには、検体の収集、検体情報の共有、検査精度管理等について、検査機関との連携が必要である。とりわけ、積極的疫学調査を推進し共に行政検査を行う保健所との連携は重要である。SARS-CoV-2においては、流行期には連日多検体の検査

が依頼される。地方衛生研究所は、地方における検査技術の中核拠点としての役割を有しており、検査技術の向上や検査精度管理へ取り組む必要がある。

富山県では、業務のひっ迫から、厚生センター・保健所等から検査検体の情報が十分に得られない時期もあったが、電子データを検体搬入前に送受信することで、改善した。互いに必要な情報を共有することで、充実した検査体制の構築を進めたい。

2021年度富山県病原体等検査の精度管理調査 －赤痢菌の検出・同定－

磯部 順子 前西 絵美 金谷 潤一 綿引 正則
木全 恵子 大石 和徳

Quality Control of the Bacterial Testing of Pathogen in Toyama Prefecture (2021) － Detection and Identification of *Shigella* spp. －

Junko ISOBE, Emi MAENISHI, Jun-ichi KANATANI, Masanori WATAHIKI,
Keiko KIMATA, and Kazunori OISHI

目的：本県では、富山県病原体等検査業務管理要綱に基づき、県内の病原体等検査施設に対する検査水準の維持、向上を目的として精度管理調査を2016年度より実施している。2021度の調査は、三類感染症に位置づけられている赤痢の診断根拠となる「赤痢菌の検出と同定」とした。

検査用試料は、衛生研究所で培地に菌を接種し、各検査施設に配布した。結果は、各々の報告書から集計・解析した。

材料と方法：新川厚生センター、中部厚生センター、高岡厚生センター、砺波厚生センターおよび衛生研究所の5機関を対象とし、2022年1月25日～2月25日に実施した。

検査項目は赤痢菌疑い菌を同定することである。市販のカジトン培地（栄研化学）に表1の菌を接種して配布した。

表1. 配布試料と接種菌名

試料名	接種菌名
検体 A	赤痢菌 (<i>Shigella flexneri</i> 6)
検体 B	大腸菌 O124:HNM
検体 C	<i>Escherichia albertii</i>

配布した菌の性状等は配布前に衛生研究所で確認した。検査法は各機関の検査実施標準作業書(SOP)に準拠して行うこととした。

結果：各機関の成績は表2に示した。全ての機関が、試料Aを赤痢菌と同定し、試料B、試料Cを赤痢菌否定と回答した。また、試料Aについては種・血清型を*Shigella flexneri* 6(型)と決定した。

① 配付試料(菌)の培養

配付試料(菌)を培養し、単一培養菌であることを確認するために、多くは非選択培地としてトリプチケースソイアガー(TSA)を使用していた。1機関はドリガルスキー(BTB)を併用していた。選択培地としては、マッコンキー寒天、DHL寒天、SSB寒天、SS寒天を使用していた。試料Aの赤痢菌は胆汁酸塩に弱く感受性を示したため、選択性培地では発育が悪く、発育しても数個の集落しか認められず、機関によっては全く発育しなかった。このような場合、選択性のないTSAやBTBを併用しておく、検査が滞ることなく進められる。平板に発育した菌はいずれも単一性状と確認され、性状確認試験及び血清学的試験に3～6個の集落が用いられた。

② 性状確認試験

性状確認試験の結果は表2、3に示した。試験には、すべての機関がTSI、LIM、SIM、VP、シモンズのクエン酸塩培地、酢酸ナトリウム培地を用いた。また、4機関でメラー培地によるリジン脱炭酸試験を実施し、2機関ではアルギニン、オルニチンについても代謝の確認を行った。MR試験、 β -ガラクトシダーゼ(ONPG)試験は1機関で実施された。TSIでは3種類の糖(ブドウ糖、白糖、乳糖)の代謝とブドウ糖の代謝によるガスの産生性を確認できるが、TSIでのガス産生性は時に弱く、確認するのが難しいため、赤痢菌の検査ではグラム管を用いたガス産生性確認培地を併用することが望まれる。今回、TSIではガス産生性は認めなかったとした2機関が、グラム管を使用した培地でガス産生性を認めたと回答した。ほとんどの赤痢菌はガス産生性を有しないが、本調査で配布した*S. flexneri* 6については、およそ

20%がブドウ糖からガスを産生するとされ、赤痢菌のなかでも稀な性状を示すことが知られている。この血清型の菌をガス産生性により赤痢菌否定としないことが同定のポイントである。

LIM, SIM ではいずれもインドールの産生性を確認するが、機関①では試料 B のインドールの結果が他の機関と異なっていた。この菌株は赤痢菌との鑑別が難しく、インドール反応の結果は赤痢菌を否定するために重要な鑑別点となっている。試料 A, C 共にインドール産生陰性株であったことに加え、試薬作製日や期限などの情報が記載されていないため、この機関のインドール試験が正しく判定できたかは不明である。性状確認試験で用いる試薬類は、使用期限が明確な市販品を用いて結果を担保する（偽陰性を回避する）必要がある。今回、インドール試薬の使用期限あるいは製品管理番号を記載していたのは2機関であった。1機関は市販品を期限内で使用していた。1機関は自家調製試薬を使用期限1年として管理し、報告書には作製日が明記されていた。一方、SIM 培地で確認できる IPA 反応について、2機関がいずれの菌についても陰性であったと報告した。IPA は赤痢菌と誤同定されることが多い *Morganella morganii* を鑑別するのに有用であることから、確認し、記録することが望ましい。

糖の代謝を含め、生化学性状については、同じ赤痢菌種であっても血清型等により結果が異なるため注意を要する。菌種と血清型が決定したら、必ず成書でその性状を確認する。これにより根拠に必要と思われる性状試験を追加する必要性が生じることもあり得る。本調査の試料 B はいずれの機関も赤痢菌を否定できたが、志賀赤痢菌 3 型の抗血清に凝集したため、判定は容易ではなかったことが推定される。1機関ではワークシートに一般的な赤痢菌の性状に加え、志賀赤痢菌 3 型の性状を記載することで否定の根拠を明らかにしていた。この方法により判定が容易になると思われた。

③ 遺伝子検査

結果を表3に示した。機関①では遺伝子検査は実施されなかった。他の4機関では、試料 A については *ipaH*, *invE* のいずれも陽性、試料 B については *ipaH* のみ陽性と回答した。一方、試料 C については3機関はいずれの遺伝子も陰性と回答したが、機関④では遺伝子検査を実施しなかった。生化学性状、血清学的試験の結果で赤痢菌を否定したことによると考える。これらの遺伝子検査は赤痢菌を同定するための必須条件とはなっていない

いが、同定の結果を担保する重要な検査の一つであるので、可能な限り実施することが推奨される。とりわけ、染色体上に存在する *ipaH* 遺伝子は脱落することがほとんどなく、赤痢菌の重要な性状である侵入性を確認できる。これに対し、*invE* 遺伝子はプラスミド上に存在するため、比較的容易に脱落することが知られており、結果の取り扱いには注意が必要である。すなわち、*invE* 遺伝子が陰性であっても赤痢菌を否定する証拠とはならない。加えて、これらの遺伝子は侵入性大腸菌も保有することが知られているため、これらの遺伝子検査の結果が陽性となった場合でも、定められた性状確認検査を確実に実施しなければならない。

④ 血清型別試験

全ての機関が、試料 A についてはフレキシネル赤痢菌 B 多価およびフレキシネル赤痢菌 VI に、試料 B については志賀赤痢菌 A 多価、志賀赤痢菌 3 型に凝集し、また、試料 C については赤痢菌抗血清のいずれにも凝集しなかったと回答した。4機関では、試料 B について大腸菌 O124 にも凝集することを確認していた。

赤痢菌の同定検査では、陽性を示す性状検査が少ないなか、抗血清との凝集性を確認する血清学的試験はきわめて重要である。基本的には、市販されている抗血清で赤痢菌 4 菌種 1~18 血清型を決めることができる。赤痢菌は大腸菌とは K 抗原の種類が異なるため、加熱抗原を用いた凝集試験は必要としないとされている。血清学的試験は *S. sonnei* を除き、大腸菌との共通抗原が存在し、とりわけ、侵入性大腸菌との共通抗原が多いため、その結果は必須条件であるが十分条件とならない点に注意が必要である。

考察：本調査で各機関は赤痢菌を正しく同定し、誤同定が懸念される侵入性大腸菌やアルベルティイ菌を正しく否定することができた。ワークシートには最終結果を確認するための表があり、同定の根拠が明確になることから活用してほしい。

本年度の調査では、検査を始めるにあたり、試料 A が選択培地に十分発育しなかった。非選択培地には十分発育したことから、胆汁酸に感受性を示す性状へと変化したものと想定された。そもそも赤痢菌は大腸菌に比べ、胆汁酸に対する感受性が高いといわれ、SS 寒天や DHL 寒天での発育も大腸菌に比べると遅く、集落もかなり小さい。基本的には非選択培地と選択培地の両方に試料を塗抹し培養する。マッコンキー寒天は、滅菌して

使用することから非選択培地に位置付けたいとなるが、SS 寒天やSSB 寒天に比べ胆汁酸塩の含有量が少ないが、クリスタルバイオレットも含まれているため、選択性は弱いグラム陽性菌を抑制する。これに対し、BTBは胆汁酸塩を含まず、非選択性分離培地として使用することに問題はないものとする。検査を遂行するにあたり、非選択培地で十分量の菌を発育させることは重要なポイントである。

赤痢菌の同定検査において、しばしば*ipaH*や*invE*などの侵入性に関する遺伝子配列を標的としたPCR検査が実施される。上述したとおり、*invE*については脱落する場合も少なくないため、*ipaH*を標的とした遺伝子検査が優先されるべきである。この遺伝子検査をすべての機関が生化学性状や血清学的試験の後、ほぼ赤痢菌と同定できた段階で実施していた。赤痢菌を早く否定するという観点から、早い段階で遺伝子検査をするべきではないだろうか。しかしながら、試料Bは*ipaH*遺伝子を保有する侵入性大腸菌で、遺伝子以外の性状も赤痢菌と大きくは変わらないため、赤痢菌を否定するために複数の根拠が必要であった。インドール陽性、アルギニン陽性、キシロース陽性、ズルシット陽性に加え、 β -ガラクトシダーゼ(ONPG)陽性などの性状で志賀赤痢菌3型を否定できる。赤痢菌を同定する場合に必要なとなった

性状については、順次SOPに加えるようにすべきである。一方、いくつかの性状で他とは異なる結果を示した機関があったので、その原因について確認し、次の検査に備えていただきたい。

2022年2月発行の病原体微生物検出情報(IASR)によると、わが国で2021年に届け出のあった赤痢はわずかに7例で、うち3例は無症状病原体保有者であった。富山県では2019年に赤痢が発生しているが、この2年間に届け出はない。赤痢の減少は新型コロナウイルス感染症により、海外からの渡航者、海外への旅行者が激減したことによると考えられているが、新型コロナウイルス感染症発生前から減少傾向を示していた。富山県においては検査に携わる機会はかなり減少しているが、再び海外からの入国者が増加した場合は、地方であっても赤痢検査に携わる可能性があることから、検査技術を維持しなければならない。

アンケートについてまとめると、複数の厚生センターから赤痢検査の困難な状況について意見があった。赤痢菌抗血清および遺伝子検査試薬は高価であるが、使用期限が短く、廃棄する状況が続いていること、これまでの遺伝子検査法で使用する機器は経年期間が長いこと保守点検が難しく、リアルタイムPCR機器を用いた検査に移行すべきなどの意見であった。

表2. 試料(赤痢菌を疑う菌)の同定結果

機関名	試料A		試料B	試料C
	菌種・血清型			
①	赤痢菌陽性	<i>S. flexneri</i> 6	赤痢菌否定	赤痢菌否定
②	赤痢菌陽性	<i>S. flexneri</i> VI型	赤痢菌否定	赤痢菌否定
③	赤痢菌陽性	<i>S. flexneri</i> 6型	赤痢菌否定	赤痢菌否定
④	赤痢菌陽性	<i>S. flexneri</i> 6	赤痢菌否定	赤痢菌否定
⑤	赤痢菌陽性	<i>Shigella flexneri</i> 6型	赤痢菌否定	赤痢菌否定

表3. 遺伝子検査の結果

機関名	試料A		試料B		試料C	
	<i>ipaH</i>	<i>invE</i>	<i>ipaH</i>	<i>invE</i>	<i>ipaH</i>	<i>invE</i>
①						
②	陽性	陽性	陽性	陰性	陰性	陰性
③	陽性	陽性	陽性	陰性	陰性	陰性
④	陽性	陽性	陽性	陰性		
⑤	陽性	陽性	陽性	陰性	陰性	陰性

表 4. 分離菌の血清凝集試験および生化学性状(1)

試料A	結果	血清型	遺伝子検査									
			<i>lpsH</i>	<i>lpsE</i>	TSI	UM	VP	MR	SC	SIM	IPA	酢酸Na
①	陽性	フレキシネル6型			- / A	-,-,-	-		-	-,-,-	-	-
②	陽性	フレキシネル VI型	+	+	- / AG _W	-,-,-	-	+	-	-,-,-	-	-
③	陽性	フレキシネル6型	+	+	- / AG	-,-,-	-		-	-,-,-		-
④	陽性	フレキシネル6型	+	+	- / A	-,-,-	-		-	-,-,-		-
⑤	陽性		+	+	- / A	-,-,-	-		-	-,-,-		-
試料B	結果	血清型	遺伝子検査									
			<i>lpsH</i>	<i>lpsE</i>	TSI	UM	VP	MR	SC	SIM	IPA	酢酸Na
①	否定	志賀A多価 ③型			- / A	-,-,-	-		-	-,-,-	-	-
②	否定	志賀A多価 ③型 病原性大腸菌O124	+	-	- / A	-,+,-	-	+	-	-,+,-	-	+
③	否定	志賀A多価 ③型 病原性大腸菌O124	+	-	- / A	-,+,-	-		-	-,+,-		+
④	否定	志賀A多価 ③型 病原性大腸菌O124	+	-	- / A	-,+,-	-		-	-,+,-		+
⑤	否定	志賀A多価 ③型 病原性大腸菌O124	+	-	- / A	-,+,-	-		-	-,+,-		+
試料C	結果	血清型	遺伝子検査									
			<i>lpsH</i>	<i>lpsE</i>	TSI	UM	VP	MR	SC	SIM	IPA	酢酸Na
①	否定				- / AG	+,+,-	-		-	-,+,-	-	+
②	否定		-	-	- / AG	+,+,-	-	+	-	-,+,-	-	+
③	否定		-	-	- / AG	+,+,-	-		-	-,+,-		+
④	否定				- / A	+,+,-	-		-	-,+,-		+
⑤	否定		-	-	- / A	+,+,-	-		-	-,+,-		+

表 4. 分離菌の血清凝集試験および生化学性状(2)

検体A	糖の分解											アミノ酸代謝			
	ブドウ糖 (ガス)	ラクトース	サッカロース	マンニト	アトニト	サリク	スルシット	キシロース	ラフィース	イソシット	アラビノース	β -ガラクトシ ダーゼ	L	A	D
①	+	-	-	+	-	-	-	-					-	-	-
	(-)														
②	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-
	(+)														
③	+			+	-	-	-		-	-	+				-
	(+)														
④	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-					
	(+)														
⑤	+	-		+	-	-	-	-	-	-			-		
	(+)														

検体B	糖の分解											アミノ酸代謝			
	ブドウ糖 (ガス)	ラクトース	サッカロース	マンニト	アトニト	サリク	スルシット	キシロース	ラフィース	イソシット	アラビノース	β -ガラクトシ ダーゼ	L	A	D
①	+	-	-	+	-	-	+	+					-	-	-
	(-)														
②	+	-	-	+	-	+	+	+	-	-		+	-	+	-
	(-)														
③	+	-	-	+	-	-	+		-	-					-
	(-)														
④	+	-	-	+	-		+	-	-	-					
	(-)														
⑤	+	-		+	-	-	+	+	-	-			-		
	(-)														

検体C	糖の分解											アミノ酸代謝			
	ブドウ糖 (ガス)	ラクトース	サッカロース	マンニト	アトニト	サリク	スルシット	キシロース	ラフィース	イソシット	アラビノース	β -ガラクトシ ダーゼ	L	A	D
①	+	-	-	+	-	-	-	-					+	-	+
	(+)														
②	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-		-	+	-	+
	(+)														
③	+	-	-	+	-	-	-		-	-	+				+
	(+)														
④	+	-	-	+	-		-	-	-	-					
	(+)														
⑤	+	-		+	-	-	-	-	-	-			+		
	(+)														

富山県内の腸管出血性大腸菌感染症発生状況(2021年)

