

Ⅱ 調 査 研 究 報 告

1. 短 報

富山県の獣医療従事者における重症熱性血小板減少症候群の感染リスクに関する研究

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

Study on the Risk of Sever Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus Infection in Animal Care Workers in Toyama Prefecture

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

要 旨 近年, SFTSV に感染した伴侶動物からのヒト感染事例が報告されている。このため、富山県の獣医療従事者における重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) の獣医療従事者における感染リスクを検討するため、2020 年に抗体保有状況および感染対策実施状況の調査を実施した。県内獣医療従事者 27 名の血清から SFTS ウイルス (SFTSV) に対する IgG 抗体は検出されなかった。この結果から、現時点での県内の獣医療従事者における SFTSV 暴露リスクは低いものと考えられた。感染対策実施状況のアンケートの結果、个人防护具の着用について「いつもする」と「することが多い」を合わせた回答割合は、手袋 32%、マスク 52%、ディスポーザブルガウン 0%、ゴーグル 0%であった。イヌまたはネコの SFTS 疑い症例の診療経験について、「ある」と回答した獣医師の割合は 5% (2/42) であった。診療中における人獣共通感染症の感染歴について、「ある」の回答割合は 9% (8/87) であった。この結果から、県内動物病院で平常時に実施している感染対策では、SFTSV 感染を予防できない可能性が示唆された。

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ブニヤウイルス科フレボ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 [3]。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、本県の獣医療従事者 (獣医師、動物看護師等) の SFTSV 感染リスクを評価することを目的として、県内動物病院に勤務する獣医療従事者の SFTSV 抗体保有状況および感染症予防対策実施状況の調査を実施した。

材料と方法

1. SFTSV 抗体保有状況

2020 年 3 月 1 日に開催した SFTS 講習会の参加者のうち抗体検査に同意した 27 名の獣医療従事者の血清を材料とした。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) により実施した (図 1)。

2. 感染症予防対策実施状況

調査対象は、県内動物病院 44 施設に勤務する獣医療従事者とした。2020 年 1 月に感染予防対策実施状況および診療状況に関するアンケート調査 (図 2) を郵送にて実施した。2020 年 3 月までに回答されたアンケートを集計し、解析した。

結果

1. SFTSV 抗体保有状況

伴侶動物の診療等に従事する獣医療従事者 27 名の血清について ELISA 法により SFTSV に対する IgG 抗体の検出を行ったところ、すべて陰性であった。

(1) 抗原のコーティング	SFTS抗原（SFTSV感染Huh7細胞溶解液）とMock抗原（非感染Huh7細胞溶解液）をリン酸緩衝液（PBS）を用いて800倍に希釈した後、ELISAプレートに100μl/wellずつ分注し、4℃で1晩反応させる。 ↓ 0.05% Tween20 in PBS（T-PBS）で1回洗浄
(2) ブロッッキング	20% Blocking-One in D ₂ Wを100μl/wellずつ分注し、室温で1時間反応させる。 ↓ T-PBSで1回洗浄
(3) 1次抗体（血清）の反応	20% Blocking-One in T-PBS（diluent）を用いて100倍希釈した血清を100μl/wellずつ分注し、37℃で1時間反応させる。 ↓ T-PBSで3回洗浄
(4) 標識2次抗体の反応	diluentを用いて20,000倍希釈したProtein A/G-HRPOを100μl/wellずつ分注し、37℃で1時間反応させる。 ↓ T-PBSで3回洗浄
(5) 基質の反応	ABTS基質液を100μl/wellずつ分注し、室温で1時間反応させる。
(6) OD値の測定	405nmと490nmのOD値を測定し、（SFTS抗原のOD ₄₀₅ -OD ₄₉₀ ）-（Mock抗原のOD ₄₀₅ -OD ₄₉₀ ）≥0.3を陽性と判定する。

図 1. SFTSV に対する IgG 抗体検出 ELISA のプロトコル

(1) 個人防護具（手袋、マスク、ディスポーザブルガウン、ゴーグル）の着用状況について	- 診療時の個人防護具の着用頻度，着用頻度の選択理由 - 診療時の個人防護具着用によるクライアントからの苦情 - 個人防護具の着脱に関する研修機会
(2) 診療状況等について	- SFTSが疑われる動物の診療経験 - 診療中の感染による人獣共通感染症の罹患歴 - ご自身のマダニ刺咬歴 - SFTS対策の実施状況 - 職種，年齢，性別

図 2. 感染症予防対策実施状況および診療状況に関するアンケートの設問

表 1. 感染症予防対策実施状況および診療状況に関するアンケート調査の回答状況

職種	アンケート回答者数										調査対象 者数*	アンケート 回収率
	全体	性別			年齢							
		男性	女性	不明	20～29	30～39	40～49	50～59	60～	不明		
獣医師	42	25	17		1	7	13	10	11		80	52.5%
動物看護師	39		39		18	12	6	1		2	142	27.5%
その他	5		5			1	2	1	1		30	16.7%
不明	2		1	1		1				1	－	－
合計	88	25	62	1	19	21	21	12	12	3	252	34.9%

* 調査対象者数: 県内動物病院に勤務する獣医療従事者数(2020年1月31日現在)

2. 感染対策実施状況

(1) アンケート回答者の特性

県内動物病院 44 施設に勤務する獣医療従事者にアンケートを配布したところ、88 名から回答を得た。表 1 に、職種別、性別、年齢別の回答者数を示した。回答者の職種の内訳は、獣医師 42 名、動物看護師 39 名、その他 5 名、不明 2 名であった。なお、「その他」の内訳はトリマー 2 名、動物病院スタッフ 1 名、職種の記載なし 2 名であった。

回答者の性別の内訳は、男性 25 名、女性 62 名、不明 1 名で、男性の回答者は全員獣医師であった。回答者の年齢は、獣医師は 40 歳以上が多く、動物看護師は 40 歳未満が多かった。本調査を実施した 2020 年 1 月 31 日時点における県内動物病院の獣医療従事者数より算出したアンケート回収率は、全体で 34.9% (88/252)、獣医師 52.5% (42/80)、動物看護師 27.5% (39/142)、その他 16.7% (5/30) であった。

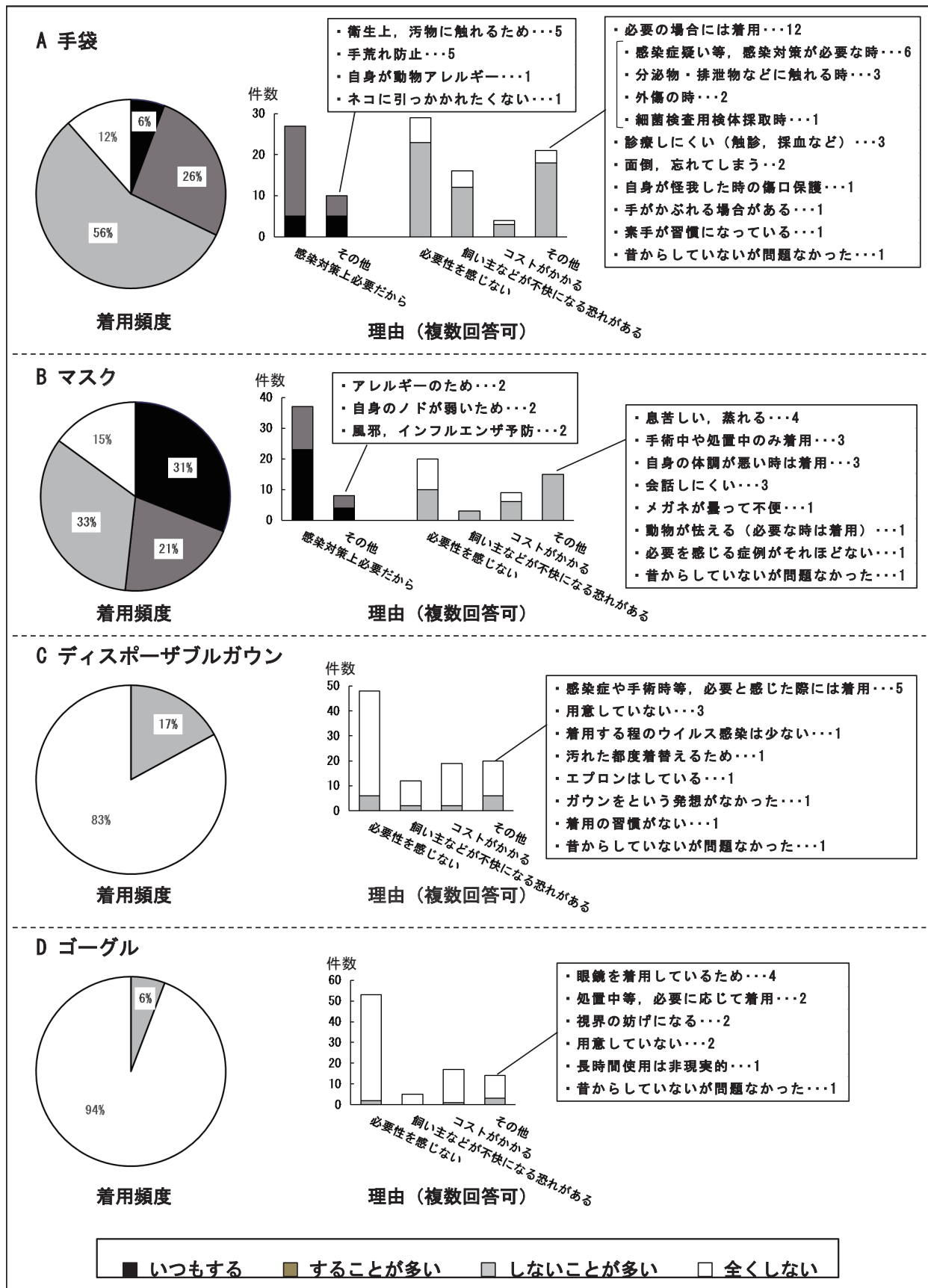


図 3. 獣医療従事者の個人防護具着用状況

(2) 個人防護具の着用

①手袋およびマスクの着用状況

図3のA～Bに、手袋およびマスクの着用頻度およびその選択理由を示した。「いつもする」と「することが多い」を合わせた回答割合は、手袋32%、マスク52%であった。手袋およびマスクの着用頻度が高い人の回答理由は「感染対策上必要」が多かった。手袋の着用理由として「その他」を選択した人のうち、「衛生上必要」または「手荒れを防止するため」と回答した人がそれぞれ5名ずついた。

手袋とマスクの着用頻度について、「しないことが多い」あるいは「全くしない」と答えた人の割合はそれぞれ68%と48%であった。しかしながら、手袋を「しないことが多い」と答えた人のうち9名は、「感染症が疑われる場合」あるいは「体液に触れる場合」には手袋を着用すると回答していた。手袋およびマスクの着用頻度が低い人の多くは、「必要性を感じない」として防護具を着用しない選択をしていることが読みとれた。「飼い主などが不快になる恐れがある」という理由で「手袋」の着用頻度が低い人の割合は、全体の18% (16/87) にも及んだ。手袋を着用しない「その他」の理由として、「触診等の医療行為がやりづらくなる」と回答した人が4名いた。

②デスポーザブルガウンおよびゴーグルの着用状況

図3のC～Dに、デスポーザブルガウンおよびゴーグルの着用頻度およびその選択理由を示

した。「いつもする」あるいは「することが多い」と回答した人はいなかった。「しないことが多い」および「全くしない」と回答した人の割合は、デスポーザブルガウンが17%と83%、ゴーグルが6%と94%であった。デスポーザブルガウンを「しないことが多い」と回答した人のうち、5名は「必要な場合（手術を行う場合や感染症が疑われる場合等）には着用する」と回答していた。デスポーザブルガウンとゴーグルに関しては多くの人が「必要性を感じない」という理由で診療中に着用していないことが明らかとなった。

③個人防護具着用による苦情

診療の際、個人防護具（手袋、マスク、デスポーザブルガウン、ゴーグル）の着用について、飼い主から苦情を受けたことがあるかを質問したところ、「ある」と回答した人の割合は0% (0/84) であった。

④個人防護具着用に関する研修経験

過去に個人防護具の着脱について研修を受ける機会があったかを質問したところ、「ある」の回答割合は全体で10.7% (9/84)、動物看護師等に指導すべき立場にある獣医師に限った場合も15% (6/40) にとどまった。研修場所の内訳は、大学等の教育機関3名、研修会等2名、就職先1名、不明3名であった。この結果から、伴侶動物の臨床に携わる獣医療従事者は、個人防護具の着脱に関する研修を受ける機会が少ないことが明らかになった。

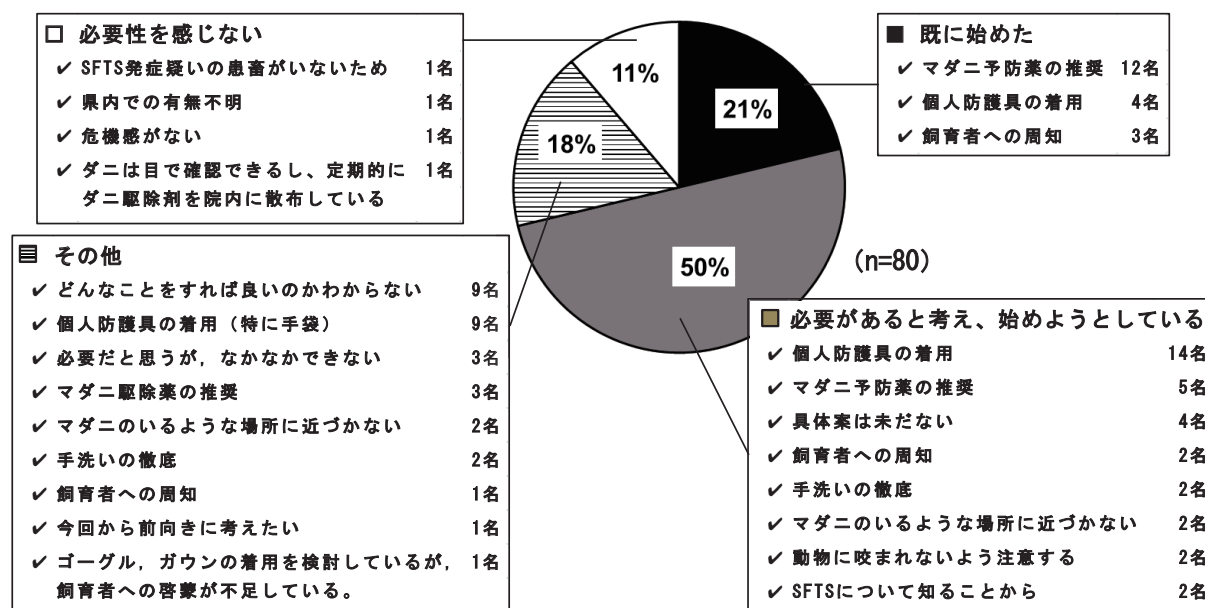


図4. 獣医療従事者の SFTS 対策実施状況

(3) 人獣共通感染症の診療状況等

①伴侶動物の SFTS 疑い症例の診療経験

SFTS 疑い動物の診療経験について「ある」と回答した割合は、全体では 3.4% (3/87)、獣医師では 4.8% (2/42) であった。「ある」の回答者のうち 2 名はネコの、1 名はイヌの症例を診療していた。なお、「ない」と回答した人の中にも「SFTS であった可能性が考えられた犬を 10 年くらい前に診療」と回答した人が 1 名いた。

② SFTS 対策の実施状況

図 4 に SFTS 対策の実施状況を示した。「既にはじめた」または「必要があると考え、始めようとしている」と回答した獣医師の割合は、合わせて 72% (29/40) に達した。「既にはじめた」との回答の実施内容では、マダニの駆虫薬を勧めるなど、マダニ対策の実施が多かった。一方、「必要があると考え、始めようとしている」および「その他」を選択した獣医療従事者の中には、「具体策は未だない」や「どんなことをすれば良いのか分からない」という意見も見られた。