木全 恵子 中村 雅彦 金谷 潤一 前西 絵美
綿引 正則 磯部 順子 野口 範子¹ 大石 和徳

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Infectious Diseases Detected
in Toyama Prefecture, 2021

Keiko KIMATA, Masahiko NAKAMURA, Jun-ichi KANATANI, Emi MAENISHI,
Masanori WATAHIKI, Junko ISOBE, Noriko NOGUCHI, and Kazunori OISHI

目的：腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症は、下痢、腹痛、血便などの症状のほか、時として溶血性尿毒症症候群（HUS）や脳症などの重篤症状を発症する疾患である。また、EHECは感染力が強く、大規模な食中毒や分散型広域食中毒（diffuse outbreak）、集団感染事例を引き起こす。このため、EHECの発生状況や広域流行株の把握は重要である。EHEC感染症は感染症法では三類感染症に位置づけられ、国内でのEHEC感染症の発生状況の迅速な把握が行われている。

2021年1月から12月までに富山県において発生したEHEC感染事例は16件、感染者は16名であった。これらの内訳は、EHEC O157感染事例が8件、8名、EHEC O121感染事例が2件、2名、EHEC O128、O111、O26、Og49、O8、Og91感染事例がそれぞれ1件、1名であった（表1）。

当所では県内で発生したEHEC感染症について分離株を収集・解析を行っている。以下に2021年の富山県におけるEHEC感染症の発生状況について、概要、疫学的解析結果を報告する。

材料と方法：2021年1月から12月までに富山県で発生したEHEC感染事例16件（表1）について届出数および分離株の解析を行った。

薬剤感受性試験は、13薬剤（ノルフロキサシン、ナリジクス酸、カナマイシン、ゲンタマイシン、ホスホマイシン、アンピシリン、SXT合剤、テトラサイクリン、ストレプトマイシン、セファゾリン、クロラムフェニコール、セフトジジム、セフォタキシム）について行った。CLSIのプロトコルに準拠し、Kirby-Bauer法に基づいたディスク法（センシ・ディスク、日本ベクトン・

表1. 富山県腸管出血性大腸菌感染症発生状況(2021)

事例No	発生時期	感染者数 (名)	発生形態 (散発・集団)	大腸菌 血清型 ^{*1}	ベロ毒素遺伝子型
1	2021.2	1	散発	O157:Hg7	stx1stx2
2	2021.3	1	散発	O128:H2	stx1stx2
3	2021.4	1	散発	O157:Hg7	stx1stx2
4	2021.5	1	散発	O111:Hg8	stx1
5	2021.6	1	散発	O157:H7	stx1stx2
6	2021.6	1	散発	O26:H11	stx1
7	2021.7	1	散発	O157:Hg7	stx2
8	2021.7	1	散発	O157:Hg7	stx1stx2
9	2021.8	1	散発	Og49:Hg10	stx2
10	2021.8	1	散発	O121:H19	stx2
11	2021.8	1	散発	O157:H7	stx1stx2
12	2021.8	1	散発	O121:H19	stx2
13	2021.9	1	散発	O8:H9	stx2
14	2021.9	1	散発	O157:H7	stx2
15	2021.10	1	散発	O157:H7	stx2
16	2021.11	1	散発	O91:Hg14	stx1
O157 8件(8名)、O121 2件(2名)、O26 1件(1名)、Og91 1件(1名)、O8 1件(1名)、 Og49 1件(1名)、O111 1件(1名)、O128 1件(1名) 計16件(16名)					

*1 遺伝子型別により決定したO血清群。H血清群はそれぞれOg、Hgと表記した。

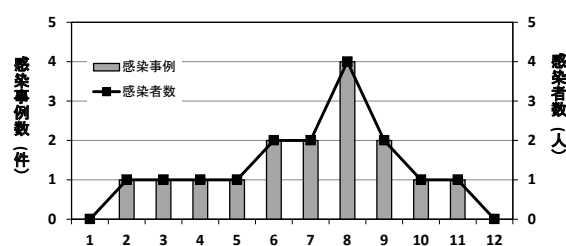


図1. 富山県における腸管出血性大腸菌感染症月別発生動向(2021)

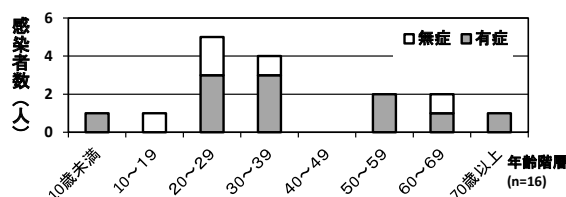


図2. 年齢別腸管出血性大腸菌感染症発生状況

ディッキンソン) を用いた。

各事例の分離株について接着因子遺伝子 *eae*, ペロ毒素遺伝子 *stx1*, *stx2*, 凝集付着性大腸菌耐熱性毒素遺伝子 *astA* のPCRによる検出を行った。

O157, O26, O111 の multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) は当所で、O121 の MLVA は国立感染症研究所で行った [1]。得られた MLVA の各標的遺伝子座の反復配列数情報に基づいて国立感染症研究所に付与された MLVA 型 (MLVA type) およびコンプレックス型 (MLVA comp) を示した (表 2)。

結果：2021 年における EHEC 感染症発生状況：2021 年の富山県における EHEC 感染事例はすべて散発であった。このうち 5 件は健康診断により探知された無症状病原体保有者であった。事例数、感染者数はそれぞれ前年比 0.67, 0.57 (24 件, 28 名) で、いずれも減少していた (表 1)。

事例数及び感染者数の月別動向を図 1 に示した。2021 年は 6 月から 9 月にかけて事例数の 63% (10 件/16 件) と EHEC 感染症が多く発生した。

感染者に対する有症者の割合は 69% (11 名/16 名) であった。年代別の割合は 20 歳代及び 30 歳代がそれぞれ 31% (5 名/16 名), 25% (4 名/16 名) で、あわせて全体の約半分を占めていた (図 2)。また、男女比は男性 44%, 女性 56% で性別による差はみられなかった。

分離株の薬剤感受性：表 1 の各事例の代表株 16 株について、薬剤感受性試験を行った。供試菌株のうち、上述の 13 薬剤のいずれかに耐性を示したのは事例 No.4 分離株 (クロラムフェニコール), 事例 No.7 分離株 (ナリジクス酸, アンピシリン, ストレプトマイシン, テトラサイクリン, クロラムフェニコール), 事例 No.16 分離株 (アンピシリン, ストレプトマイシン, テトラサイクリン,

SXT 合剤, クロラムフェニコール) の 3 株 (19%) であった。

分離株の病原因子：ペロ毒素遺伝子型を表 1 に示した。 *stx1* *stx2* 保有型が 6 株, *stx2* 保有型が 7 株, *stx1* 保有型が 3 株であった。事例 No.2, 13, 16 における分離株は *eae* を保有していなかった。また, *astA* はすべて陰性であった。

O157, O26, O111 の MLVA による遺伝子型別：2018 年から当所において O157, O26, O111 の MLVA による遺伝子型別を実施している。MLVA はゲノム上の 17 の標的遺伝子座における繰り返し配列数 (以降, 反復配列数) の違いにより遺伝子型別を行う方法である [1]。この解析では, 1 遺伝子座の反復配列数のみ異なる MLVA 型は遺伝子関連性があると判定し, これらの 1 遺伝子座のみ異なる複数の MLVA 型をひとつの関連性のある一群, 「コンプレックス」として標記している。また, 互いに 2 つの遺伝子座の反復配列数が異なる MLVA 型は関連する可能性を示し, 3 つ以上の遺伝子座の反復配列数が異なる MLVA 型は遺伝的関連性がないと考えられる [2]。

表 2 に 2021 年に県内で分離された O157, O26 および O111 の各事例分離株について, 当所で取得した MLVA の各標的遺伝子座の反復配列数と, MLVA 型 (表 2, MLVA type) およびコンプレックス型 (表 2, MLVA comp) を示した。

事例 No.1 および 4 についてそれぞれ標的遺伝子座 O157-9, EHC-6 で 2 種類の反復配列数が検出されたため, 表 2 に「/」をつけて該当する配列数を併記した。これは, 標的遺伝子座が複数コピーあること等が原因となり, 2 種類の反復配列数が検出されたためであると考えられた。

複数の感染事例で同一の MLVA 型もしくは MLVA コンプレックスが検出された事例は, 事

表 2. MLVA における各標的遺伝子座の反復配列数

O157																				
事例No.	血清型	EH111-11	EH111-14	EH111-8	EH157-12	EH26-7	EHC-1	EHC-2	EHC-5	EHC-6	O157-3	O157-34	O157-9	O157-25	O157-17	O157-19	O157-36	O157-37	MLVAtype	MLVAcomp
1	O157	2	-2	1	4	-2	9	5	-2	-2	9	11/16	8	4	9	4	3	21m0129		
3	O157	2	-2	1	5	-2	7	6	-2	-2	16	9	9	3	7	7	4	7	21m0048	
5	O157	2	-2	1	4	-2	5	4	5	-2	13	11	15	5	6	4	12	6	21m0138	
7	O157	2	-2	1	1	-2	7	5	-2	-2	8	10	12	5	3	5	8	6	21m0160	
8	O157	2	-2	1	6	-2	7	5	-2	17	14	10	12	2	12	9	4	3	21m0140	
11	O157	2	-2	1	4	-2	6	4	-2	7	11	12	6	5	7	5	8	6	21m0122	21c037
14	O157	2	-2	1	6	-2	7	5	-2	-2	8	10	10	6	4	8	11	7	21m0034	21c050
15	O157	2	-2	1	6	-2	7	5	-2	-2	8	10	10	6	4	8	11	7	21m0034	21c050

O26・O111																				
事例No.	血清型	EH111-11	EH111-14	EH111-8	EH157-12	EH26-7	EHC-1	EHC-2	EHC-5	EHC-6	O157-3	O157-34	O157-9	O157-25	O157-17	O157-19	O157-36	O157-37	MLVAtype	MLVAcomp
6	O26	2	1	1	2	3	8	21	6	-2	-2	1	7	2	-2	1	-2	-2	21m017	21c203
4	O111	5	1	5	2	-2	10	6	6	3/12	-2	3	8	2	-2	1	-2	11	21m3009	

PCRの増幅により反復配列を検出できなかった場合は「-2」と表記した。/ で表記された数値はその遺伝子座で2種類の反復配列数が検出されたことを示す。

例 No.14, 15 (表 2, MLVA 型 21m0034, MLVA コンプレックス 21c050) であった。事例 No.14, 15 は 2021 年 9 月から 10 月に発生した感染事例であったが、事例間の関連性は不明であった。

全国における EHEC 感染症発生状況との比較：

2021 年の全国における EHEC 感染者数は 3,236 名で、昨年の 1.05 倍とほぼ同様であった[3]。

国立感染症研究所では全国で発生した EHEC 感染事例について菌株の収集・解析を行い、EHEC O157, O26, O111, O103, O121, O145, O165, O91 について MLVA による分子疫学サーベイランスを行っている。このサーベイランスの結果、2021 年に全国 5 機関以上の地衛研等から検出された広域流行株の MLVA 型または MLVA コンプレックスは、32 種類であった[4]。このうち、本県で検出された事例 No.6 (MLVA 型 21m2017, MLVA コンプレックス 21c203) の MLVA コンプレックスは 1 都 13 県で 6 月から 11 月にかけて検出されていた。また、本県で 8 月に発生した 2 件の EHEC O121 感染事例 (表 1, 事例 No.10 および 12) について、MLVA 型は異なる遺伝子型 (21m5009, 21m5008) であり、これらの事例間の関連性は認められなかった。

2021 年に本県で検出された MLVA 型は、O157 が 7 タイプ、O121 が 2 タイプ、O26・O111・O91 がそれぞれ 1 タイプであった。他の MLVA 型と関連性があると認められた MLVA 型および MLVA コンプレックスが、O157 で 3 種類 (表 1, 事例 No. 3, 11, 14 および 15), O26 および O111 でそれぞれ 2 種類 (表 1, 事例 No. 4 および 6) が検出された (表 2)。しかし、これらの事例について、他県の同じ MLVA 型または MLVA コンプレックスが検出された感染事例との関連性は不明であった。

特記すべき事例の報告：2021 年の感染事例のうち、上述の広域流行株以外の事例について以下に詳細を報告する。

県内で発生した EHEC Og49 感染事例：2021 年は市販の大腸菌 O 血清群抗血清に凝集せず、OUT と報告された感染事例が 1 件報告された (表 1, 事例 No.9)。事例 No.9 の分離株について、当所で PCR による O 血清群遺伝子型別 [5] を実施

したところ、Og49 であることが判明した。全国における本血清型の EHEC 分離状況を病原微生物検出情報の EHEC 検出例の血清別統計 (2002 年～2021 年) から調査したところ、EHEC O49 の分離は本事例が初めてであった。

考察：2021 年の EHEC 感染事例数および EHEC 感染者数は、16 件、16 名であり、新型コロナ流行前の 2012 年から 2019 年の本県の感染事例数および感染者数の平均値 (19.1 件、36.6 名) の 83.7%、43.7% であった (2020 年は 125%、76.5%)。2020 年・2021 年と EHEC 感染事例数は平均値に対して増減がみられたが、EHEC 感染者数は 2020 年・2021 年ともに減少傾向であった。

また、2021 年は、市販の大腸菌 O 血清群抗血清による型別ができない EHEC Og49 感染事例が 1 件発生した (表 1, 事例 No.9)。同様の事例は 2020 年にも発生しており (EHEC Og100 および OgN1)、今後も地方衛生研究所など検査機関において、これらの新規もしくは市販血清では対応できない O 血清群遺伝子型別への対応が必要であると考えられる。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、ご協力頂きました県内の医療機関、厚生センター、富山市保健所、感染症対策課、生活衛生課の関係各位ならびに国立感染症研究所 伊豫田淳先生、泉谷秀昌先生に深く感謝致します。

文 献

1. Pei Y, Terajima J, Saito Y, et al. (2008). Jpn J Infect Dis, 61, 58-64
2. 石原朋子, 泉谷秀昌, 伊豫田淳, 他. (2014) 病原微生物検出情報, 35, 129-130
3. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課. (2022) 病原微生物検出情報, 43, 103-106
4. 泉谷秀昌, 李 謙一, 伊豫田淳, 他. (2022) 病原微生物検出情報, 43, 108-109
5. Iguchi A, Iyoda S, Seto K, et al. (2017) J Clin Microbiol, 53, 2427-2432

2021年度富山県食品衛生検査の精度管理調査 －微生物学的検査－

金谷 潤一 綿引 正則 磯部 順子 中村 雅彦
前西 絵美 木全 恵子 大石 和徳

Quality Control of the Bacterial Testing of Foods for Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture (2021)

Jun-ichi KANATANI, Masanori WATAHIKI, Junko ISOBE, Masahiko NAKAMURA,
Emi MAENISHI, Keiko KIMATA, and Kazunori OISHI

目的：本県では、富山県食品衛生検査業務管理要綱に基づき、1999年から県内の食品衛生検査機関に対して検査水準の維持、向上を目的として精度管理調査を実施している。本年の微生物学的検査の精度管理調査は、牛乳中に添加した生菌数測定および加熱食肉製品（加熱殺菌後包装）中の黄色ブドウ球菌検査（成分規格 1,000 以下 /g）を実施した。検査用試料は、衛生研究所で調製後、各検査機関に配布し、各々の検査結果の報告を集計・解析した。

材料と方法：新川厚生センター、中部厚生センター、高岡厚生センター、砺波厚生センター、食肉検査所および衛生研究所の6機関を対象とし、2022年1月25日～2022年2月1日に実施した。

生菌数測定用の検体（牛乳 10 ml）は、2検体の菌数がそれぞれ 1.3×10^4 CFU/ml（牛乳 A）、 1.3×10^3 CFU/ml（牛乳 B）となるよう枯草菌（栄研化学）を調製し、市販品牛乳（常温保存可）に添加し作製した。なお、牛乳原液の生菌数は 0 CFU/ml であった。菌数測定は各機関の検査実施標準作業書（SOP）に準拠して行うこととした。各機関で測定した値を用いて、標準偏差（SD）、変動係数、標準測度（Z スコア）を算出した。Z スコアは、「 $Z = (\text{測定値} - \text{測定値平均}) / \text{測定値標準偏差}$ 」の計算式で求められ、その絶対値によって各機関の測定した値を評価できる。判断基準は、 $|Z| \leq 2$ のとき「良好」、 $2 < |Z| < 3$ のとき「改善が必要かどうかの検討必要」、 $3 \leq |Z|$ のとき「改善措置を要する」となっている。