③診療中の人獣共通感染症の罹患歴

診療中の人獣感染症の罹患歴が「ある」の回答割合は 9.2% (8/87) であった。内訳は「パステラ症疑い」1 名、「猫ひっかき病」1 名、「猫疥癬」1 名、「皮膚糸状菌症」4 名、「皮膚真菌症」1 名であった。

④マダニ刺咬歴

マダニ刺咬歴については、「ある」の回答割合は 3.4% (3/87) であった。

考察

1. SFTSV 抗体保有状況

本調査では、27 名の獣医療従事者のうち SFTSV 抗体陽性者は確認されなかった。この結果から、現時点での県内の獣医療従事者における SFTSV 暴露リスクは低いものと考えられた。しかしながら、今回の調査対象者は 27 名と少数であり、リスク評価を行うには不十分であると考えられた。また、今回の調査対象者が SFTSV に感染しなかった原因については、SFTSV に感染している伴侶動物を診療する機会がなかったためであるか、あるいは感染予防策が適切に講じられていたためであるかは、不明である。それゆえ、県内の獣医療従事者の SFTSV 感染リスクを評価するためにはさらなる検討が必要であると考えられた。

本県では未だ SFTS 症例は報告されていない。しかしながら、2021 年には静岡県や千葉県で初めて SFTS 症例が報告されており [7, 8]、これまで報告のない地域にも SFTS 症例が発生する可能性がある。さらに、隣県の石川県では既に 2 例の SFTS 症例が報告されており [3]、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を考慮する必要がある。また、国立感染症研究所の調査では、県内の猟犬が SFTSV 抗体を保有していたと報告されており [9]、県内に SFTSV が存在する可能性も否定できない。

なお、SFTS 流行地域である宮崎県における SFTSV 抗体保有率は、獣医療従事者が 3.0% (3/101) で、献血検体の 0% (0/1,000) と比較して高かったと報告されている [10]。このことから、獣医療従事者は SFTSV に感染するリスクの高い職種であると推定される。したがって、本県においても SFTS 発症動物と接触する可能性の高い獣医療従事者の感染リスクについて継続して調査を行う必要があると考えられた。そこで、今後は、県内動物病院を受診した伴侶動物を対象に SFTSV 保有状況の調査を実施することを検討している。

2. 感染対策実施状況

SFTSV の動物-ヒト感染事例では、咬傷または体液に直接接触したことにより感染したと推定されている。しかしながら、獣医療に関する院内感染対策のガイドライン等は、未だ整備されていない。一方、ヒトの医療では SFTS の院内感染防止ガイドラインが策定されており、SFTS 重症患者を診療する際は、患者の体液との直接的な接触を回避するための手袋やガウンの着用、目の粘膜を保護するゴーグルの着用が重要とされている。

今回のアンケート調査では、手袋、マスク、フェイスシールド、ゴーグルについて「しないことが多い」と「全くしない」を合わせた回答割合は、それぞれ 68%、48%、100%、100% であった。したがって、県内の大部分の動物病院で平常時に実施している感染予防対策では、SFTS 発症動物を診療する際、獣医療従事者が SFTSV に感染するリスクがあることが示唆された。

また、県内での SFTS 患者の発生が未だ報告されていないにも関わらず、本研究で SFTS 対策について「既にはじめた」および「必要があると考え、始めようとしている」と回答した獣医師の割合が合わせて 72% を占めていた。この結果から、富山県の小動物臨床獣医師が SFTS に対して強い

関心を持っていることが推察された。一方、「必要があると考え、始めようとしている」および「その他」を選択した獣医療従事者の中には、「具体策は未だない」や「どんなことをすれば良いのか分からない」という意見が散見された。したがって、SFTS や感染予防対策に関する知識や技術に関する研修会や資料の配布の必要があると考えられた。

本研究では、SFTS 疑い症例の診療経験について「ある」と回答した獣医師が 4.8% (2/42) いた。また、診療中の感染が原因の人獣共通感染症の罹患歴については 9 名、マダニ刺咬歴については 3 名の獣医療従事者が「ある」と回答した。こうしたことから、県内においても SFTSV 感染のリスクがあることが推察された。

こうした状況から、県内の獣医療においても伴侶動物から感染するリスクを考慮し、SFTSV 感染対策を実施する必要性が明らかとなった。しかしながら、未だ県内で SFTS 患者の発生がない状況の中、ゴーグル等の個人防護具を常に身に着けながら診療を行うのは現実的ではない。県内動物病院における SFTSV 感染対策では、SFTS 様症状を呈した動物を診療した際には SFTS を疑い、適切な感染防御策を取るための準備を整えておくことが重要であると考えられる。そのためには、動物における SFTS の症状や SFTS に対する感染予防対策等に関する知識や技術について普及啓発を行っていく必要があると考えられた。特に、感染予防に重要な個人防護具の着用については、本研究で「研修機会があった」と回答した者はわずか 10.7% (9/84) にとどまり、伴侶動物の臨床に携わる獣医療従事者に対して、感染予防に関する研修の機会を提供する必要があることが鮮明になった。

個人防護具の準備という観点では、本研究でディスプレイブルガウンやゴーグルを「用意していない」という回答も見られたが、今回のアンケート調査を実施した翌月の 2020 年 2 月には、富山県獣医師会でフェイスシールドを一括購入し、各動物病院に若干量ずつ配布したとの情報を得ている。本研究の実施により、感染予防対策を見直す一助になったものと考えられた。なお、今回のアンケート調査は、県内で新型コロナウイルス感染症が流行する前に実施したものであり、現在は、

新型コロナウイルス感染予防対策の観点から、マスクや手袋の着用率は上昇しているものと期待される。

謝 辞

本研究を進めるにあたり調査のあり方や進め方などについてご指導をいただきました富山県獣医師会の新田 正憲先生、久保 博文先生、松村 隆治先生、北島 健司先生に感謝いたします。

また、本研究の趣旨を理解し快く協力していただいた、県内動物病院で獣医療に従事する皆様に心から感謝いたします。

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). <https://www.niid.go.jp/niid/ja/sfts/3143-sfts.html> (2021 年 6 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. 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.html> (2021 年 6 月 24 日アクセス可能)
8. 平良雅克, 迫立のり子, 西嶋陽奈, 他. (2021). IASR, 42, 150 – 152
9. 森川茂, 宇田晶彦, 加来義浩, 他. (2013). IASR, 34, 303 – 304
10. 三浦美穂, 三好めぐみ, 松浦裕, 他. (2020). 富山衛研年報, 31, 49 – 50

富山県における浴槽水中 *Legionella* 属菌の分離状況 (2020 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, 2020Junko ISOBE, Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA, Kaoru UCHIDA,
Emi MAENISHI, Masanori WATAHIKI, and Kazunori OISHI

要 旨 2020 年 9 ～ 11 月に県内 12 施設から採取した浴槽水 41 検体, シャワー水 18 検体, カラン水 17 検体, 計 76 検体について, *Legionella* 属菌による汚染実態調査を実施した. 得られた結果を次に示す. 1. 遊離残留塩素濃度 (以下残塩濃度) による管理状況は, 浴槽水で適正とされる残塩濃度 $0.4 - \leq 1.0$ mg/L の検体は, 4/41 (9.7%) で, カラン水 1/15 検体 (6.7%), シャワー水 2/16 (12.5%) であった. 残塩濃度の低い検体 ($0.0 - < 0.4$ mg/L) における *Legionella* 属菌の検出割合は 7/34 検体 (20.6%) で, 残塩濃度 0.4 mg/mL 以上の検体の検出率 3/38 検体 (7.9%) より高かった. *Legionella* 属菌が検出された 12 検体についてみると 9/12 検体 (75%) が残塩濃度の低い検体であった. 2. 培養法における *Legionella* 属菌の検出率は, 浴槽水で 5/41 (12.2%), カラン水 4/17 (23.5%), シャワー水 3/18 (16.7%) で, カラン水でもっとも高かった. LAMP 法による検出率は, 14/41 (34.1%), カラン水 8/17 (47.0%), シャワー水 5/18 (27.8%) で, カラン水における検出率が高い傾向は培養法と同様であった. 3. 分離された *Legionella* 属菌数は, 処理法による偏りは認められなかった. 4. 今年度分離された *Legionella* 属菌は *L. pneumophila* と菌種が同定できなかった株 (UT) であった. その内訳は Lp6 が浴槽水, カラン水, シャワー水それぞれ 2 検体から分離された.