黄色ブドウ球菌検査用の模擬食品は、市販のコンビーフに黄色ブドウ球菌および表皮ブドウ球菌の培養液を表1の通り接種して作製した。なお、

コンビーフから黄色ブドウ球菌は検出されなかった。検査法は、各機関の検査実施標準作業書（SOP）に準拠して行うこととした。

結果：牛乳中の生菌数は表2に示した。牛乳 A については、報告された測定値（各機関の実測値 2 回を平均した値）の平均は 1.14×10^4 CFU/ml、最大値 1.28×10^4 CFU/ml、最小値 9.55×10^3 CFU/ml であった。SD は 1058.1 となり、すべて平均値 $\pm 2SD$ ($9.30 \times 10^3 \sim 1.35 \times 10^4$) の範囲内であった。Z スコアの絶対値もすべて 2 以下で、ばらつき度合いは良好と判断された。実測値の Z スコアの絶対値もすべて 2 以下で、ばらつき度合いは良好と判断された。

牛乳 B については、報告された測定値の平均は 1.06×10^3 CFU/ml、最大値 1.15×10^3 CFU/ml、最小値 9.70×10^2 CFU/ml であった。SD は 65.6 となり、すべて平均値 $\pm 2SD$ ($9.27 \times 10^2 \sim 1.19 \times 10^3$) の範囲内であった。Z スコアの絶対値もすべて 2 以下で、ばらつき度合いは良好と判断された。実測値の Z スコアの絶対値は、ほとんどが 2 以下であったが、機関 No. 1 の 1 回の値が 2 を超えた。

2017～2021 年度において、生菌数の測定値および実測値の Z スコアを示した（図 1, 2）。測定値については、機関 No. 2 の 1 回の値が $2 < |Z| < 3$ であった。実測値については、機関 No. 1 の 1 回の値、機関 No. 2 の 1 回の値、機関 No. 6 の 1 回の値が $2 < |Z| < 3$ であった。

黄色ブドウ球菌検査については、すべての機関が前増菌培地として BPW、分離培地として卵黄加マンニット食塩寒天培地を使用していた。検査結果では、すべての機関が食品 C から基準値

表 1. 模擬食品における添加細菌と菌数

試料名	添加細菌	菌数
模擬食品 C	黄色ブドウ球菌	1.5×10^4 CFU/g
模擬食品 D	表皮ブドウ球菌	7.6×10^3 CFU/g

表 2. 牛乳中の生菌数

A. 牛乳A

機関	結果	測定値	測定値 標準偏差	測定値 Zスコア	実測値	実測値 標準偏差	実測値 Zスコア
No. 1	1.17×10^4	11650	233.3	0.22	11500 11800	83.3 383.3	0.08 0.37
No. 2	1.12×10^4	11200	-216.7	-0.20	11400 11000	-16.7 -416.7	-0.02 -0.41
No. 3	1.15×10^4	11450	33.3	0.03	11500 11400	83.3 -16.7	0.08 -0.02
No. 4	1.28×10^4	12750	1333.3	1.26	12800 12700	1383.3 1283.3	1.35 1.25
No. 5	1.19×10^4	11900	483.3	0.46	12200 11600	783.3 183.3	0.77 0.18
No. 6	9.55×10^3	9550	-1866.7	-1.76	9600 9500	-1816.7 -1916.7	-1.78 -1.87
平均値 ($\bar{X}$)	1.14×10^4	11416.7			11416.7		
標準偏差 (SD)		1058.1			1023.2		
X+2SD		13533.0			13463.1		
X-2SD		9300.4			9370.2		

B. 牛乳B

機関	結果	測定値	測定値 標準偏差	測定値 Zスコア	実測値	実測値 標準偏差	実測値 Zスコア
No. 1	9.70×10^2	970	-88.3	-1.35	900 1040	-158.3 -18.3	-2.07 -0.24
No. 2	1.06×10^3	1055	-3.3	-0.05	1090 1020	31.7 -38.3	0.41 -0.50
No. 3	1.00×10^3	1000	-58.3	-0.89	970 1030	-88.3 -28.3	-1.15 -0.37
No. 4	1.07×10^3	1070	11.7	0.18	1100 1040	41.7 -18.3	0.54 -0.24
No. 5	1.15×10^3	1145	86.7	1.32	1160 1130	101.7 71.7	1.33 0.94
No. 6	1.11×10^3	1110	51.7	0.79	1160 1060	101.7 1.7	1.33 0.02
平均値 ($\bar{X}$)	1.06×10^3	1058.3			1058.3		
標準偏差 (SD)		65.6			76.5		
X+2SD		1189.6			1211.3		
X-2SD		927.1			905.3		

表 3. 模擬食品からの黄色ブドウ球菌検出

機関	食品C	食品D
No. 1	不適 (14000/g)	適 (50未満/g)
No. 2	不適 (17200/g)	適 (50未満/g)
No. 3	不適 (14700/g)	適 (50未満/g)
No. 4	不適 (17400/g)	適 (50未満/g)
No. 5	不適 (14300/g)	適 (50未満/g)
No. 6	不適 (15000/g)	適 (50未満/g)

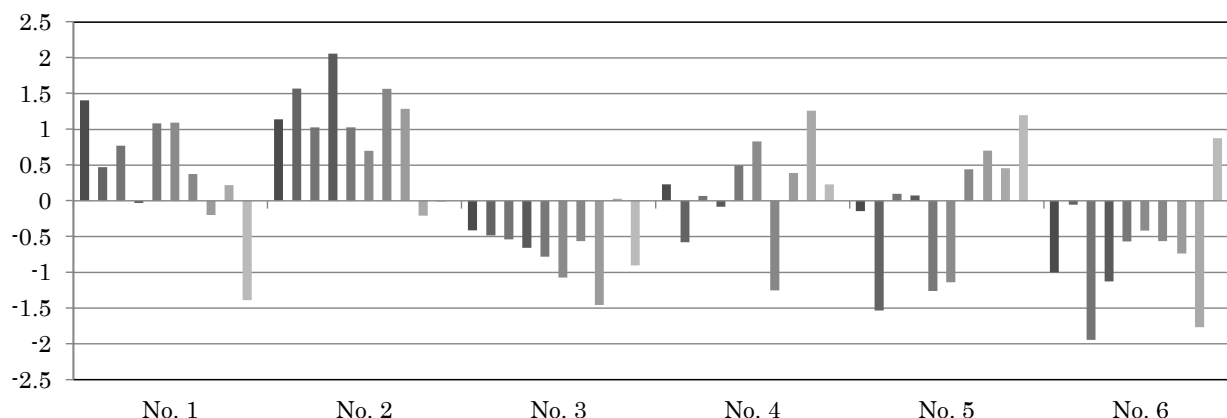


図 1. 測定値のZスコア (H29 ~ R03)

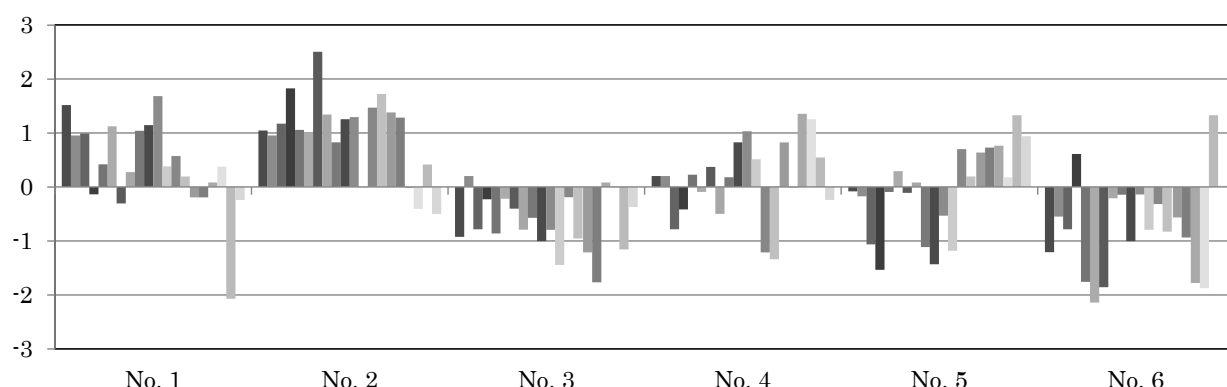


図 2. 実測値のZスコア (H29 ~ R03)

(1,000 以下 /g) を上回る黄色ブドウ球菌数を検出できた。一方、卵黄反応およびコアグラーゼ試験陰性の表皮ブドウ球菌を接種した食品 D からは、すべての機関で黄色ブドウ球菌は検出されず (50 未満 /g)、検査精度に問題はなかった。

考察：2017 ~ 2021 年度において、生菌数の測定値のZスコアをみると、1つの機関 (計1回) でZスコアが $2 < |Z| < 3$ の範囲であった。実測値をみると、3つの機関 (計3回) でZスコアが $2 < |Z| < 3$ の範囲であった。Zスコアの絶対値が2を越えた場合、機関内でその原因を精査し、ばらつきが小さくなるよう改善する必要がある。しかし、この精度管理調査の参加機関は多くないため、全体的な測定値のばらつきが小さい場合、少しの変動がZスコアに大きく影響する場合があるので、本調査におけるZスコアだけでその測定方法等を否定できない。これらの機関については、民間機関が実施する外部精度管理にも参加し、適正な範囲に入る結果を得られるか検討することが望ましい。

黄色ブドウ球菌による食中毒は、日本の衛生管理水準が高くなってから減少しているため、食中毒の検査として黄色ブドウ球菌を検出することはまれになった。しかし、洋生菓子からこの菌を検出してはいけないこととなっているため、この検査の必要性は高い。また2015年には、国際整合性を図る観点から試験法が改正され、選択分離培地としてISO 6888-1にあるベアード・パーカー寒天培地も盛り込まれた (従来から広く用いられている3%卵黄加マンニット食塩寒天培地も使用可能)。

黄色ブドウ球菌は、卵黄反応およびコアグラーゼ試験によって同定される。今回、食品Dに添加した表皮ブドウ球菌は卵黄反応陰性であるため、選択培地上で判別可能である。すべての機関で卵黄加マンニット食塩寒天培地を使用していたが、判定に問題はなかった。また、全ての機関で食品Dから黄色ブドウ球菌は検出されず、食品Cからのみ基準値 (1,000 以下 /g) を上回る黄色ブドウ球菌数が検出された。黄色ブドウ球菌は選択培地での発育が遅い場合もあり、また、培地の種類に

よって発育形態に特徴があることから、定期的に
精度管理を実施し、自施設で使用する培地での陽
性コントロールの発育を確認することが望ましい。

文 献

1. 富山県厚生部長通知, 薬食 1,229 号, 平成 10
年 12 月 16 日

富山県におけるカルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症の患者発生動向と患者由来株の β -ラクタマーゼ遺伝子保有状況について(2021年)

中村 雅彦 綿引 正則 磯部 順子 木全 恵子
金谷 潤一 前西 絵美 大石 和徳

Surveillance of Carbapenem-resistant *Enterobacterales* Infectious Diseases and Detection of β -Lactamase Genes from the Isolates in Toyama Prefecture (2021)

Masahiko NAKAMURA, Masanori WATAHIKI, Junko ISOBE, Keiko KIMATA, Jun-ichi KANATANI, Emi MAENISHI, and Kazunori OISHI

目的: カルバペネム耐性腸内細菌目細菌(carbapenem-resistant *Enterobacterales*, CRE)感染症は、メロペネムなどのカルバペネム系薬剤及び広域 β -ラクタム剤に対して耐性を示す腸内細菌目細菌による感染症である。主に感染防御機能の低下した患者や外科手術後の患者、抗菌薬を長期にわたって使用している患者などに感染症を起こす。肺炎などの呼吸器感染症、尿路感染症、手術部位や皮膚・軟部組織の感染症、カテーテル関連血流感染症、敗血症、髄膜炎、その他多様な感染症を起こし、医療関連感染の原因となることもある。また、無症状で腸管等に保菌されることもある[1]。

国内では、2014年9月19日にCRE感染症が感染症法に基づく感染症発生動向調査の5類全数把握疾患に追加された。

2017年3月28日に、厚生労働省健康局結核感染症課長通知が発出され、地域における流行状況を把握するために、CRE感染症の届出があった際には地方衛生研究所等での耐性遺伝子等の試験検査が実施されることとなった。また、地域内の医療機関等への情報提供を行うとともに必要に応じた対策の実施が求められている[2]。

ここでは富山県における2021年の患者発生動向と、分離されたCREの β -ラクタム剤分解酵素である β -ラクタマーゼ遺伝子保有状況について報告する。

材料と方法:

1. CRE感染症届出数

2021年1~12月に県内の医療機関から報告されたCRE感染症について菌種別に集計した。あわせて富山県および全国の過去6年間の届出数を

集計した。

2. CREの β -ラクタマーゼ遺伝子保有状況

県内医療機関で分離され、衛生研究所に搬入されたCRE9株について調査した。腸内細菌目細菌のカルバペネム耐性化に最も寄与するカルバペネマーゼ遺伝子(IMP型, NDM型, VIM型, KPC型, OXA-48型, GES型)の検出はPCR法[3]により行った。また、カルバペネマーゼ以外の β -ラクタマーゼの確認のため、基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ(ESBL)遺伝子(TEM型, SHV型, CTX-M-1型, CTX-M-2型, CTX-M-8型, CTX-M-9型)およびAmpC β -ラクタマーゼ遺伝子(MOX型, CIT型, DHA型, ACC型, EBC型, FOX型)の保有状況についてもPCR法にて調査を行った[4, 5]。

3. β -ラクタマーゼ産生性試験

メタロ β -ラクタマーゼ産生性は、メルカプト酢酸ナトリウム(SMA)含有ディスクを用いた。KPC型カルバペネマーゼ及びAmpC β -カルバペネマーゼ産生性は、ボロン酸及びクロキサシリン溶液をメロペネム(MPN)及びセフメタゾール(CMZ)ディスクの阻止円径と、無添加ディスクの阻止円径を比較した。基質拡張性 β -カルバペネマーゼ産生性は、クラブラン酸・スルバクタム含有ディスクを用いて阻止円拡張能を調べた。

結果と考察:

1. CRE感染症届出数

富山県内の過去6年間のCRE届出数を表1に示した。2021年は12件の届出であった。本県におけるCREの届出数は、全国と比較すると低く推移している。

菌種別では、*Klebsiella aerogenes*(旧名:

表1. CRE 感染症の報告数 (2016～2021 年)

診断年	富山県	全 国
2016年	14	1, 573
2017年	10	1, 660
2018年	19	2, 289
2019年	10	2, 333
2020年	13	1, 922
2021年	12	2, 038

Enterobacter aerogenes) が5株, *Enterobacter cloacae* が3株, *Enterobacter sp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Serratia sp.* が各1株であった (表2).

2. CRE のβ - ラクタマーゼ遺伝子保有状況

県内の医療機関で分離されたCRE 感染症患者由来12株中9株のカルバペネマーゼ遺伝子, ESBL 遺伝子, AmpC β - ラクタマーゼ遺伝子の保有状況を調査した. 2021年に分離されたCRE 菌株からは, カルバペネマーゼ遺伝子およびESBL 遺伝子については検出されなかった. AmpC β - ラクタマーゼ遺伝子については, 2株からEBC型が検出された (表3). さらにこの2株についてはAmpC β - ラクタマーゼの阻害剤であるボロン酸を用いた試験によりAmpC β - ラクタマーゼ産生性が確認された.

腸内細菌目細菌の多くは, AmpC β - ラクタマーゼの産生と膜の透過性低下よりカルバペネム耐性を示すことが知られている [6]. この2株についてもEBC型 AmpC β - ラクタマーゼに加え, 細胞膜の透過性低下によりカルバペネム耐性を呈したものと考えられた.

今回、検査に供したCRE 9株について、2株のみ AmpC β - ラクタマーゼ遺伝子がPCR 法にて

表2. 富山県における菌種別 CRE 感染症届出状況 (2021 年)

菌種	届出数 (件)
<i>Klebsiella aerogenes</i>	5
<i>Enterobacter cloacae</i>	3
<i>Enterobacter sp.</i>	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1
<i>Serratia marcescens</i>	1
<i>Serratia sp.</i>	1
計	12

陽性であったが、他の7株については対象としたβ - ラクタマーゼ遺伝子はすべて陰性であった. この7株はボロン酸によりAmpC β - ラクタマーゼ産生性が確認された. AmpC β - ラクタマーゼ遺伝子はPCR 法にて陰性であっても、検出のために用いられたPCR 法には反応しないAmpC β - ラクタマーゼ遺伝子が存在し, AmpC β - ラクタマーゼが産生されていることが示唆された.

CRE の中でもカルバペネマーゼを産生する腸内細菌目細菌は, β - ラクタム剤以外の抗菌薬に耐性となる場合も多く, 予後が悪いと報告されている. また, カルバペネマーゼ遺伝子のほとんどがプラスミド上に存在していることが知られており, 腸内細菌目の他の様々な菌種に容易に伝播し, CRE が国内に蔓延する可能性がある. そのため, 今後もCRE の発生動向を注視し, カルバペネマーゼ遺伝子保有状況等の調査を継続していくことは公衆衛生上, また医療関連感染対策上重要である [1].

謝 辞

本調査の実施にあたり、菌株収集等にご協力いただきました富山県医務課、富山県健康対策室感

表3. 富山県におけるCRE 患者分離株のβ - ラクタマーゼ遺伝子検出状況 (2021 年)

菌種 (分離数)	AmpC β - ラクタマーゼ遺伝子					
	MOX型	CIT型	DHA型	ACC型	EBC型	FOX型
<i>Klebsiella aerogenes</i> (5) * ¹	0	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i> (3)	0	0	0	0	2	0
<i>Enterobacter sp.</i> (1) * ²	— * ³	—	—	—	—	—
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (1) * ²	—	—	—	—	—	—
<i>Serratia marcescens</i> (1)	0	0	0	0	0	0
<i>Serratia sp.</i> (1)	0	0	0	0	0	0

*¹) 未搬入株1株含むため、数値は4株の結果; *²) 未搬入; *³) —, 未実施

染症対策課および各厚生センター，富山市保健所，また，菌株を分与いただきました県内の医療機関の関係各位に深謝いたします。

文 献

1. 病原微生物検出情報 (2019). 40, 1-14
2. 厚生労働省健康局結核感染症課長通知「カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) 感染症にかかる試験検査の実施について」健感発 0328 第 4 号, 平成 29 年 3 月 28 日
3. Watahiki M, Kawahara R, Suzuki M, et al. (2020) Jpn J Infect Dis., 7, 166-72
4. Le QP, Ueda S, Nguyen TNH, et al. (2015) Foodborne Pathog Dis., 12, 719-725
5. Pérez-Pérez FJ, Hanson ND. (2002) J Clin Microbiol., 40, 2153-2162
6. Jacoby GA. (2009) Clin Microbiol Rev., 22, 161-182

富山県における2021年の病原微生物検出情報

磯部 順子 前西 絵美 綿引 正則 金谷 潤一
中村 雅彦 木全 恵子 大石 和徳

Pathogenic Bacteria Isolated in Toyama Prefecture, 2021

Junko ISOBE, Emi MAENISHI, Masanori WATAHIKI, Jun-ichi KANATANI,
Masahiko NAKAMURA, Keiko KIMATA, and Kazunori OISHI

目的：当所では県内10か所の公的病院、4か所の富山県厚生センター、富山市保健所、衛生研究所を定点として病原細菌の検出情報を収集し、県内での感染症の動向監視の一助とする。

結果：2021年1月から12月までの検出情報を菌種別（図1）および材料別（表1、2）に集計した。病院で分離された *Staphylococcus aureus* については、methicillin - resistant *S. aureus* (MRSA) の割合（表3）を求めた。

全体の分離菌（15,795株）は昨年の15,220株に比べると103.8%と増加傾向を示した。詳細をみると、菌種別では *Escherichia coli* が分離数4,877株（30.9%）でもっとも多かった。次いで、*S. aureus* が2,771株（17.5%）、コアグラーゼ陰性 *S. aureus* 1,783株（11.3%）、*Klebsiella pneumoniae* が1,324株（8.4%）で、昨年と比べるといずれも増加していた。

検出材料別の分離菌は、尿から7,098株（44.9%）と最も多く、続いて喀痰、気管吸引液お

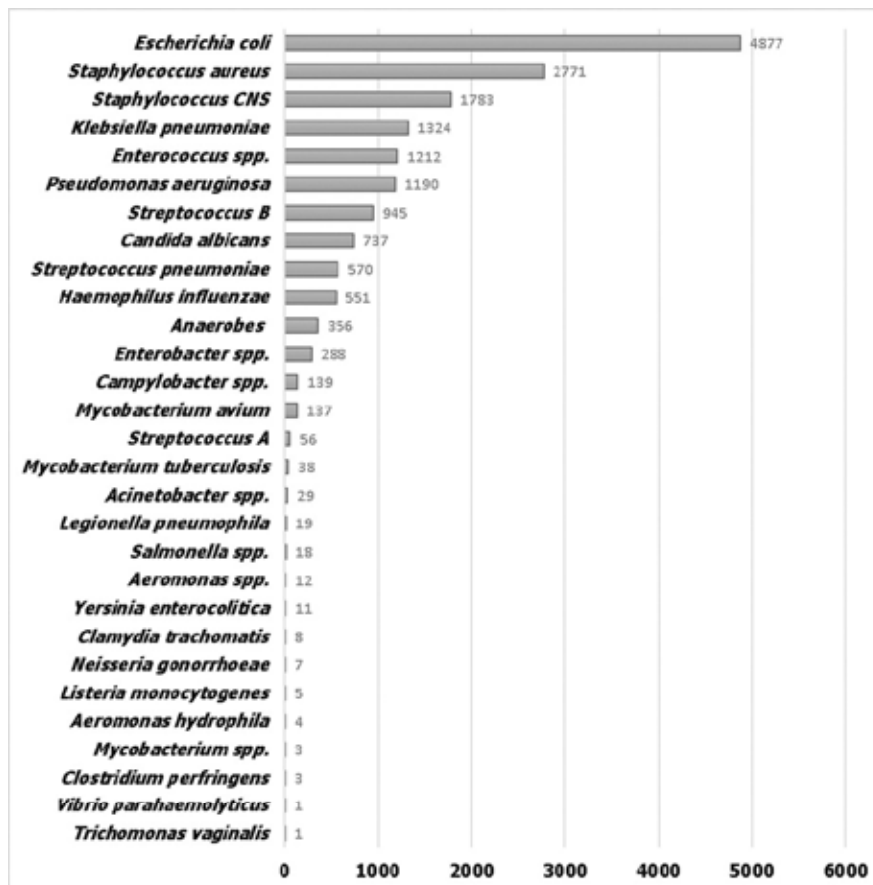


図1. 菌種別病原細菌分離状況（2021）

表 1. 材料別病原細菌分離状況

分離材料	分離菌数	割合(%)
尿	7,098	44.9
喀痰、気管吸引液および下気道の材料	3,352	21.2
血液	2,475	15.7
陰部尿道頸管擦過(分泌)物	1,165	7.4
糞便	635	4.0
咽頭および鼻咽喉からの材料咽頭	698	4.4
穿刺液(胸水、腹水、関節液など)	368	2.3
髄液	4	0.0
合計	15,795	100.0

よび下気道の材料から3,352株(21.2%)、血液から2,475株(15.7%)の順であった。これらの材料からの分離菌で全体の81.8%を占めた。この傾向は昨年と同様であった。

以下に材料別の分離状況について報告する。

糞便：分離菌数は635株で、前年の77.6%であった。最も多かったのは*S. aureus* 265株(うちMRSA107株40.4%)で、前年の103.0%であった。次に多かったのは*E. coli* 195株であったが、前年の62株のおよそ半数に減少した。*E. coli*(EHEC/VTEC)は16株分離され、その内訳は血清群O157が8株、O121が2株、O8、O26、Og49、O91、O111、O128各1株であった(データ未掲載)。*Campylobacter*は128株で前年の83.7%であった。これまでもっとも多く分離された*E. coli*の分離数がこの2年間で著しく減少した。

穿刺液：分離菌数は368株で前年の102.0%であった。穿刺液からの分離菌数は2017年からわずかではあるが増加傾向が続いている。*Anaerobes*, *E. coli*, methicillin - sensitive *S. aureus* (MSSA), コアグララーゼ陰性 *S. aureus* が多く分離された。

髄液：分離菌数は4株(前年は6株)であった。

血液：分離菌数は2,475株、前年の108.5%であった。*E. coli* (919株)、コアグララーゼ陰性 *S. aureus*

(890株)、*S. aureus* (354株、内MRSA38.4%)が多く、これら3菌種で87.4%を占めた。

咽頭および鼻咽喉：分離菌数は698株で前年の109.9%であった。分離されたのは*Streptococcus pneumoniae* (335株)、*Haemophilus influenzae*, (323株)で94.3%を占めた。

喀痰、気管吸引液および下気道：分離菌数は3,352で昨年の3,386株とほぼ同様であった。*S. aureus* が1,472(うちMRSA668株45.4%)とともとも多く、*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*なども多く分離された。

尿：分離菌数は7,098株で前年の108.2%であった。*E. coli* の分離菌数が3,335株とともとも多く、尿からの分離菌数のおよそ半数(47.0%)を占めた。*Enterococcus* spp, *K. pneumoniae*なども多く分離された。

陰部尿道頸管擦過(分泌)物：分離菌数は1,165で前年とほぼ同数であった。分離菌も昨年同様*Streptococcus*, *B*, *Candida albicans*が多かった。

謝 辞

県内10か所の公的病院と4か所の富山県厚生センター、富山市保健所の検査担当各位に感謝いたします。

表2. 月別・菌種別病原微生物検出状況

1) 分離材料：糞便

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Salmonella</i> Typhi													0
<i>Salmonella</i> Paratyphi A													0
<i>Salmonella</i> O4		2				1	1	1	1				6
<i>Salmonella</i> O7					1			2	1			1	5
<i>Salmonella</i> O8									1				1
<i>Salmonella</i> O9					1	1				1			3
<i>Salmonella</i> O9,46 (D2)													0
<i>Salmonella</i> O3,10 (E1,E2,E3)													0
<i>Salmonella</i> O1,3,19 (E4)													0
<i>Salmonella</i> O13 (G1, G2)													0
<i>Salmonella</i> O18 (K)													0
<i>Salmonella</i> その他													0
<i>Salmonella</i> 群不明	1									2			3
<i>Listeria monocytogenes</i>													0
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1		1		1	1	2	2	1	1	1		11
<i>Y. pseudotuberculosis</i>													0
<i>Vibrio cholerae</i> O1 :El Tor,Ogawa,CT(+)													0
<i>Vibrio cholerae</i> O1 :El Tor,Ogawa,CT(-)													0
<i>Vibrio cholerae</i> O1 :El Tor,Inaba,CT(+)													0
<i>Vibrio cholerae</i> O1 :El Tor,Inaba,CT(-)													0
<i>Vibrio cholerae</i> O139,CT(+)													0
<i>Vibrio cholerae</i> O139,CT(-)													0
<i>Vibrio cholerae</i> O1,139以外													0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>										1			1
<i>Vibrio fluvialis</i>													0
<i>Vibrio mimicus</i>													0
<i>Aeromonas</i> spp.			1	2		1	1	2	2	3	2		14
<i>Plesiomonas shigelloides</i>													0
<i>Campylobacter</i> spp.	7	8	5	11	9	9	11	19	11	15	11	12	128
<i>Staphylococcus aureus</i>	30	19	25	27	17	25	26	16	16	21	20	23	265
<i>Clostridium perfringens</i>	1	1		1									3
<i>Clostridium botulinum</i> E													0
<i>Clostridium botulinum</i> E以外													0
<i>Bacillus cereus</i>													0
<i>Bacillus thuringiensis</i>													0
<i>Escherichia coli</i> 組織侵入性													0
<i>Escherichia coli</i> 毒素産性	1	3	2										6
<i>Escherichia coli</i> 病原大腸菌	18	15	17	17	21	11	14	8	9	11	15	16	172
<i>Escherichia coli</i> EHEC/VTEC		1	1	1	1	2	2	4	2	1	1		16
<i>Escherichia coli</i> その他,不明											1		1
<i>Shigella dysenteriae</i> 型 ()													0
<i>Shigella dysenteriae</i> 型 ()													0
<i>Shigella flexneri</i> 型 ()													0
<i>Shigella flexneri</i> 型 ()													0
<i>Shigella boydii</i> 型 ()													0
<i>Shigella boydii</i> 型 ()													0
<i>Shigella sonnei</i>													0
<i>Shigella</i> 群不明													0
<i>Entamoeba histolytica</i>													0
<i>Cryptosporidium</i> spp.													0
<i>Giardia lamblia</i>													0
合 計	59	49	52	59	51	51	57	54	44	56	51	52	635

注：() 内は海外旅行者分画掲、○で囲んだ数字は同一フォーカスからの分離株を含む。

2) 分離材料：穿刺液（胸水，腹水，関節液など）

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Escherichia coli</i>	2	3	4	8	11	4	4	10	5	12	3	3	69
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	1	3	2	3	2	2	7	2	6	2	1	32
<i>Haemophilus influenzae</i>													0
<i>Neisseria meningitidis</i>													0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				2	4	1	1	2	4	1	1	1	17
<i>Mycobacterium</i> spp.			1					1				1	3
<i>Staphylococcus aureus</i>	4	6	8	9	11	8	4	6	8	7	3	3	77
<i>Staphylococcus</i> 37℃以下陰性	6	6	2	2	6	2	5	16	3	3	2	3	56
<i>Streptococcus pneumoniae</i>									1				1
Anaerobes	7	7	11	6	10	6	5	19	7	22	8	5	113
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>													0
合 計	20	23	29	29	45	23	21	61	30	51	19	17	368

3) 分離材料：髄液

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Escherichia coli</i>										1			1
<i>Haemophilus influenzae</i>													0
<i>Neisseria meningitidis</i>													0
<i>Listeria monocytogenes</i>												1	1
<i>Staphylococcus aureus</i>													0
<i>Streptococcus</i> , B	1												1
<i>Streptococcus pneumoniae</i>			1										1
合 計	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	4

4) 分離材料：血液

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Escherichia coli</i>	64	61	67	69	97	89	71	80	78	83	72	88	919
<i>Salmonella</i> Typhi													0
<i>Salmonella</i> Paratyphi A													0
<i>Salmonella</i> spp.													0
<i>Haemophilus influenzae</i>			1		2								3
<i>Neisseria meningitidis</i>													0
<i>Listeria monocytogenes</i>											1	2	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	2	5	4	4	6	7	12	9	7	5	4	69
<i>Staphylococcus aureus</i>	29	39	28	27	19	33	23	34	34	22	36	30	354
<i>Staphylococcus</i> 37℃以下陰性	61	45	62	47	61	83	90	110	123	86	54	68	890
<i>Streptococcus</i> , B	6	1	9	1	4	8	7	3	3	4	5	3	54
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3	2	1	1	5	1		1	2	3	3	5	27
Anaerobes	19	10	17	11	10	6	19	13	12	22	5	12	156
<i>Plasmodium</i> spp.													0
合 計	186	161	189	160	202	226	217	253	261	227	181	212	2475

5) 咽頭および鼻咽頭からの材料

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Bordetella pertussis</i>													0
<i>Haemophilus influenzae</i>	17	21	26	43	43	37	50	26	10	9	14	27	323
<i>Neisseria meningitidis</i>													0
<i>Streptococcus</i> , A	3	3	3	5	4	6	2	4	1	1	4	4	40
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	11	14	16	56	47	46	53	33	12	14	16	17	335
<i>C. diphtheriae</i>													0
合 計	31	38	45	104	94	89	105	63	23	24	34	48	698

6) 分離材料：喀痰，気管吸引液および下気道の材料

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	2	1		3	4	4	4	1	4	7	4		34
<i>Mycobacterium avium</i> - intracellulare complex	9	10	9	7	8	8	10	13	7	10	20	6	117
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	52	43	32	37	38	44	58	60	64	50	46	43	567
<i>Haemophilus influenzae</i>	16	14	15	18	13	18	10	22	17	15	19	15	192
<i>Legionella pneumophila</i>	1	2				3	5	3	1	3	1		19
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	48	35	46	48	30	42	64	44	53	49	44	40	543
<i>Staphylococcus aureus</i>	132	113	117	119	121	129	132	124	125	113	126	121	1472
<i>Streptococcus</i> , A			2	2	1	2	2			1		2	12
<i>Streptococcus</i> , B	13	15	16	11	11	12	14	14	15	16	10	11	158
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	9	11	15	20	17	17	15	19	9	19	13	10	174
Anaerobes	2	7	7	4	6	2		1	8	10	10	7	64
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>													0
合 計	284	251	259	269	249	281	314	301	303	293	293	255	3352