以上のことから, ミスト発生リスクの高いシャワー水, カラン水について, 残塩濃度を上げるなど, 衛生管理の強化が必要であることが明らかとなった. 今後も日常的に浴用施設の衛生管理の監視と汚染実態の把握は強化・継続すべきである.

Legionella 属菌は土壌や淡水などの自然環境に広く棲息するが, 現代では冷却塔, 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とが知られている. このような環境で発生するエアロゾルや粉塵と一緒に吸入された *Legionella* 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) を起こす. 日本では温泉や循環式浴用施設を感染源とするレジオネラ症集団感染事例が多く報告 [1-3] され, さらに 2009 年には公衆浴場のシャワー水を感染源とする事例 [4] も報告されるなど, レジオネラ症は浴用施設と強く関連することが明らかである.

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 件を超える報告数となった [5]. 富山県でも同様に増加傾向を示していたが, 2020 年の患者届け出数は, これまででもっとも多かった 2019 年の

患者届出数 (54 件) のおよそ 7 割 (36 件) と減少した [6,7]. 2020 年の罹患率 (人口 10 万人当たりの患者発生数) は 3.32 (全国の罹患率 1.6) で, 岡山県の次に高かった [7].

富山県でのレジオネラ症の発生予防に資することを目的として, おもな感染源となっている浴用施設における *Legionella* 属菌による汚染実態調査を継続している. ここでは 2020 年の結果を報告する.

材料と方法

1. 対象と材料

2020 年 9 ～ 11 月に県内 12 施設から採取した浴槽水 41 検体, シャワー水 18 検体, カラン水 17 検体, 計 76 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、当日中に当所へ搬入された。

2. 浴槽水の濃縮と培養

検査は厚生労働科学研究 [8] の方法に従った。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。*Legionella* 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 0.2M 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°C 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°C 7 日間培養した。培養 3 日目から実体顕微鏡を用いて *Legionella* 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

Legionella 属菌様のコロニーを血液寒天培地 (栄研化学) 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 *Legionella* 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 100mL 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。しかし、コロニー数が極めて多く、すべてを同定できない場合には、疑わしいコロニーを 10 ~ 20 個用いて同定試験を行い、その *Legionella* 属菌の割合をもって、全 *Legionella* 属菌数を計算した。あるいは、未濃縮検体の培養平板に発育したコロニー数からその定量値を算出した。*Legionella* 属菌を認めない場合 10 cfu/100mL 未満とした。

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°C 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、*Legionella* 属菌陽性とした。

7. ATP 測定法

ATP 量の測定は簡易測定キット 'ルシパックペン' (キッコーマン) により行った。キットの説明書に従って専用の測定器 (ルミテスター PD-20) にキット本体を差し込み、測定器に表示された発光計測値 (RLU) を ATP 量とした。

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。2019 年 9 月 19 日付け「生衛発 0919 第 8 号 公衆浴場における衛生等管理要領等の改正について」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「浴槽水中の遊離残留塩素濃度を通常 0.4mg/L 程度を保ち、かつ、遊離残留塩素濃度は最大 1 mg/L を超えないよう努めること」と示されている。今年度の浴槽水の残塩濃度による管理状況は、適正とされる残塩濃度 0.4 - $\leq$ 1.0mg/L の検体は、4/41 検体 (9.7%) のみで、およそ 8 割 (31/41 検体 75.6%) の浴槽水が 1 mg/L を超えていた。これに対し、カラン水 1/15 検体 (6.7%)、シャワー水 2/16 (12.5%) と、残塩濃度が低い検体が多かった。これらの検体では、およそ半数で井戸水を利用しているためと思われる (表 1)。全体として、残塩濃度の低い検体 (0.0 - <0.4mg/L) における *Legionella* 属菌の検出割合は 7/34 検体 (20.6%) で、残塩濃度 0.4mg/mL 以上の検体の検出率 3/38 検体 (7.9%) より高かった。*Legionella* 属菌が検出された 12 検体についてみると 9/12 検体 (75%) が残塩濃度の低い検体であった。一方、換水頻度については、もっとも多かったのは週に 1 回の換水とした検体が 25 検体 (9 施設) であっ

た。毎日換水が5検体(4施設)、月に1回換水が3検体(2施設)と、施設毎ではなく、浴槽水によって頻度が異なっている状況が認められた。昨年同様、*Legionella* 属菌の検出率と換水頻度に関連性は認められなかった(データ未掲載)。

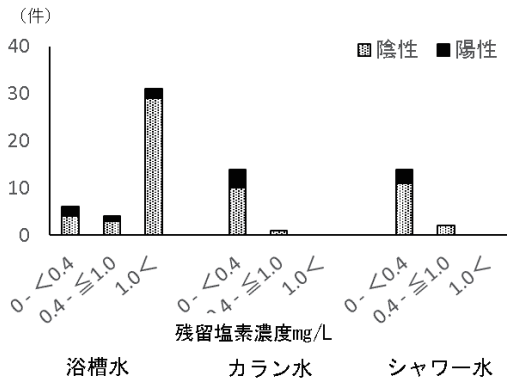


図 1. 給湯方式別残塩濃度の分布と *Legionella* 属菌検出率

2. *Legionella* 属菌検出率

Legionella 属菌検出率を表 1 に示した。培養法における *Legionella* 属菌の検出率は、浴槽水で 5/41(12.2%)、カラン水 4/17 (23.5%)、シャワー水 3/18 (16.7%) で、カラン水でもっとも高かった。とりわけ井戸水での検出率が高く、カラン水の場合、3/7 検体 (42.9%) の検出率であった。LAMP 法による検出率は、14/41(34.1%)、カラン水 8/17 (47.0%)、シャワー水 5/18 (27.8%) で、カラン水における検出率が高い傾向は培養法と同様であった。全体的に LAMP 法による検出率は培養法より高かったが、井戸水の検体では検出率に大きな違いは認められなかった。

3. 夾雑菌抑制(処理)法別 *Legionella* 属菌分離菌数

培養時に夾雑菌を抑制するために実施した処理法別の *Legionella* 属菌の検出状況(菌数)を表 2 に示した。分離された *Legionella* 属菌数は、合計では熱処理法で少なかった。しかし、熱処理法でもっとも分離菌数が多い検体(No.8,12)も認められ、処理法による分離菌数に偏りは認められなかった。一方、ATP との関連性については、

ATP が高く、夾雑菌が多いと予想される検体(No.1)であっても、未処理と熱や酸によって夾雑菌処理された検体との間に差はなかった。このことは ATP の値を指標として処理法を選択することは難しいことを示している。

表 2. 夾雑菌抑制法別の *Legionella* 属分離菌数

No.	検体種	<i>Legionella</i> 属菌数 (CFU/100ml)	ATP (RLU/10ml)	濃縮検体中 <i>Legionella</i> 属菌数/100μl		
				未処理	熱処理	酸処理
1		50	1059	3	2	5
2		350	271	20	29	35
3	浴槽水	10	5	1	0	1
4		10	283	0	1	0
5		10	5	0	1	0
6		30	110	2	2	2
7	カラン水	2690	13	251	179	269
8		110	14	7	11	3
9		30	10	3	1	3
10		40	109	1	4	3
11	シャワー水	90	8	0	9	9
12		150	20	14	15	11

4. *Legionella* 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 27 検体について、培養法による定量値と分離された *Legionella* 属菌の血清群をまとめた(表 3)。培養法、LAMP 法いずれも陽性となった検体は 12 検体で、残る 15 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 18:06 (No.5) や 19:48 (No.2) と短く、遺伝子量が多いと推測される検体も認められた。

今年度分離された *Legionella* 属菌は *L. pneumophila* と UT (型別不能)であった。その内訳は Lp6 が浴槽水、カラン水、シャワー水それぞれ 2 検体からと多く、Lp1 が浴槽水の 2 検体、カラン水、シャワー水の 1 検体から分離され、Lp5 はカラン水、シャワー水の各 2 検体から分離された。

表 1. 給湯方式・泉種別 *Legionella* 属菌検出率(培養法)