7) 分離材料：尿

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Escherichia coli</i>	273	211	299	269	281	294	285	306	278	297	267	275	3335
<i>Enterobacter</i> spp.	19	21	17	17	24	21	17	26	30	22	22	30	266
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	56	39	45	42	50	47	57	55	63	60	55	53	622
<i>Acinetobacter</i> spp.	1	1	4	5	1		1	2	3	3	2	4	27
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29	29	22	37	31	36	45	55	51	38	49	40	462
<i>Staphylococcus aureus</i>	28	30	29	35	21	36	34	32	27	38	41	26	377
<i>Staphylococcus</i> ヲリゾーミ陰性	75	50	66	47	38	68	66	66	65	56	72	40	709
<i>Enterococcus</i> spp.	87	81	100	84	88	105	89	111	90	95	100	82	1112
<i>Candida albicans</i>	20	15	16	10	21	14	17	17	17	15	13	13	188
合 計	588	477	598	546	555	621	611	670	624	624	621	563	7098

8) 分離材料：陰部尿道頸管擦（分泌）物

菌種・群・型	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>							5				1		6
<i>Streptococcus</i> , B	49	61	49	55	62	55	50	54	62	55	55	55	662
<i>Chlamydia trachomatis</i>				1					3	1	1	1	7
<i>Ureaplasma</i>													0
<i>Candida albicans</i>	27	34	43	44	46	44	38	46	48	37	47	35	489
<i>Trichomonas vaginalis</i>			1										1
合 計	76	95	93	100	108	99	93	100	113	93	104	91	1165

表3. 材料別の *Staphylococcus aureus* の内訳

		1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	合計
糞便	MRSA	10	9	14	9	8	11	11	5	9	7	7	7	107
	MSSA	20	10	11	18	9	14	15	11	7	14	13	16	158
	未検査													0
	件数	30	19	25	27	17	25	26	16	16	21	20	23	265
穿刺液	MRSA	1	2	1	4	5	3	0	1	1	1	1	0	20
	MSSA	3	4	7	5	6	5	4	5	7	6	2	3	57
	未検査													0
	件数	4	6	8	9	11	8	4	6	8	7	3	3	77
髄液	MRSA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	MSSA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	未検査													0
	件数	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
血液	MRSA	10	13	15	9	10	7	9	14	12	6	6	12	123
	MSSA	19	26	13	18	9	26	14	20	22	16	30	18	231
	未検査													0
	件数	29	39	28	27	19	33	23	34	34	22	36	30	354
呼吸器	MRSA	54	49	58	56	49	55	54	69	53	60	59	52	668
	MSSA	78	64	59	63	72	74	78	55	72	53	67	69	804
	未検査													0
	件数	132	113	117	119	121	129	132	124	125	113	126	121	1472
尿	MRSA	15	14	11	18	10	19	18	14	13	17	18	9	176
	MSSA	13	16	18	17	11	17	16	18	14	21	23	17	201
	未検査													0
	件数	28	30	29	35	21	36	34	32	27	38	41	26	377
その他	MRSA													0
	MSSA													0
	未検査													0
	件数													0

富山県内で分離された溶レン菌の血清型および薬剤感受性 (2021年)

磯部 順子 前西 絵美 綿引 正則 中村 雅彦
金谷 潤一 木全 恵子 柴山 直美¹ 堀江 妙子¹
竹島 亜実¹ 柏木裕太郎¹ 池辺 忠義² 大石 和徳

Serotypes and Antibiotic Susceptibilities of Clinical Hemolytic Streptococcal Isolates in Toyama Prefecture, 2021

Junko ISOBE, Emi MAENISHI, Masanori WATAHIKI, Masahiko NAKAMURA,
Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA, Naomi SHIBAYAMA, Taeko HORIE,
Ami TAKESHIMA, Yutaro KASHIWAGI, Tadayoshi IKEBE, and Kazunori OISHI

目的：A群溶血性レンサ球菌（溶レン菌）は、急性咽頭炎、扁桃炎、膿瘍疹など様々な感染症を引き起こすだけでなく、重篤な場合には進行が早く、致死率の高い劇症型の疾患を引き起こすことが知られている。感染症法では、本菌による咽頭炎は5類感染症小児科定点把握疾患に、また、劇症型溶レン菌感染症は、5類感染症全数報告疾患に位置付けられる。劇症型溶レン菌感染症の患者から分離される溶レン菌はA群が最も多いが、近年ではB群やG群の割合も増え、レファレンスセンターの報告によると、2021年にはついにG群（101株）がA群（94株）をわずかに超えた[1]。しかしながら、劇症型となる要因や発生機序は未だ明らかではないため、流行株の調査を実施することは重要である。

当所では、衛生微生物技術協議会溶レン菌レファレンスセンターの東海・北陸支部センターとして、A群溶レン菌の血清型別や劇症型溶レン菌感染症由来株の収集および疫学調査を実施している。ここでは、2021年に富山県内で分離されたA群溶レン菌の血清型別結果および劇症型溶レン菌感染症の病原体サーベイランス結果について報告する。

材料と方法：

(1) 感染症発生動向調査による患者数

2021年1～12月に富山県で報告されたA群溶レン菌咽頭炎および劇症型溶レン菌感染症の届出数を集計した。

(2) A群溶レン菌の血清型別

供試菌株は、2021年に富山県内の1医療機関で患者から分離されたA群溶レン菌16株について、T血清型別を実施した。型別は「T型別用免疫血清」（デンカ）を用いてスライド凝集反応にて行った。

(3) 劇症型溶レン菌感染症患者分離株の病原体サーベイランス

2021年に富山県内で届出された劇症型溶レン菌感染症は10件であった。1事例では由来の異なる2株が分離されたため、収集された11株について、群別、T血清型別、菌種同定、*emm*遺伝子型別、薬剤感受性試験を実施した。群別試験は、「ストレプトLA NX」（デンカ）を用いた。T血清型別は、上記の(2)A群溶レン菌の血清型別と同様に行った。菌種同定は、「API 20 STREP」（バイオメリュー）を用いた。*emm*遺伝子型別および薬剤感受性試験は、国立感染症研究所細菌第一部にて実施した。調べた薬剤は、ペニシリンG (PCG)、アンピシリン (ABPC)、セファゾリン (CEZ)、セフトキシム (CTX)、メロペネム (MEPM)、バンコマイシン (VCM)、ダプトマイシン (DAP)、エリスロマイシン (EM)、クリンダマイシン (CLDM)、EM/CLDM、リネゾリド (LZD)、シプロフロキサシン (CPFX)、ミノサイクリン (MINO) の13薬剤である。

結果と考察：

(1) 感染症発生動向調査による患者数

富山県における2021年のA群溶レン菌咽頭炎の患者報告数は1,084人（定点あたり38.71人）で、

1. 富山市民病院, 2. 国立感染症研究所細菌第一部

定点報告数をこれまでと比較すると、2020年の114.83人、2019年の115.1人に比べ、およそ33.7%に減少した。その理由は明らかにはなっていない。

一方、2021年の劇症型溶レン菌感染症の患者報告数は10人で、2018年の20人をピークに減少している(図1)。2017年以前は10人前後であったので、このまま減少傾向が継続されるか、監視が必要である。

(2) A群溶レン菌のT血清型別

2021年に収集されたA群溶レン菌16株で、およそ半数の7株が10月に分離された。16株のT血清型はすべて型別不能(UT)であった。このUT株は、2016年には分離割合は6.7%で、多少の増減の後、2020年は57.1%、そして2021年には100%と増加傾向を示している。これらUT株について、1クローンが県内に広がっている可能性など、更なる解析が必要である。全国ではT-1型の

分離割合が17%程度と高いが、富山県では、2020年、2021年共にT-1に型別された株は認められなかった(図2)。

(3) 劇症型溶レン菌感染症患者分離株の病原体サーベイランス

収集した劇症型溶レン菌感染症患者から分離された溶レン菌11株について、検査結果を表1に示した。血清群別の結果、9(88.2%)株がG群で、残る2株はA群、B群が各1株であった。A群1株は*S. pyogenes*でT型、M型共に型別不能(UT)、*emm81.0*型であった。G群はすべてが*S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*で、これらの*emm*型は*stG6792.3*が4株、*stG245.0*が2株、これら以外の3株はそれぞれ異なる*emm*型であった。薬剤感受性については、MINO耐性が4株、うち3株はEM耐性も示した。CPFX耐性が3株、CLDM耐性が3株と、11株中8株(72.7%)で何らかの薬剤に耐性を示した。昨年は2/7株

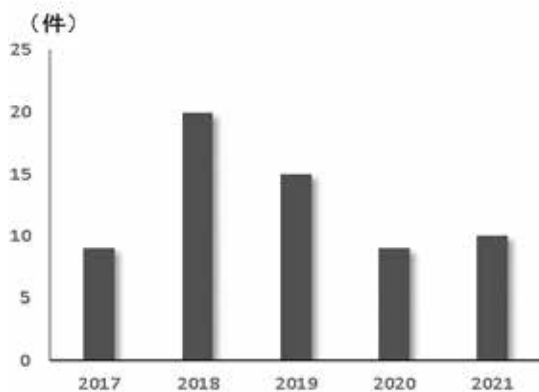


図1. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者報告数の推移(富山県)

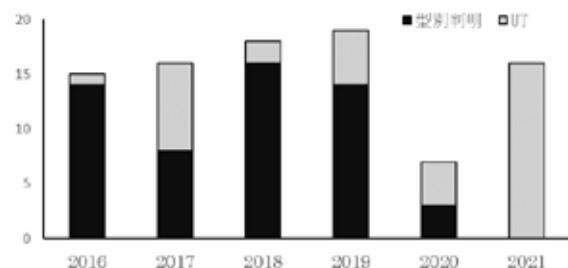


図2. A群溶血性レンサ球菌のT血清型別結果

表1. 富山県における劇症型溶血性レンサ球菌感染症報告数(2021)

	発症年月日	性別	年代	血清型別			<i>emm</i> 型	spe	薬剤感受性
				群	T型	M型			
1	2021年3月	女	50	G			<i>stG6792.3</i>		EM耐性、EM誘導CLDM耐性
2	2021年4月	男	80	G			<i>stG6792.3</i>		
3	2021年6月	男	80	B	I a				EM、MINO耐性
4	2021年6月	男	80	G			<i>stG245.0</i>		CPFX耐性
5	2021年6月	男	80	G			<i>stG245.0</i>		CPFX耐性
6	2021年6月	男	80	G			<i>stG6.1</i>		MINO耐性、CPFX低感受性
7	2021年7月	女	90	G			<i>stG6792.3</i>		
8	2021年7月	女	80	G			<i>stG6792.3</i>		EM、CLDM耐性
9	2021年9月	女	30	G			<i>stG10.0</i>		EM耐性、EM誘導CLDM耐性、MINO耐性
10	2021年9月	男	90	G			<i>stG166b.0</i>		
11	2021年10月	男	80	A	UT	UT	<i>emm81.0</i>	B,F	MINO耐性

(28.6%)に耐性が見られただけであったことから、今後耐性率の動向に注目したい。

劇症型溶レン菌感染症の報告数は全国的にも増加傾向にある。原因菌としてA群溶レン菌が多いが、G群溶レン菌も増加している。しかし、その原因は明らかになっていない。今後も動向を注視する必要があると考えられる。

謝 辞

本調査の実施にあたり、菌株を分与いただきま

した県内医療機関の関係各位に深謝いたします。また、菌株の収集にご協力いただきました県内厚生センター、富山市保健所に深謝いたします。

文 献

1. 国立感染症研究所 IDWR 速報データ 2021 第 52 週 <https://www.niid.go.jp/niid/ja/data/10886-idwr-sokuho-data-j-2152.html> (2022 年 5 月 15 日アクセス可能)

富山県における浴槽水中レジオネラ属菌の分離状況(2021年)

磯部 順子 金谷 潤一 木全 恵子 内田 薫
前西 絵美 綿引 正則 大石 和徳

Isolation of *Legionella* Species from Public Bath Water in Toyama Prefecture, 2021

Junko ISOBE, Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA, Kaoru UCHIDA,
Emi MAENISHI, Masanori WATAHIKI, and Kazunori OISHI

目的：レジオネラ属菌は土壌や淡水などの自然環境に広く棲息するが、近年は冷却塔、加湿器、循環式浴場など、人工的な水環境にも広く生息する。このレジオネラ属菌が肺胞マクロファージの中で増殖し、ヒトに経気道感染（レジオネラ症）を引き起こす。循環式浴用施設での集団感染事例[1-4]が多く報告され、レジオネラ症と浴用施設は強く関連していることが明らかとなっている。

レジオネラ症の届け出数は全国的に増加傾向を示し、2018年には2,130件と、ついに2,000件を超え[5]、その後も2,000件を超えた状況が続いている[6]。富山県の患者届け出数も増加傾向は全国同様である。届け出数は富山県、全国いずれも2020年にわずかに減少したが、2021年には再び増加に転じている[6,7]。富山県のレジオネラ症罹患率（人口10万人当たりの患者発生数）は3.87（全国第2位、2021年）で全国の罹患率1.67のおよそ2倍と、全国の中でも高い状況が続いている[7]。

富山県のレジオネラ症の発生予防に資することを目的として、おもな感染源となる浴用施設におけるレジオネラ属菌による汚染実態調査を継続している。ここでは2021年の結果を報告する。

材料と方法：

1. 対象と材料

2021年10、11月に県内8施設から採取した浴槽水30検体、カラン水10検体、シャワー水16検体、計56検体を試料とした。採水は厚生センターの担当者に依頼した。検体は採取後直ちにハイポ入り滅菌採水瓶に入れ、当日中または翌日（冷蔵保存）に当所へ搬入された。

2. 浴槽水の濃縮と培養

検査は令和元年9月19日付け薬生衛発0919第1号「公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ

属菌検査方法について」の「別添 公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法」[8]に従った。すなわち、検水800 mLをポリカーボネート製メンブランフィルター（直径47 mm, 0.22 μ m, 日本ミリポア）で吸引ろ過した。このフィルターを50 mL滅菌コニカルチューブに入れ8.0 mLの滅菌蒸留水を加え、ボルテックスミキサーで1分間攪拌し、100倍濃縮試料（未処理試料）とした。レジオネラ属菌以外の細菌（夾雑菌）の発育を抑制するために、濃縮試料のうち1.0 mLはpH2.2の0.2 M KCl - HCl（レジオネラ検体用前処理液：極東製薬工業）を等量加え5分間静置し、酸処理試料とした。また、1.0 mLは50℃20分間ヒートブロックで加熱し、加熱処理試料とした。酸処理試料は200 μ Lを、加熱処理試料と未処理試料は100 μ LをGVPC寒天培地（日水製薬）にコンラージ棒で全面に広げ、試料が吸収されるまで室温で静置した。菌数が多く、濃縮試料では菌数が測定できない場合も想定されるため、検体の原液（非濃縮検体）を用いて、濃縮試料と同様の培養（未処理のみ）も行なった。培地は乾燥しないよう湿潤箱に入れ、35℃7日間培養した。培養3日目から実体顕微鏡を用いてレジオネラ属菌に特異的に見られるモザイク模様、カットガラス様の形態を斜光法[9]により平板上の発育菌を観察した。

3. 同定および菌数測定

レジオネラ属菌様のコロニーを血液寒天培地（日本BD）およびBCYE α 寒天培地（日本ビオメリュー）に再分離し、2日後にBCYE α 寒天培地のみに発育したコロニーをレジオネラ属菌とした。菌数は処理法に関わらず、最も多く発育した培地のコロニー数を浴槽水100 mLあたりに換算し、検出限界値となる10 cfu以上を陽性とした。

4. 血清凝集試験

1 検体あたり 1～10 個の BCYE α 寒天に発育した菌を用い、病原体検出マニュアル [10] に従い、加熱抗原を作製した。反応はレジオネラ免疫血清（デンカ（株））および *Legionella* Latex Test Kit（オキソイド）を用いて行った。

5. DNA 抽出法

新鮮分離株を 5% キレックス懸濁液（日本バイオラド）に懸濁し、100℃ 10 分の加熱処理を行い、遠心（10,000 rpm, 5 分）して得られた上清を DNA 溶液とした。

6. LAMP 法による遺伝子検査

Loopamp レジオネラ検出試薬キット E（栄研化学）を用い、濁度装置 Loopamp EXIA で判定した。本法は定量性がないため、定性試験として遺伝子の増幅が認められた場合、レジオネラ属菌陽性とした。

結果：

1. 浴槽水の管理状況

採水日の遊離残留塩素濃度（以下残塩濃度）別検体数を図 1 に示した。「公衆浴場における衛生

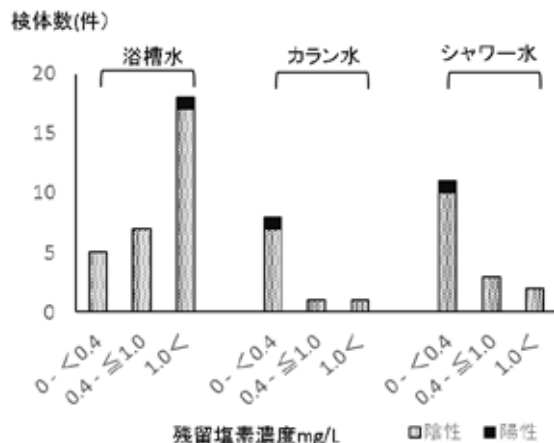


図 1. 給湯方式別残塩濃度の分布とレジオネラ属菌検出率

等管理要領等の改正について」(令和 2 年 12 月 10 日最終改正)の中の「別添 2 公衆浴場における衛生等管理要領」で推奨される「残塩濃度 0.4-1.0 mg/L」の検体は、7/30 検体 (23.3%) のみで、18/30 検体 (60.0%) の浴槽水が 1.0 mg/L を超えていた。これに対し、カラン水 8/10 検体 (80.0%)、シャワー水 11/16 検体 (68.8%) が残塩濃度 0.4 mg/L より低かった。検体の泉種を見ると、カラン水、シャワー水共におよそ半数で井戸水を利用していた (表 1)。レジオネラ属菌が検出された 3 検体のうち 1 検体は残塩濃度 1.0 mg/L であった。

2. レジオネラ属菌検出率

レジオネラ属菌の検出状況を表 1 に示した。本年の調査においては、培養法では浴槽水、カラン水、シャワー水いずれも 1 検体からレジオネラ属菌が検出されたのみであった。検出率は、浴槽水で 1/30 検体 (3.3%)、カラン水 1/10 検体 (10.0%)、シャワー水 1/16 検体 (6.3%) で、いずれも昨年の 0.3～0.4 倍と低かった。カラン水、シャワー水では井戸水検体からの検出であった。一方、LAMP 法による検出率は、10/30 検体 (33.3%)、カラン水 3/10 検体 (30.0%)、シャワー水 1/16 検体 (6.3%) と昨年に比べ低い傾向であったが、例年と同様、培養法より高かった。ただし、浴槽水 (33.3%) では昨年の検出率 (34.1%) と同等であった。

3. レジオネラ属菌数と分離菌種

培養法、LAMP 法いずれか一方、もしくは両法で陽性となった 15 検体について、培養法による定量値、レジオネラ属菌の血清群等をまとめた (表 2)。培養法、LAMP 法いずれも陽性となった検体は 2 検体、培養法のみ陽性が 1 検体、残る 12 検体は LAMP 法のみ陽性であった。LAMP 法のみ陽性となった検体の中には、Tt 値 (任意に設定した濁度に到達するまでの所要時間) が 27:54

表 1. 給湯方式・泉種別レジオネラ属菌検出率 (培養法 / LAMP 法)

		全検体		白湯		温泉		薬湯		井戸水	
		陽性数	検出率	陽性数	検出率	陽性数	検出率	陽性数	検出率	陽性数	検出率
浴槽水 (30)	培養法	1/30	3.3%	1/15	11.8%	0/11		0/3		0/1	
	LAMP法	10/30	33.3%	6/15	35.2%	2/11	18.2%	2/3	66.7%	0/1	
カラン水 (10)	培養法	1/10	10.0%	0/4		0/1				1/5	20.0%
	LAMP法	3/10	30.0%	0/4		0/1				3/5	60.0%
シャワー水 (16)	培養法	1/16	6.3%	0/4		0/2				1/10	10.0%
	LAMP法	1/16	6.3%	0/4		0/2				1/10	10.0%

表 2. レジオネラ属菌が検出された検体における調査結果

検体No.	検体名	給湯方式	施設名	泉種、水源	LAMP法	Tt値	培養結果 (CFU/100ml)	Legionella属菌
1	B01	浴槽水	A	白湯	+	30:30	<10	
2	B05	浴槽水	B	白湯	+	47:36	<10	
3	B06	浴槽水	B	白湯	+	27:54	<10	
4	B12	浴槽水	C	薬湯	+	30:00	<10	
5	B15	浴槽水	D	温泉・露天	+	29:42	<10	
6	B17	浴槽水	E	白湯	+	37:42	<10	
7	B18	浴槽水	E	白湯	+	31:12	<10	
8	B19	浴槽水	E	白湯・露天	+	26:48	10	Lp9
9	B20	浴槽水	E	薬湯	+	31:42	<10	
10	B25	浴槽水	F	温泉	+	29:00	<10	
11	C01	カルン水	A	井戸水	+	34:18	<10	
12	C06	カルン水	E	井戸水	+	35:48	<10	
13	C10	カルン水	G	井戸水	+	30:12	40	Lp6
14	S05	シャワー水	C	井戸水	+	48:00	<10	
15	S16	シャワー水	G	井戸水	-		70	Lp5,Lp6,UT

(No.3), 29:42 (No.5), 29:00 (No.10) と比較的小さく、遺伝子量が多いと推測される検体も認められた。データは示していないが、これらの3検体は採水時の残塩濃度がいずれも1.5以上と高かった。

今回分離されたレジオネラ属菌は*L. pneumophila*とUT(型別不能)であった。その内訳はLp6がカルン水、シャワー水から、Lp5がシャワー水から、Lp9が浴槽水から分離され、No.15のシャワー水からはUTも分離された。

考察：レジオネラ症の感染源は多様であるが、集団発生事例では、老人福祉施設でのポータブル加湿器(2017年)[11]や入浴施設(2019年)[12]のように感染源・原因施設はこれまでの報告と同様である。しかしながら、近年では大規模な台風や豪雨による水害が発生した被災地の泥などからもレジオネラ属菌が分離され[13]、そのような地域からの報告数が増加する状況にある。幸い富山県ではこのような大規模な水害などは発生していないが、人口あたりの報告数は高い状況で推移している。富山県におけるレジオネラ症の感染源は、患者への聞き取り調査などからおおよそ4割が浴用施設であろうと推定されるが、感染源の特定には至らない場合がほとんどである。このような背景のなか、これら4割の患者を減らすため、浴用施設のレジオネラ属菌の調査を継続し、施設の衛生管理を徹底するための資料としている。

今回の調査ではレジオネラ属菌の検出率はこれ

までになく低く、遺伝子検査でのみレジオネラ属菌が検出されている状況は、塩素消毒によりレジオネラ属菌がコントロールされているものと思われる。一方、ミストを発生するリスクが高いシャワー水やカルン水では、残塩濃度が低い点が非常に危惧される。カルン水やシャワー水については、現在、日常的な衛生管理状況をどのように把握するか、解決されていない課題である。

富山県では2016年3月にはレジオネラ症患者発生時における対応要領を制定するなど、行政指導を強化しているが、患者数は依然増加傾向を示しており、レジオネラ症対策の難しさを示している。コロナ禍が続くなかでも増加しているレジオネラ症の動向に注視していかねばならない。浴用施設の利用以外の感染源の探索を含め、レジオネラ症感染防止対策について、更なる研究が必要であろう。

謝 辞

本研究を実施するにあたり、検体採取にご協力いただきました浴用施設および厚生センター、富山市保健所、生活衛生課の関係各位に心より感謝いたします。

なお、本研究は厚生労働科学研究費補助金「健康安全・危機管理対策総合研究事業」の一環として行った。

文 献

1. 岡田美香, 河野喜美子, 倉 文明, 前川純子, 渡辺治雄, 八木田健司, 遠藤卓郎, 鈴木 泉 (2005). 感染症誌, 79, 365-374
2. Nakamura H., Yagyu H., Kishi K., et al. (2003). Intern Med, 42, 806-811
3. 厚労省生活衛生技術研修「2017年に広島県内で発生したレジオネラ症集団感染事案について」<https://www.mhlw.go.jp/file/06-Seisakujouhou-10900000-Kenkoukyoku/0000194768.pdf?msckid=7f316ecbd0d011ecacef11c37956a6b8> (2022年5月15日アクセス可能)
4. 国立感染症研究所. (2010). 病原微生物検出情報, 31, 331-333 <http://idsc.nih.go.jp/iasr/index-j.html> (2022年5月15日アクセス可能)
5. 国立感染症研究所 IDWR 速報データ 2018 第 52 週 <https://www.niid.go.jp/niid/ja/data/8508-idwr-sokuho-data-j-1852.html> (2022年5月24日アクセス可能)
6. 国立感染症研究所 IDWR 速報データ 2021 第 52 週 <https://www.niid.go.jp/niid/ja/data/10886-idwr-sokuho-data-j-2152.html> (2022年5月15日アクセス可能)
7. 国立感染症研究所 IDWR 速報データ 2020 第 52 週 <https://www.niid.go.jp/niid/ja/data/10103-idwr-sokuho-data-j-2053.html> (2022年5月24日アクセス可能)
8. 「公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法について」の「別添 公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法」令和4年5月15日付け薬生衛発 0919 第1号
9. 森本 洋. (2010). 環境感染誌, 25, 8-14
10. 病原体検出マニュアル, 国立感染症研究所, 全国地方衛生研究所, 2020年9月版
11. 厚労省生活衛生技術研修「加湿器を原因とした老人福祉施設でのレジオネラ症集団発生事例」<https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/000483754.pdf> (2022年5月15日アクセス可能)
12. 静岡市内の入浴施設におけるレジオネラ症患者の集団発生について <https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/000590890.pdf> (2022年5月15日アクセス可能)
13. 国立感染症研究所. (2020). 病原微生物検出情報, 41, 210 <https://www.niid.go.jp/niid/ja/legionella-m/legionella-iasrd/9972-489d01.html> (2022年5月15日アクセス可能)

トリカブトの誤食による食中毒事例

堀井 裕子 中山恵理子

A Case Report of Food Poisoning by *Aconitum*

Yuko HORII, and Eriko NAKAYAMA

はじめに：トリカブト類はアコニチン系アルカロイドを全草に含む有毒植物で、春から初夏にかけての山菜採りの時期に食用野草との誤食による中毒事故が報告されている。これらは北海道から東北地方で多発しているが、富山県においても2021年5月に食中毒が発生した。これは富山県で食中毒統計が残っている1956年以来初めての事例であった。今回、その原因となった食品についてアコニチン系アルカロイド成分の測定を行ったので、その概要を報告する。

事例概要：2021年5月に富山市内の医療機関から市内の飲食店で食事をした2名が意識障害、嘔吐、下痢等の症状を呈し救急搬送されているとの連絡があった。富山市保健所が調査したところ、患者は飲食店で野草のおひたしを喫食していた。野草は飲食店の店主が採取したもので、モミジガサのおひたしとしてお猪口くらいの大きさの小鉢で提供されていた。この原因食品を当該飲食店で喫食した人9名のうち食中毒症状を呈したのは2名であった。おひたしの残品を富山県中央植物園で形態鑑別したところ、モミジガサと異なる葉片が含まれていることが確認され、トリカブトと特定された。

方法：

1. **試料：**調理品残品の野草のおひたし（-20℃冷凍品、一度解凍し再凍結したもの）。添加回収試験用には茹でほうれん草を用いた。

2. **標準品および試薬等：**標準品はブシジエステルアルカロイド混合標準物質（富士フィルム和光純薬（株）製、アコニチン0.05 mg、ジェサコニチン0.05 mg、ヒパコニチン0.15 mg、メサコニチン0.1 mgの混合物）を用いた。この混合標準物質をアセトニトリル2.5 mLで溶解し、標準原液とした（アコニチン20 µg/mL、ジェサコニチン20 µg/mL、ヒパコニチン60 µg/mL、メサコ

ニチン40 µg/mL）。

10%（w/v）トリクロロ酢酸：トリクロロ酢酸10 gを水に溶解し100 mLとした。

固相抽出カラム：Agilent社製 Captiva EMR Lipids 300 mg

メタノールおよびアセトニトリルはLC/MS用、その他の試薬は特級を用いた。水はmilliQ-Direct 8で精製した超純水を使用した。

3. 装置及び測定条件

(1) 装置

LC-MS/MS：高速液体クロマトグラフ：Waters AQUITY UPLC H-Class, 質量分析計：Waters Xevo TQ-S micro

(2) LC-MS/MS条件

・LC条件

カラム：AQUITY UPLC HSS T3 (2.1 mmI.D. × 100 mm, 1.8 µm), カラム温度：40℃, 流速：0.3 mL/min, 注入量：5 µL, 移動相A：5 mM ギ酸アンモニウム水溶液, 移動相B：メタノール, グラジエント条件：A液99%（0分）→40%（3分）→35%（5分）→1%（5.5分, 4.5分間保持）→99%（10分, 5分間保持）

・MS/MS条件

イオン化法：ESI（+）, 測定モード：MRM, キャピラリー電圧：1.0 kV, 脱溶媒ガス流量：600 L/hr, 脱溶媒ガス温度：500℃, コーンガス流量：50 L/hr, ソース温度：150℃, 測定イオン：アコニチン プリカーサーイオン m/z 646.5（コーン電圧32 V）, プロダクトイオン 定量 m/z 586.5（コリジョンエネルギー30 eV）, 参照 m/z 105.0（60 eV）, ジェサコニチン プリカーサーイオン m/z 676.5（コーン電圧32 V）, プロダクトイオン 定量 m/z 616.5（コリジョンエネルギー34 eV）, 参照 m/z 107.0（96 eV）, ヒパコニチン プリカーサーイオン m/z 616.5（コーン電圧36 V）, プロダクトイオン 定量 m/z 556.5（コリジョンエネルギー32 eV）, 参照 m/z 105.0（64 eV）, メサ

コニチン プリカーサーイオン m/z 632.5 (コーン電圧 36 V), プロダクトイオン 定量 m/z 572.5 (コリジョンエネルギー 32 eV), 参照 m/z 105.0 (66 eV).

4. 試験溶液調製: 南谷らの方法 [1] を参考に以下の通り実施した (図1). 試料 5 g を 50 mL ポリプロピレン製遠心管に採取し, 10% (w/v) トリクロロ酢酸溶液 10 mL とメタノール 10 mL を加えて 2 分間ホモジナイズした. これにメタノールを約 50 mL まで加えて混和後, 15℃, 6,000 rpm で 5 分間遠心分離し上清を採り, さらにメタノールを加えて全量を 50 mL とした. このメタノール抽出液 2 mL をとり, 10 mL のガラス製遠心管にセットした Captiva EMR Lipids カートリッジに負荷し, 常温, 2,700 rpm で 2 分間遠心分離し, 溶出液を捨てた. さらに抽出液 1 mL を負荷し, 同様に遠心分離して得られた溶出液に水を加えて 10 mL に定容し, 試験溶液とした.

5. 検量線の作成: ブシジエステルアルカロイド混合標準原液を 0.2% トリクロロ酢酸 8% メタノール溶液で希釈し, アコニチン, ジェサコニチン 0.0001 ~ 0.02 mg/L, ヒパコニチン 0.0003 ~ 0.06 mg/L, メサコニチン 0.0002 ~ 0.04 mg/L の検量線用標準溶液を調製した.

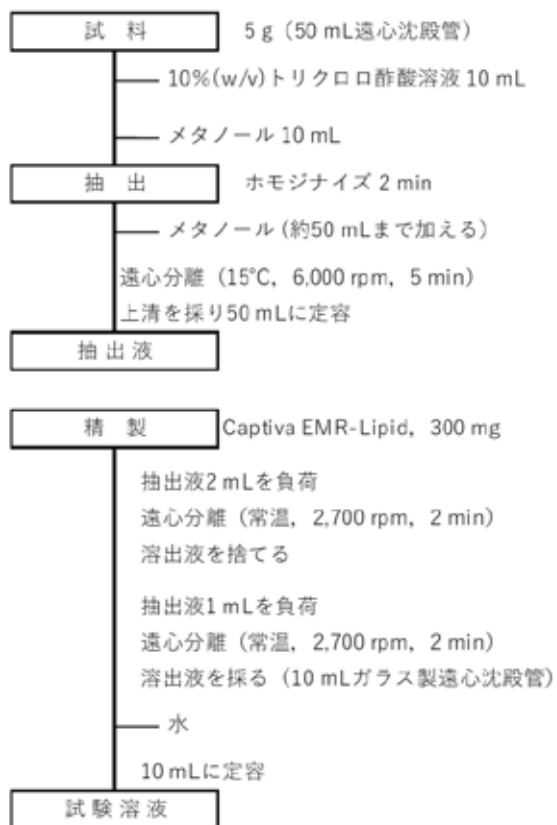


図1. 試験溶液調製法



図2. 野草のおひたし
(解凍品の葉の部分)

結果及び考察: 搬入された野草のおひたし (解凍試料の葉の部分) を図2に示した. 凍結されていた試料を解凍したところ, 固形分 (葉) と水分が分離したため, 前処理用の試料は葉と水分の各々の重量が試料全体と同じ割合になるようにして合計 5 g (葉 2.2 g, 水分 2.8 g) を 3 本採取した.