		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(41)	培養法	5/41	12.2	2/17	11.8	3/22	13.7	0/2	0		
	LAMP法	14/41	34.1	7/17	41.1	7/22	31.8	0/2	0		
カラン水(17)	培養法	4/17	23.5	1/10	10.0					3/7	42.9
	LAMP法	8/17	47.0	4/10	40.0					4/7	57.1
シャワー水(18)	培養法	3/18	16.7	1/10	10.0					2/8	25.0
	LAMP法	5/18	27.8	3/10	30.0					2/8	25.0

表 3. *Legionella* 属菌が検出された検体における調査結果

No.	給湯方式	施設名	泉種 水源	換水頻度	採水日の遊離残留 塩素濃度 (mg/L)	塩素剤の種類	ATP (RLU/10 mL) ルシパックpen	LAMP	Tt値	培養結果 (CFU/100mL)	分離菌の 血清群
1		A	温泉	2回/月	1	次亜塩素酸ナトリウム	5	+	26:00	<10	
2		B	温泉	1回/週	0.2	次亜塩素酸ナトリウム	17730	+	19:48	<10	
3		B	白湯	2回/週	0.1	次亜塩素酸ナトリウム	18	+	25:36	<10	
4		B	白湯	毎日	0.2	次亜塩素酸ナトリウム	8	+	26:00	<10	
5		B	温泉	2回/週	>2.0	次亜塩素酸ナトリウム	601	+	18:06	<10	
6		D	白湯	1回/週	0.5	次亜塩素酸ナトリウム	1059	+	19:24	50	Lp1, Lp6
7		D	白湯	1回/週	0.8	次亜塩素酸ナトリウム	519	+	22:42	<10	
8	浴槽水	E	白湯	2回/月	>2.0	次亜塩素酸ナトリウム	5	+	25:54	<10	
9		F	白湯	毎日	1.59	次亜塩素酸ナトリウム 次亜塩素酸カルシウム	271	+	21:48	350	Lp6
10		G	白湯	1回/週	>2.0	次亜塩素酸ナトリウム	2	+	30:36	<10	
11		H	温泉	3-4回/月	1	電解次亜塩素	5	+	22:12	10	Lp1
12		H	温泉	3-4回/月	0.2	電解次亜塩素	283	+	21:36	10	UT
13		H	温泉	3-4回/月	0.6	電解次亜塩素	105	+	21:18	<10	
14		I	温泉	1回/週	0.3	次亜塩素酸ナトリウム	5	+	24:42	10	Lp2-14
15		B	井戸水		0		20	+	34:12	<10	
16		C	水道水		0.09		15	+	23:48	<10	
17		E	水道水		<0.1		110	+	24:24	30	Lp1
18	カラン水	F	井戸水		0.04		13	+	18:06	2690	Lp6
19		G	井戸水		0		14	+	23:18	110	Lp5, Lp6, UT
20		G	井戸水		0		10	+	25:24	30	Lp5
21		H	水道水		0.1		6	+	34:18	<10	
22		J	水道水		0.2		7	+	31:36	<10	
23		C	水道水		0.09		19	+	32:36	<10	
24		E	水道水		<0.1		109	+	25:12	40	Lp1
25	シャワー水	G	井戸水		0		8	+	19:42	90	Lp5, Lp6
26		G	井戸水		0		20	+	19:42	150	Lp5, Lp6
27		H	水道水		<0.1		5	+	33:18	<10	

考 察

レジオネラ症の感染源は多様であるが、最近の集団発生事例を見ると、2017年に発生した老人福祉施設でのポータブル加湿器を原因とする事例[11]や、2019年の入浴施設における事例[12]の感染源・原因施設はこれまでも多く報告されてきたところと変わっていない。しかしながら、近年毎年のように発生している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ている[13]ことから、このような状況においてもレジオネラ症の発生に注意が必要である。幸い富山県ではこのような大きな水害は発生していないが、それでも人口あたりのレジオネラ症患者報告数が多い。また、集団事例も発生していない状況で、その原因は未だ解明できていない。聞き取り調査などから推定される感染源はおおよそ4割が浴用施設であるから、このような施設の衛生管理を徹底することで4割の患者を減らすことができるものと考え。

今回の調査では残塩濃度と *Legionella* 属菌の検出率には相関が認められたことから、基本的な管理法でもある塩素による消毒を徹底することが重

要であろう。遺伝子検査で *Legionella* 属菌が検出され、培養検査では菌が分離されなかった検体では、衛生管理により *Legionella* 属菌がコントロールされていることを示している。ただし、遺伝子検査法では、培養できない *Legionella* 属菌を検出している可能性も否定はできない点には注意が必要である。一方、ミストを発生するリスクが高いシャワー水やカラン水に利用されている井戸水で、残塩濃度が推奨より低いか、全く認められなかった点が非常に危惧される。No.18のカラン水では2,690/100mLと分離菌数が多く、そのリスクはきわめて高い。前述の入浴施設における事例[12]では、浴槽水から検出されたLp1は50 cfu/100mLであった。この事例を参考にすると、本調査結果から、富山県においてもいつ集団感染が発生してもおかしくないことを示している。したがって、浴用施設における自主的な衛生管理がもっとも重要となるが、その方法としてATPが活用されており、富山県においても監視指導の目安としている。しかしながら、カラン水やシャワー水については、ATPの値と *Legionella* 属菌による汚染度合が相関しないことが報告されている[14]。現在、シャワー水やカラン水の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。

今回の調査において、未処理、酸処理、加熱処理で *Legionella* 属菌の検出度合に差は認められなかったが、森本が報告 [9] しているように、同時に検出される夾雑菌の種類や菌数によって、*Legionella* 属菌の検出率が大きく変わることを、あるいは *Legionella* 属菌自体が、酸や熱に感受性を示す場合があることから、検査は常に3法を併用することが望ましい。

近年は、感染症の検査にも遺伝子検査法が多く取り入れられている。レジオネラ検査においても例外ではなく、「レジオネラ症防止指針第4版」、また、上述した「公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法」の中でも遺伝子検査法が記載され、検査の迅速性が高まることが期待されている。富山県では、以前から浴槽水検査に LAMP 法を併用し、浴槽水中の *Legionella* 属菌の存在履歴を証明してきた。今回の調査に限らず、培養法と LAMP 法ですべての結果が一致することはほとんどない。とりわけ、*Legionella* 属菌数が少ない検体では、濃縮液の一部を検査に供する方法であるため、確率の問題から結果にばらつきが出る場合がある。あるいは、検体中の PCR 反応阻害物質の存在、死菌 DNA の存在により、結果が不一致となることが考えられる [15]。一方、近年、培養法では検出できない *Legionella* 属菌の存在が報告 [16] され、遺伝子検査法のみ陽性という結果は、死菌 DNA を検出しているだけではないことに注意しなければならない。このことから、*Legionella* 属菌の検査には遺伝子検査法の併用が望まれる。

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。しかしながら、感染源が特定される患者は少なく、行動調査の中から利用した浴用施設の衛生管理状況や *Legionella* 属菌検査を実施するにとどまっている。浴用施設以外の感染源はなかなか解明されないが、浴用施設の衛生管理を監視する体制の強化と汚染実態の把握は継続すべきである。はじめに書いたように2020年の全国におけるレジオネラ症患者の報告数は2,031件で、昨年2,314件のおよそ9割であった。富山県での報告数も同様で、昨年の7割程度であった。この報告数の減少は、新型コロナウイルス感染症対策の一環として旅行を控えるなど、温泉施設を利用する機会が減少したことが原因の一つである可能性は高い。また、同様に医療機関において喀痰等の検査を控える、受診を控えるなどの影