LC-MS/MS における試料および標準液 (定量下限値濃度) の測定クロマトグラムを図3に, 定量結果を表1に示す. 試料からはアコニチン $0.40 \pm 0.02 \mu\text{g/g}$, メサコニチン $0.66 \pm 0.05 \mu\text{g/g}$ が検出され, ジェサコニチンは不検出であった. ヒパコニチンは検出されたが, その値は定量下限値未満であった. このことから, 野草のおひたしにはトリカブトが含まれていたことが確認された.

茹でほうれん草を試料として各成分の添加回収試験 ($n=3$) を行ったところ (表2), 回収率は 94 ~ 95%, 変動係数は 1.4 ~ 5.3% と良好であった.

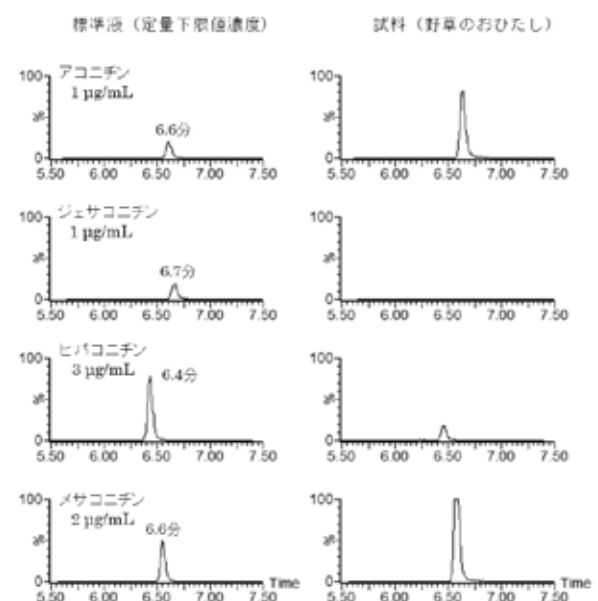


図3. 試料および標準液のMRM クロマトグラム (定量イオン)

表1. アコニチン類の定量結果 (n=3)

成 分	試料中濃度 ($\mu\text{g/g}$)	定量下限値 ($\mu\text{g/g}$)
アコニチン	0.40 ± 0.02	0.1
ジェサコニチン	ND	0.1
ヒバコニチン	ND	0.3
メサコニチン	0.66 ± 0.05	0.2

ND: 定量下限値未満

表2. 添加回収試験結果 (n=3)

成 分	試料中濃度 ($\mu\text{g/g}$)	回収率 (%)	CV (%)	添加濃度 ($\mu\text{g/g}$)
アコニチン	0.094 ± 0.005	94	4.9	0.1
ジェサコニチン	0.095 ± 0.005	95	5.3	0.1
ヒバコニチン	0.282 ± 0.004	94	1.4	0.3
メサコニチン	0.187 ± 0.008	94	4.3	0.2

トリカブトによる食中毒は2002年4月にモミジガサの誤食による食中毒事例が東京都により報告されている[2]。この事例では残品の野草（未調理）中のアコニチンを測定し、4検体から7～13 $\mu\text{g/g}$ が検出されているが、今回検出されたアコニチン濃度は0.40 $\mu\text{g/g}$ と低い値であった。本食中毒事例の原因食品である野草のおひたしは形態

鑑別でモミジガサとトリカブトが混ざったものであることが判明しており[3]、アコニチン濃度が低かったのは混入しているトリカブトの量が少量であったためと推測される。また笠原らは[4]、1分程度茹でたトリカブトの葉ではアコニチン類が茹でる前の約30%まで減少することを報告しており、加熱調理の影響も考えられた。

謝 辞

本調査の実施にあたり、自然毒成分の分析に技術支援をいただきました岐阜県保健環境研究所の南谷専門研究員、食中毒事例の情報および試料の提供をいただきました富山市保健所の関係各位に深謝いたします。

文 献

1. 南谷臣昭. (2020). 令和2年度厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究事業「植物性自然毒による食中毒対策の基盤整備のための研究」分担研究報告書, 11-45
2. 牛山博文, 舘 公子, 新藤哲也, 他. (2003). 東京健康安全研究センター年報, 54, 214-219
3. 黒崎 薫. (2022). 食品衛生学雑誌, 63 (2), J33-J34
4. 笠原義正, 伊藤 健, 沼澤聡明, 他. (2013). 食品衛生学雑誌, 54 (5), 364-369

令和3年度富山県水道水質検査精度管理事業について(2021年度)

遊道 梓 健名 智子 山下 智富

Quality Control Survey of Drinking Water Analysis in Toyama (2021)

Azusa YUDO, Tomoko KEMMEI, and Tomohisa YAMASHITA

要旨：富山県では、1996年度より、県内の水質検査機関における試験分析技術及び検査精度の向上を図るため、県内検査機関を対象に、「富山県水道水質検査精度管理実施要領」に基づく精度管理事業を実施している。この事業において、当所は配布検体の作製、参加機関から報告されたデータの集計及び解析並びに技術研修を担当している。今回、2021年度に実施した鉄およびその化合物（以下、鉄とする）、ジェオスミンの精度管理事業の調査結果について報告する。

材料と方法：

(1) 検査項目：鉄、ジェオスミン
 (2) 検体の配布年月日：2022年1月18日
 (3) 参加機関：富山県内で水道水等の水質検査を実施している検査機関で、水道事業者、水道用水供給事業者、水道法第20条に規定する登録検査機関及び地方公共団体の19機関
 (4) 配布検体：鉄測定用検体は、検体配布前日に衛生研究所の水道水に、市販の鉄標準液（100 mg/L、富士フイルム和光純薬株式会社製）を0.08 mg/L、電子工業用濃硝酸を10 mL/L添加して30 L調製し1 L角型ポリ瓶に分注した。あらかじめ分注した順に3検体を等間隔に抜き出し、鉄濃度を測定したところ、そのビン間変動係数は0.8%であった。また、検体配布7日後（2022年1月25日）、13日後（2022年1月31日）においても鉄の濃度に変化はなく、配布検体間の濃度のばらつきや測定日の違いによる測定値の差は無視できる範囲であると考えられた。配布に際し、鉄の濃度範囲は0.03～0.3 mg/Lであると明示した。

ジェオスミン測定用検体は、検体配布前日に市販のかび臭物質2種混合標準液（100 mg/L、関東化学株式会社製）をメタノールで希釈して標準液（25 µg/L）を調製後、この標準液を衛生研究所の精製水に0.0075 µg/L添加して40 L調製し、500 mLねじ口瓶、1 Lねじ口瓶、3 Lガロン瓶に

分注した。あらかじめ分注した順に3検体を等間隔に抜き出し、ジェオスミン濃度を測定したところ、そのビン間変動係数は2.6%であった。また、検体配布3日後（2022年1月21日）においてもジェオスミンの濃度に大幅な変化はなく、配布検体間の濃度のばらつきや測定日の違いによる測定値の差は無視できる範囲であると考えられた。配布に際し、ジェオスミンの濃度範囲は0.001～0.01 µg/Lであると明示した。

(5) 検査方法及び検査結果：検査は、当該検査項目の検査担当者が、日常の検査業務と同じ方法を用いて、5回の併行測定を行うこととした。この5回の併行測定値の平均値を求め、各機関の測定値として解析を行った。

(6) 集計項目

X：各機関の測定値、 X_1 ：全機関の中央値、 X_2 ：全機関の平均値、 σ ：全機関の標準偏差

変動係数(CV%) = 各機関の標準偏差 / $X \times 100$

誤差率(E%) = $(X - X_1) / X_1 \times 100$

範囲(R) = | 最大値 - 最小値 |

Zスコア(Z) = $(X - X_2) / \sigma$

結果と考察：**(1) 鉄**

鉄の精度管理には19機関が参加した。各機関の測定値を大きさの順に並べて表1に、またその度数分布を図1に示す。解析の結果、誤差率が中央値 $\pm 10\%$ の範囲から外れたs機関を棄却した。棄却されたs機関を除く18機関の測定値の平均値 $\pm$ 標準偏差は 0.0967 ± 0.0042 mg/Lであった。各機関内での併行測定における室内変動係数は0.3～5.1%、18機関間の室間変動係数は4.4%であった。

Xbar-R管理図を図2に示す。a及びs機関の測定値は平均値 ± 2 標準偏差の範囲（0.0883～0.1051 mg/L）から外れた。また、q、r機関の範囲Rは上方管理限界値（UCL：0.0060 mg/L）を

表 1. 鉄 結果

検査機関	測定値 X (mg/L)	変動係数 CV%	誤差率 E%	測定方法	
a	0.0878	0.7	-9.4	ICP-MS	
b	0.0904	0.4	-6.6	ICP-MS	
c	0.0926	0.8	-4.4	ICP-MS	
d	0.0933	1.4	-3.7	FL-AAS	
e	0.0933	0.9	-3.7	ICP-AES	
f	0.0957	0.5	-1.2	ICP-MS	
g	0.0958	0.3	-1.1	ICP-MS	
h	0.0958	0.9	-1.1	ICP-MS	
i	0.0965	0.7	-0.3	ICP-MS	
j	0.0969	0.7	0.0	ICP-MS	中央値 X_1
k	0.0970	1.8	0.2	ICP-MS	0.0969
l	0.0984	0.7	1.6	ICP-MS	
m	0.0987	0.3	1.9	ICP-AES	
n	0.0991	0.3	2.3	ICP-MS	
o	0.1003	0.6	3.6	ICP-MS	
p	0.1012	2.0	4.4	F-AAS	
q	0.1030	2.7	6.3	FL-AAS	
r	0.1044	5.1	7.8	F-AAS	
s	0.1136	0.5	17.3	F-AAS	(棄却)
機関数	19				
棄却後機関数	18				
平均値 X_2 (mg/L)	0.0967				
標準偏差 σ (mg/L)	0.0042				
変動係数 (%)	4.4				

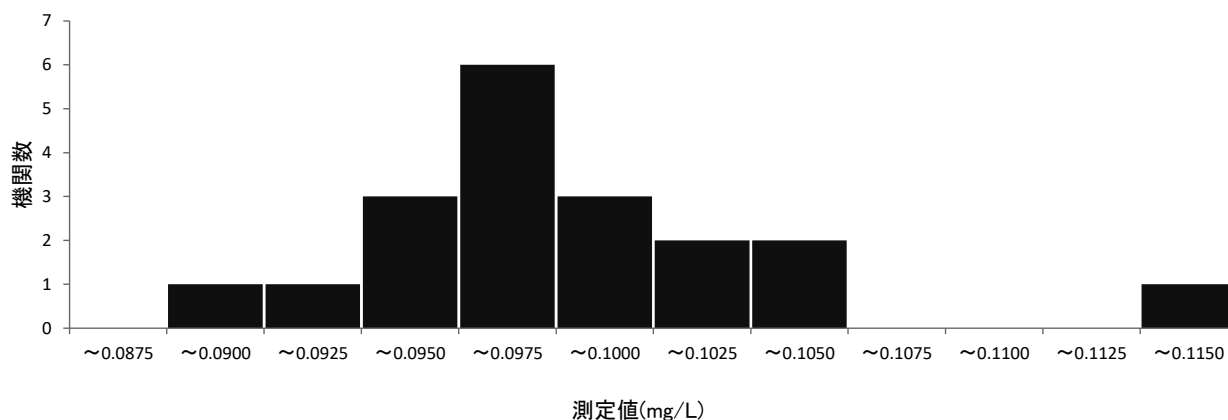


図 1. 鉄 ヒストグラム

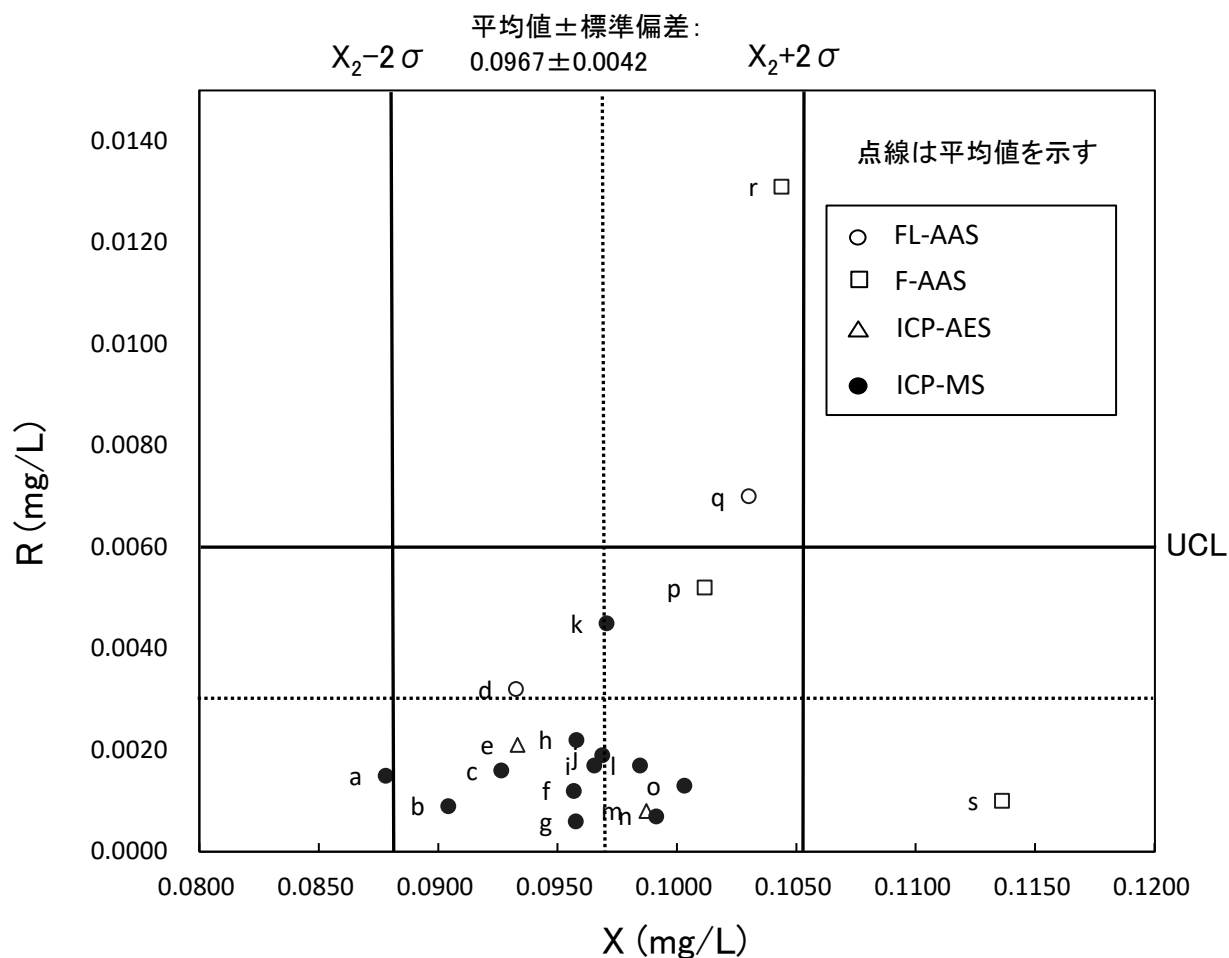


図 2. 鉄 Xbar-R 管理図

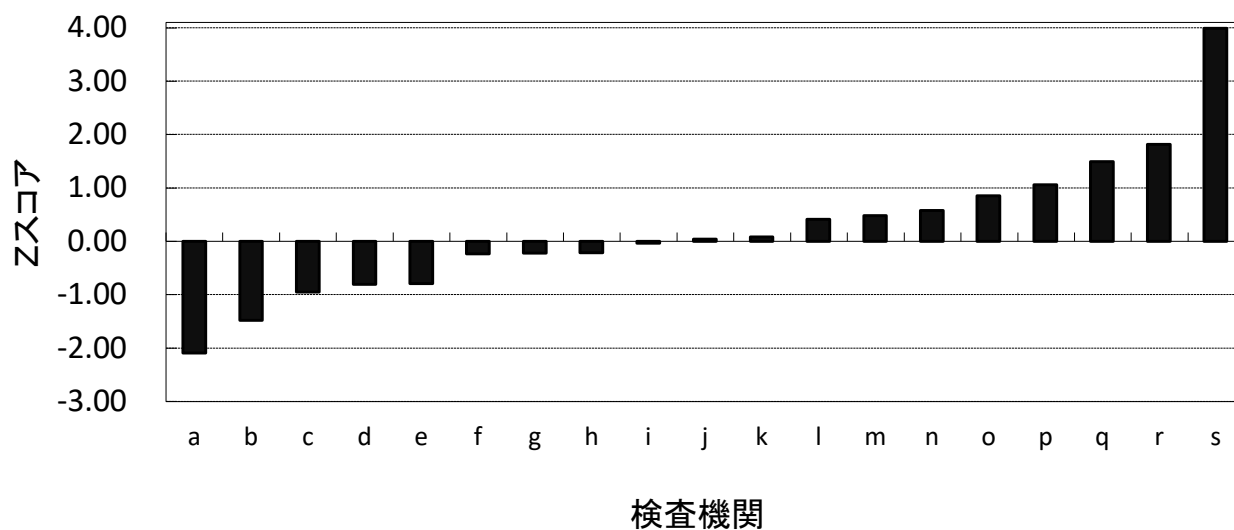


図 3. 鉄 Zスコアの順位

超えた。

Zスコアの順位を図3に示す。Zスコアの算出には、棄却されたs機関を除く18機関の測定値の平均値と標準偏差を用いた。Zスコアの評価基準は、 $|Z| \leq 2$ の場合を「満足」、 $2 < |Z| < 3$ の場合を「疑わしい」、 $3 \leq |Z|$ の場合を「不満足」とした。その結果、a機関が「疑わしい」、s機関が「不満足」となった。