響もあるのかもしれない。今後も、レジオネラ症の動向に注視していかなければならない。

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> (令和3年7月5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> (令和3年7月5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/reference.html> (令和3年7月5日アクセス可能)
6. 国立感染症研究所 IDWR 速報データ 2019 第 52 週 <https://www.niid.go.jp/niid/ja/data/9289-idwr-sokuho-data-j-1952.html> (令和3年7月5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> (令和3年7月5日アクセス可能)
8. 倉 文明, 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・公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究. (平成24年度総括・分担報告書), 93-127
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>
(令和3年7月5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>
(令和2年6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>
(令和3年7月5日アクセス可能)
14. 病原微生物検出情報 (2013). 34, 167-168. <https://www.niid.go.jp/niid/ja/iasr-sp/2252-related-articles/related-articles-400/3605-dj4008.html>
(令和3年7月5日アクセス可能)
15. 井上浩章 (2018) 日本防菌防黴誌, 46, 561-567
16. Edagawa A, Kimura A, Kawabuchi-Kurata T, et al. (2015) . Int J Sys Evol Microbiol, 12, 13118-13130

Ⅱ 調 査 研 究 報 告

2. 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 (2020 年度)

九曜 雅子 矢澤 俊輔 湊山 亜未 笹島 仁
大谷 直美¹

Neonatal Mass Screening Results in Toyama Prefecture (Apr.2020-Mar.2021)

Masako KUYO, Shunsuke YAZAWA, Ami MINATOYAMA, Hitoshi SASAJIMA,
and Naomi OTANI¹

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、2020 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しての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 [3]。

3. 検査期間

2020 年 4 月から 2021 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 [4]）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

1. 富山県厚生部健康対策室

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 [5] を用いた。

また、全検体について、自家調製試薬 [6] によるポイトラー法で、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[7] 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 [8] 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、今年度は変更がなかった。

(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 [3]。

(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

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
	メーブルシロップ尿症(MSUD)		Leu+Ile & Val	315 250	4.1 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)						
	複合カルボキシラーゼ欠損症(MCD)		C5-DC	0.35			
	グルタル酸血症1型(GA1)						
脂肪酸代謝異常症	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	0.37		0.37	
			C14/C3	0.42		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	3mg/dL	Galが3mg/dL以上 かつ ポイトラー法で蛍光無
		ポイトラー法	Gal-1-P Gal-1-P Uridyltransferase	または 15mg/dL 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

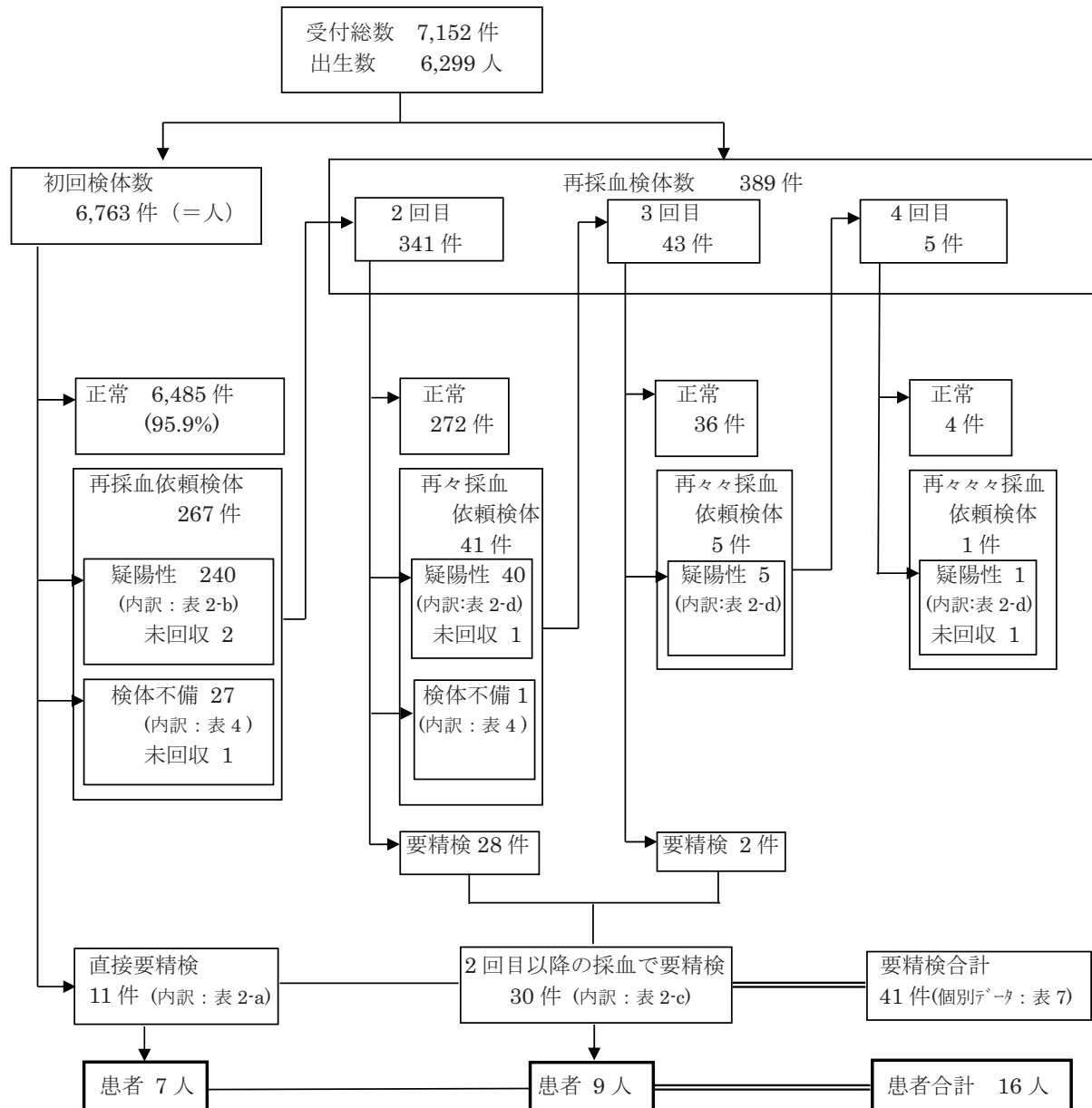


図 1. 検査の流れおよび検査数の概要

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, 7,152 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 6,299 人 [9] であり, 初回検体数 6,763 件 (人) から計算すると受検率は 107.4% 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, 県内在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 6,485 件 (人) (95.9%) は正常と判定されたが, 240 件 (人) (3.5%) は疑陽性のため, 27 件 (人) (0.4%) 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, 11 件 (人) (0.2%) 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 389 件のうちでは,

30 件 (人) (7.7%) 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 11 件 (人) と合わせて 41 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 0.43% 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 1.09% となった。先天性甲状腺機能低下症は 1.41%、先天性副腎過形成症は 1.66% となり、すべての対象疾患の合計は 4.17% 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% [10]、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% [11] 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では、再採血依頼数 (101 件) のうち 53 件 (52.5%) は TSH がカットオフ値付近 (8 ~ 9 μ U/ml) の検体であった。これらの中には、再採血時に高値となり精密検査の結果、患者と診断された例もあり、カットオフ値を設定するにはこれらを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、再採血依頼数の半

数以上が低体重児 (出生体重 2,000 g 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 9 件 (重複疑疾患数 12) 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 286 件 (人) で、そのうち、令和 3 年 6 月 30 日現在 282 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 98.6% であった。

回収できなかった 4 件はすべて、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。検査の結果、正常と診断されたのは 2 件で、その他の 2 件は小児科で管理中である。

(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。

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

2020年4月～2021年3月 疾患名	初回検体 6,763件			再採血検体 389件		総受付検体 7,152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 (%) [c]	要精検数 [d]	疑陽性による 再採血依頼数 [e]	要精検数合計 [a]+[d]	疑陽性による 再採血依頼合計 [b]+[e]	再採血率 (%) [f]
アミノ酸代謝異常症	0	13	0.27	2	5	2 [1]	18	0.25
有機酸代謝異常症	0	6	0.18	1 [1]	2	1 [1]	8	0.11
脂肪酸代謝異常症	3 [1]	5	0.08	0	0	3 [1]	5	0.07
ガラクトース血症	0	42	0.56	4	5	4	47	0.66
先天性甲状腺機能低下症	6 [6]	93	1.38	20 [7]	8	26 [13]	101	1.41
先天性副腎過形成症 (内 出生体重2000g未満児の数)	2	85 (40)	1.35	3	34 (26)	5	119 (66)	1.66
2020年度総計	11 [7]	244	3.82	30 [8]	54	41 [16]	298	4.17
《内 疑疾患が重複している疾患数》		《4》*			《8》**		《12》	