参加した19機関のうち検査方法としてフレイム原子吸光光度法(F-AAS)を用いた機関は3機関、フレイムレス原子吸光光度法(FL-AAS)を用いた機関は2機関、誘導結合プラズマ発光分光分析法(ICP-AES)を用いた機関は2機関、誘導結合プラズマ質量分析法(ICP-MS)を用いた機関は12機関であった。フレイム原子吸光光度法を用いた3機関については、いずれも測定値は高値であった。そこで、フレイム原子吸光光度法(棄却されたs機関を除いた2機関)と誘導結合プラズマ質量分析法(12機関)の測定値について有意水準5%でF検定とt検定を行った結果、t検定において2種類の測定法の間で有意差が認められた。富山県では2007年度にも自然水(湧水)に鉄標準液を添加した試料について鉄の精度管理を実施しているが、その時の解析結果ではフレイム原子吸光光度法と誘導結合プラズマ質量分析法の間で有意差は見られなかった。今回の解析に用いたデータについては、フレイム原子吸光光度法の標本数が2個と極端に少ないため、母集団の状態を正確に反映していない可能性がある。フレイム原子吸光光度法と誘導結合プラズマ質量分析法間の有意差の有無の判定については、さらなる検証が必要である。

試験開始日は、検体配布当日～3日目が15機関、4～7日目が1機関、8～11日目が3機関だった。いずれも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(検査方法告示)[1]で規定されている期間内(2週間以内)に試験を開始していた。

検量線については、厚生労働省による水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン[2]において、回帰線は原点を強制的に通過させず、原則としてブランク試料を含めずに応答値が得られた濃度の標準試料のみを用いて算出すると定められているが、ブランク試料を検量線の濃度点に含めた機関が2機関あった。誤差の原因となるため、原則としてブランク試料を検量線に含めてはいけない。また、1機関において定量下限値が検量線の

下限値以下に設定されており、是正の必要があった。

前処理について1機関が加熱操作を実施していなかった。検査方法告示では、上記4つの検査方法すべてにおいて、前処理で加熱操作を行うように定められている。検査精度を確保するため、適切な前処理を実施することが望まれる。

棄却されたs機関については、操作手順等には問題は見られなかった。原因究明及び改善策の報告を求めたところ以下の3点が逸脱の原因として挙げられた。

- ① アセチレンガス供給圧低下によるガス供給の不安定化
- ② 試料吸引用チューブの劣化による試料吸入量の不安定化
- ③ 高濃度側の検量点と検量線のズレ

改善策としてアセチレンボンベやチューブの交換、検量線の濃度範囲の変更を行って再測定・解析したところ、測定値は改善された。

(2) ジェオスミン

ジェオスミンの精度管理には16機関が参加した。うち1機関が2通りの検査方法により参加したことから17機関として統計処理を行った。各機関の測定値を大きさの順に並べて表2に、またその度数分布を図4に示す。誤差率が中央値 $\pm 20\%$ の範囲から外れる機関はなかった。17機関の測定値の平均値 $\pm$ 標準偏差は $0.00718 \pm 0.00037 \mu\text{g/L}$ であった。各機関内での併行測定における室内変動係数は $0.2 \sim 6.9\%$ 、17機関間の室間変動係数は 5.2% であった。

Xbar-R管理図を図5に示す。A機関の測定値が平均値 ± 2 標準偏差の範囲($0.00644 \sim 0.00792 \mu\text{g/L}$)から外れた。範囲のUCLは $0.00082 \mu\text{g/L}$ であった。

Zスコアの順位を図6に示す。A機関が $3 \leq |Z|$ となり、「不満足」となった。

参加した17機関のうち検査方法としてページ・トラップーガスクロマトグラフー質量分析法(P&T-GC/MS)を用いた機関は10機関、ヘッドスペースーガスクロマトグラフー質量分析法(HS-GC/MS)を用いた機関は4機関、固相抽出ーガスクロマトグラフー質量分析法(SPE-GC/MS)を用いた機関は3機関であった。すべての機関が検査方法告示に定められている期間内(72時間以内)に試験を開始していた。

標準原液は、すべての機関が検査方法告示で規定されている濃度 100 mg/L の市販のジェオスミ

表 2. ジェオスミン 結果

検査機関	測定値 X ($\mu\text{g/L}$)	変動係数 CV%	誤差率 E%	測定方法	
		(%)	(%)		
A	0.00599	0.4	-16.8	HS-GC/MS	
B	0.00679	6.9	-5.6	P&T-GC/MS	
C	0.00703	4.3	-2.4	P&T-GC/MS	
D	0.00706	1.3	-2.0	P&T-GC/MS	
E	0.00709	1.8	-1.6	P&T-GC/MS	
F	0.00712	1.9	-1.1	HS-GC/MS	
G	0.00716	2.4	-0.6	P&T-GC/MS	
H	0.00717	0.2	-0.4	SPE-GC/MS	中央値 X_1
I	0.00720	1.2	0.0	P&T-GC/MS	0.00720
J	0.00727	1.2	1.0	P&T-GC/MS	
K	0.00737	4.6	2.4	SPE-GC/MS	
L	0.00738	0.9	2.5	HS-GC/MS	
M	0.00740	1.8	2.7	SPE-GC/MS	
N	0.00748	2.3	3.9	P&T-GC/MS	
O	0.00750	2.0	4.2	P&T-GC/MS	
P	0.00751	3.1	4.3	HS-GC/MS	
Q	0.00759	0.9	5.4	P&T-GC/MS	
機関数	17				
平均値 X_2 ($\mu\text{g/L}$)	0.00718				
標準偏差 σ ($\mu\text{g/L}$)	0.00037				
変動係数 (%)	5.2				

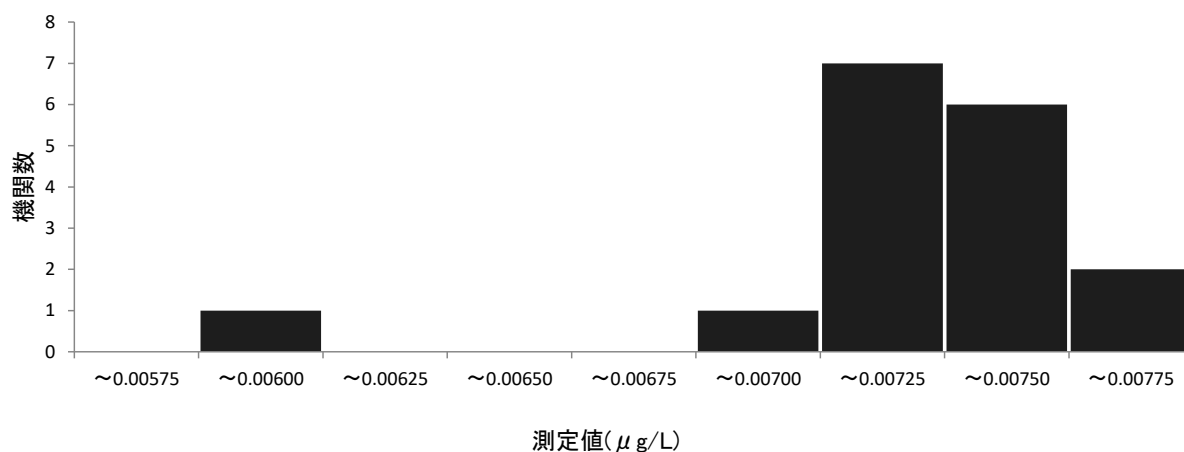


図 4. ジェオスミン ヒストグラム

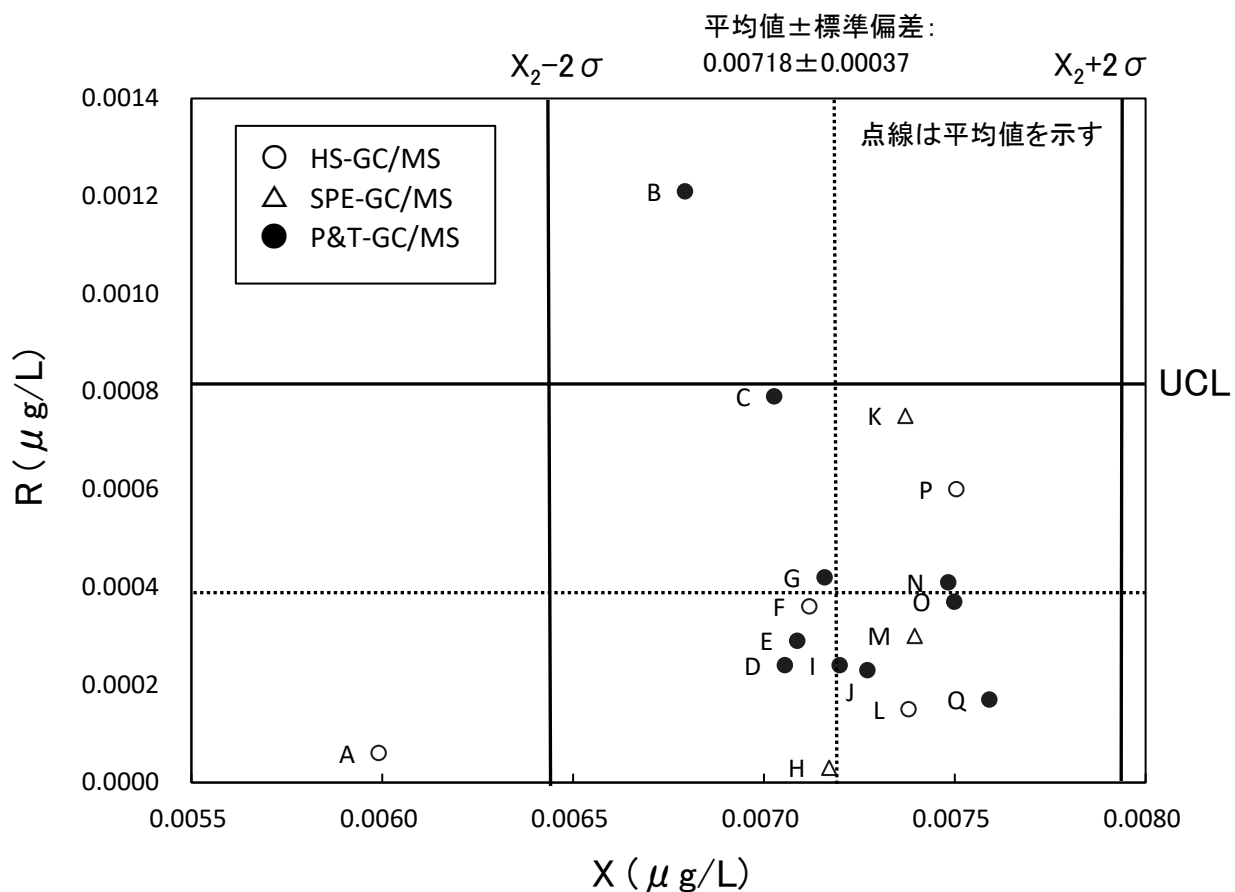


図5. ジェオスミン Xbar-R 管理図

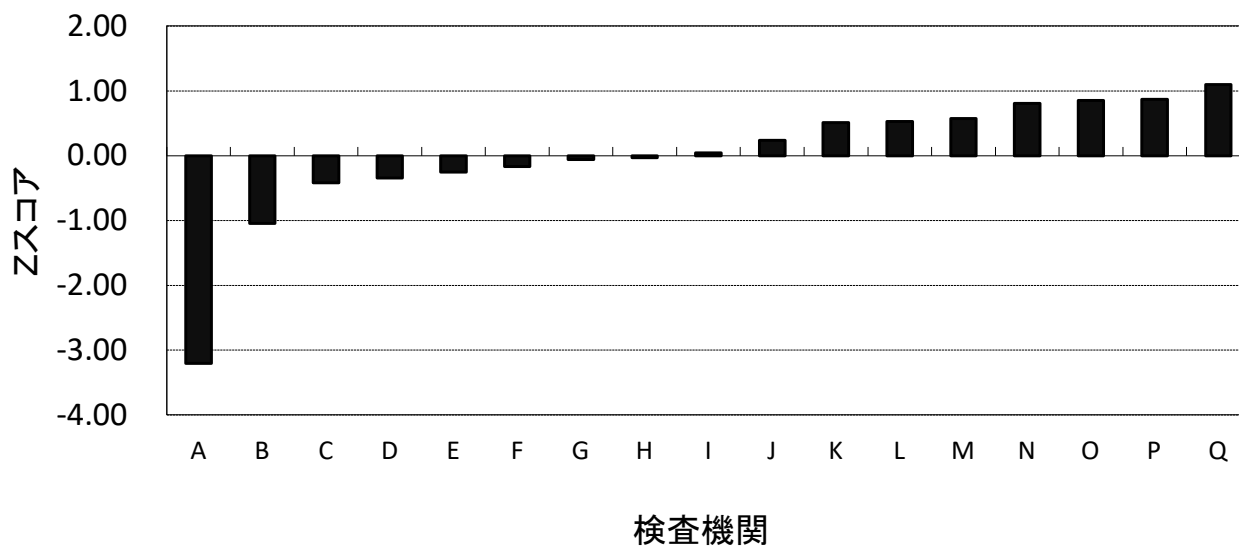


図6. ジェオスミン Zスコアの順位

ン及び2-メチルイソボルネオール標準原液を使用していた。内部標準原液濃度は、検査方法告示において、ジェオスミン- d_3 及び2,4,6-トリクロロアニソール- d_3 ともに1000 mg/Lと規定されており、厚生労働省による平成27年度水道水質検査の精度管理[3]では、内部標準原液の濃度が1000 mg/L未満の機関については逸脱として処理している。本調査では6機関が100 mg/Lの標準原液を使用していた。また、検査方法告示では、内部標準液を使用の都度調製することと規定されているが、2機関が標準液を用時調製せず一定期間保存すると回答していた。それぞれ検査方法告示に準じて検査を実施する必要がある。

パージ・トラップーガスクロマトグラフー質量分析法における検量線溶液について、検査方法告示では、ジェオスミン及び2-メチルイソボルネオール標準液から段階的に4個以上の濃度のジェオスミン及び2-メチルイソボルネオールのメタノール溶液を調製し、このメタノール溶液を精製水10 mLに対し5 μ Lの割合で加えて調製することとしている。パージ・トラップーガスクロマトグラフー質量分析法で測定した機関中、2機関が精製水10 mLに対して加えるメタノール溶液の割合が検査方法告示と異なっており、3機関がジェオスミン及び2-メチルイソボルネオール標準液から段階的にメタノール溶液を調製する操作

を行わず、標準液を検量線溶液の目標濃度に合わせて異なる割合で加えていた。検量線溶液間のパージ効率を等しくするために、それぞれの検量線溶液に含まれるメタノール濃度は一定にすることが望ましい。検査方法告示では、ヘッドスペースーガスクロマトグラフー質量分析法の検量線溶液についても、ジェオスミン及び2-メチルイソボルネオール標準液から段階的に4個以上の濃度のジェオスミン及び2-メチルイソボルネオールのメタノール溶液を調製し、このメタノール溶液を一定の割合で精製水に注入することとしている。ヘッドスペースーガスクロマトグラフー質量分析法で測定した4機関はすべて検査方法告示どおり精製水に一定の割合のメタノール溶液を注入していた。

文 献

1. 厚生労働省 (2003), 平成15年7月22日厚生労働省告示第261号
2. 厚生労働省 (2007), 平成29年10月18日付け薬生水第1018第1号
3. 厚生労働省水道課水道水質管理室 (2005), 平成27年度水道水質検査の精度管理に関する調査結果