《重複している疑疾患の内訳》

* (初回検体)

- ・メーブルシロップ尿症＋先天性副腎過形成症 1件
- ・フェニルケトン尿症＋先天性副腎過形成症 1件
- ・ガラクトース血症＋先天性甲状腺機能低下症 1件
- ・先天性甲状腺機能低下症＋先天性副腎過形成症 1件

** (再採血検体)

- ・フェニルケトン尿症＋メーブルシロップ尿症＋ホモシスチン尿症＋グルタル酸血症1型＋先天性副腎過形成症 1件
- ・ガラクトース血症＋先天性甲状腺機能低下症 1件
- ・ガラクトース血症＋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	28
＜内訳＞	
生後 3 日以内の採血	1
血液量不足	3
古い（採血から受付まで 7 日以上経過）	4
濾紙汚染	1
哺乳不良	19
低体重	124

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。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。また、採血後当所に届くまで 7 日間以上経っている場合は、検体が「古い」ということで再採血を依頼しているが、このような検体が 4 件あり、そのうちの 3 件は 11 日間も経過したものであった。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 28 件で、このうち再検査できたのは 27 件で、回収率は 96.4% 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 [12]。今年度の初回検体 6,763 件(人)のうち、低体重児は 124 人(1.8%)であった。このうち、41 人は疑陽性として、6 人は哺乳不良として再採血を依頼した。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 [13] 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 11 人（ヒスチジン血症除く）であり、発見率は 1/41,100、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 1/16,200 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

今年度の疑陽性数は、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 78 件、先天性甲状腺機能低下症が 101 件、先天性副腎過形成症が 119 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 10 人、先天性甲状腺機能低下症 26 人、先天性副腎過形成症 5 人であった（表 5）。

表 4. 月別検査実施状況

年			2020年								2021年			計	
月			4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2		3
受付検体総数（件）			586	595	707	663	576	630	583	603	620	485	479	625	7,152
内 訳	初回検査数（件）		562	564	673	620	545	600	557	573	588	451	444	586	6,763
	再採血総数（件）		24	31	34	43	31	30	26	30	32	34	35	39	389
	採 血 回 数	2回目	22	25	29	36	26	26	21	28	30	33	32	33	341
		3回目	2	5	5	6	4	4	5	2	2	1	3	4	43
		4回目以上	0	1	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2	5
疑 陽 性 数 （ 要 精 密 検 査 ）	アミノ酸代謝異常症		6 (1)	0	1	2	3	1 (1)	2	1	0	1	1	0	18 (2)
	有機酸代謝異常症		2	3 (1)	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	8 (1)
	脂肪酸代謝異常症		0	0	0 (2)	1	1 (1)	0	0	1	1	1	0	0	5 (3)
	ガラクトース血症		2	4	2	2 (1)	1	4 (2)	4	3	5	9 (1)	1	10	47 (4)
	先天性甲状腺機能低下症		11 (1)	7 (4)	5	9 (2)	3	9 (2)	5 (4)	11 (2)	10 (3)	12 (3)	9 (1)	10 (4)	101 (26)
	先天性副腎過形成症		8	15 (1)	15 (1)	10	11	9	5	8 (1)	7 (1)	7	10	14 (1)	119 (5)
計			29 (2)	29 (6)	23 (3)	24 (3)	19 (1)	23 (5)	16 (4)	24 (3)	23 (4)	31 (4)	22 (1)	35 (5)	298 (41)

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～2017年度	43,385	41,255	37,782	109.2	317	452	709	33 (2)	70 (31)	50 (3)
2018年度	7,939	7,533	6,911	109.0	109	100	106	10 (0)	10 (2)	3 (1)
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 (13)	5 (0)
計	479,314	452,340	444,236	—	5,285* ²⁾	4,976	3,667	341* ²⁾ (44* ³⁾)	830 (207)	433 (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23人あり（高フェニルアラニン血症17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			
	2020年度		1977年度～2020年度		2019年度		1977年度～2019年度	
期 間	2020年度		1977年度～2020年度		2019年度		1977年度～2019年度	
受検者数	6,763人		452,340人		892,701人		51,071,206人	
患者数、発見率	患者数 発見率		患者数 発見率		患者数 発見率		患者数 発見率	
疾患名	(人)		(人)		(人)		(人)	
アミノ酸代謝異常症	0	—	6 ²⁾	1/ 75,400	26	1/ 34,300	1,057	1/ 48,300
アミノ酸代謝異常症 (2疾患) ¹⁾	0	—	0	— ⁵⁾	5	1/ 178,500	35	1/ 218,100 ⁹⁾
有機酸代謝異常症	1	1/ 6,800	1 ³⁾	1/ 54,900 ⁵⁾	34	1/ 26,300	275	1/ 27,800 ⁹⁾
脂肪酸代謝異常症	1	1/ 6,800	3 ⁴⁾	1/ 18,300 ⁵⁾	36	1/ 24,800	186	1/ 41,000 ⁹⁾
ガラクトース血症	0	—	1	1/ 452,300	34	1/ 26,300	1,359	1/ 37,600
先天性甲状腺機能低下症	13	1/ 500	207	1/ 2,000 ⁶⁾	648	1/ 1,400	18,217	1/ 2,600 ¹⁰⁾
先天性副腎過形成症	0	—	19	1/ 16,200 ⁷⁾	55	1/ 16,200	2,133	1/ 16,400 ¹¹⁾
ヒスチジン血症	—	—	33	1/ 6,000 ⁸⁾	—	—	2,200	1/ 9,600 ¹²⁾

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：プロピオン酸血症 1人

4) 患者内訳：極長鎖アシルCoA脱水素酵素（VLCAD）欠損症 3人

5) 2013年度（2014年3月）～2020年度 タンデムマス法受検者数 54,852人

6) 1980年度～2020年度 受検者数 423,890人

7) 1989年度～2020年度 受検者数 308,455人

8) 1977年度～1993年度 受検者数 197,180人

9) 2011年度～2019年度 タンデムマス法受検者数 7,632,857人

10) 1979年度～2019年度 受検者数 47,728,265人

11) 1988年度～2019年度 受検者数 34,986,665人

12) 1977年度～1992年度 受検者数 21,119,892人

患者と診断されたのは、プロピオン酸血症 1人、極長鎖アシル CoA 脱水素酵素（VLCAD）欠損症 1人、先天性甲状腺機能低下症 13人であった。さらに、1人が検査対象疾患の関連疾患として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、92.7%（38

例/41例)であった。

なお、今年度当所に届いたフォローアップ検体[14]は、42人延べ52件であった。また、今年度要精密検査となった41人のうちでは、26人

延べ29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。

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		女	5	Val	274.9nmol/ml	Leu+Ile	323.2nmol/ml	異常なし
				13	Val	338.1nmol/ml	Leu+Ile	420.1nmol/ml	
	2	*	男	5	C3	4.02nmol/ml	C3/C2	0.269	最軽症型プロピオン酸血症
				11	C3	4.35nmol/ml	C3/C2	0.515	
	3		男	4	C14:1	0.32nmol/ml	C14:1/C2	0.0140	
	4		男	5	(C16+C18:1)/C2	0.402	C14/C3	0.480	異常なし
	5	*	男	4	C14:1	0.33nmol/ml	C14:1/C2	0.0180	骨格筋型VLCAD欠損症
	6	*	男	5	Phe	138.5nmol/ml			軽症高フェニルアラニン血症
				10	Phe	135.3nmol/ml			
ガラクトース血症	1		男	5	Gal	9.26mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	7.69mg/dl 正常	異常なし(ダウン症)
				14	Gal	7.56mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	5.40mg/dl 正常	
	2		女	4	Gal	3.16mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	2.64mg/dl 正常	異常なし
				10	Gal	3.14mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	3.05mg/dl 正常	
	3		女	5	Gal	10.95mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	3.23mg/dl 正常	ガラクトース血症疑い
				16	Gal	14.79mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	2.29mg/dl 正常	
	4		男	5	Gal	0.91mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	17.32mg/dl 正常	異常なし
				8	Gal	1.98mg/dl	Gal-1-P ボイトラー法	15.60mg/dl 正常	
先天性甲状腺機能低下症	1		女	4	TSH	8.03 μ U/ml			異常なし
				11	TSH	9.26 μ U/ml			
	2		男	5	TSH	8.83 μ U/ml			先天性甲状腺機能低下症疑い
				13	TSH	8.43 μ U/ml			
	3	*	男	5	TSH	158.00 μ U/ml			先天性甲状腺機能低下症

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	日 齢	検 査 成 績	診断名
先天性甲状腺機能低下症	4	*	女	5	TSH 253.71 μ U/ml	先天性甲状腺機能低下症
	5	*	男	5	TSH 0.65 μ U/ml	先天性甲状腺機能低下症
				30	TSH 52.69 μ U/ml	
	6		男	4	TSH 8.24 μ U/ml	異常なし
				13	TSH 11.98 μ U/ml	
	7	*	女	4	TSH 70.08 μ U/ml	先天性甲状腺機能低下症
	8	*	女	4	TSH 11.77 μ U/ml	先天性甲状腺機能低下症
				9	TSH 14.12 μ U/ml	
	9		女	5	TSH 10.86 μ U/ml	異常なし
				9	TSH 12.23 μ U/ml	
	10		女	5	TSH 8.99 μ U/ml	異常なし
				11	TSH 8.93 μ U/ml	
	11		男	4	TSH 15.19 μ U/ml	先天性甲状腺機能低下症 疑い
				12	TSH 11.85 μ U/ml	
	12	*	女	5	TSH 80.17 μ U/ml	先天性甲状腺機能低下症
	13	*	男	5	TSH 12.84 μ U/ml	先天性甲状腺機能低下症
				9	TSH 9.47 μ U/ml	
	14	*	男	5	TSH 8.20 μ U/ml	先天性甲状腺機能低下症
				16	TSH 23.50 μ U/ml	
	15		男	4	TSH 8.99 μ U/ml	甲状腺機能低下症疑い
				11	TSH 9.83 μ U/ml	
	16	*	男	4	TSH 8.47 μ U/ml	先天性甲状腺機能低下症

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	日 齢	検 査 成 績				診 断 名
先天性甲状腺機能低下症	16	*	男	11	TSH	11.15	μ U/ml		先天性甲状腺機能低下症
	17	*	男	4	TSH	8.23	μ U/ml		先天性甲状腺機能低下症
				14	TSH	18.14	μ U/ml		
	18		女	4	TSH	14.00	μ U/ml		異常なし
				7	TSH	10.34	μ U/ml		
	19		男	5	TSH	8.48	μ U/ml		
				13	TSH	13.20	μ U/ml		
	20	*	男	4	TSH	9.85	μ U/ml		先天性甲状腺機能低下症
				11	TSH	12.21	μ U/ml		
	21		男	5	TSH	9.54	μ U/ml		一過性甲状腺機能低下症 疑い
				20	TSH	8.52	μ U/ml		
				30	TSH	8.61	μ U/ml		
	22		女	4	TSH	9.80	μ U/ml		異常なし
				8	TSH	10.92	μ U/ml		
	23		男	5	TSH	11.14	μ U/ml		異常なし
				12	TSH	11.66	μ U/ml		
	24	*	女	5	TSH	127.38	μ U/ml		先天性甲状腺機能低下症
	25	*	女	5	TSH	104.27	μ U/ml		先天性甲状腺機能低下症
	26		男	4	TSH	15.80	μ U/ml		一過性甲状腺機能低下症 疑い
				9	TSH	14.92	μ U/ml		
先天性副腎過形成症	1		女	4	17OHP直接法	11.34	ng/ml	17OHP抽出法 5.07 ng/ml	異常なし 出生体重 2,662g
				12	17OHP直接法	6.62	ng/ml	17OHP抽出法 4.53 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	1		女	21	170HP直接法	7.73 ng/ml	170HP抽出法	4.17 ng/ml	異常なし
	2		男	4	170HP直接法	22.85 ng/ml	170HP抽出法	14.07 ng/ml	異常なし 出生体重 1,860g
	3		女	6	170HP直接法	18.47 ng/ml	170HP抽出法	4.14 ng/ml	異常なし 出生体重 1,260g
				30	170HP直接法	30.74 ng/ml	170HP抽出法	10.02 ng/ml	
	4		男	4	170HP直接法	6.48 ng/ml	170HP抽出法	5.80 ng/ml	異常なし 出生体重 3,626g
				14	170HP直接法	7.67 ng/ml	170HP抽出法	4.28 ng/ml	
	5		女	4	170HP直接法	19.97 ng/ml	170HP抽出法	12.06 ng/ml	出生体重 2,150g

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1人、脂肪酸代謝異常症の疑いで3人、ガラクトース血症の疑いで4人の計10人が要精密検査となった。

表7に示したアミノ酸、有機酸、脂肪酸代謝異常症欄の症例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、最軽症型プロピオン酸血症と診断され、sick day 対応でフォローすることとであった。症例5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。遺伝子解析の結果から、骨格筋型 VLCAD 欠損症と診断された。症例6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。精密検査の結果、軽症高フェニルアラニン血症と診断された。

ガラクトース血症疑いの症例1はダウン症例で、ガラクトース高値の他に甲状腺機能の低下もあったが、異常なしと診断された。症例3は、Gal 高値、ボイトラー法 (UT 活性) は正常で、要精密検査となった。精密検査の結果、門脈体循環シャントがあり、二次性ガラクトース血症疑いとして経過観察されている。

(2) 先天性甲状腺機能低下症

要精密検査となった26人のうち、患者と診断されたのは症例3, 4, 5, 7, 8, 12, 13, 14,

16, 17, 20, 24, 25, の13人であった。

症例5は、日齢5の初回検体では、TSH 値は正常であったが、グルタル酸血症疑いで疑陽性となり要再採血となった。再採血検体ですべての項目について再検査した結果、TSH 値は要精検となるレベルまで高くなっており、患者と診断された。症例12は、初回検体での検査の結果でTSH 値が異常高値であり、直ちに要精密検査となった。母親が甲状腺機能低下で服薬中、児は甲状腺自己抗体が陽性であった。精密検査の結果、患者と診断された。症例24と症例25は同胞(双胎児)であり、2人とも初回検体の検査の結果、TSH 値がスケールオーバーであった。直ちに要精密検査となり、2人とも患者と診断された。

診断名の記載がない症例19については、主治医からの精密検査結果報告書は届いていないが、フォローアップ検体 [14] での検査結果では、TSH 値は正常範囲内であった。

(3) 先天性副腎過形成症

要精密検査となった5人のうち2人が出生時体重が2,000 g未満の低体重児であった。今年度は患者は発見されなかった。

(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。今年度は、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、シトリン欠乏症2人となった。

3. 精度管理

外部精度管理は、新生児マス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 [15] 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」[16] 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。

今年度は、PT 検体による精度管理が3回(6月、7月、1月)、QC 検体による精度管理が1回(10月)行われた。今年度の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いと判定された。

考察：今年度は、先天性甲状腺機能低下症の患者と診断された例が多く、発見率は1/500となった。全国の先天性甲状腺機能低下症の患者発見率は、マススクリーニング開始当初は1/5,000～8,000であったが、近年は1/1,400～1,600で推移している [13]。これは、サブクリニカルと診断される先天性甲状腺機能低下症例の増加が一つの要因となっているとされており、このような症例についての対応を含めた改訂版のガイドライン [17] が作成されている。

また、要精密検査の結果、患者と診断された例の中に、里帰り出産等のために県外の居住地に戻る例があったが、本県のフォローアップ体制により、転出先の治療医療機関を把握することができた。このような自治体間の枠を超えたフォローアップ体制の構築については、自治体の担当者や中核医師等のスクリーニング関係者が参加する全国ネットワーク会議においても検討が行われている。

さらに、対象疾患の拡大に向けて、2021年1月にスクリーニング関連の学会が連名で重症免疫不全症スクリーニングの実施に関しての要望書 [18] を厚生労働省に提出しており、すでに一部のスクリーニング実施施設においては、有料で原発性免疫不全症やライソゾーム病等の新たな疾患の

スクリーニング検査を開始している。均てん化のためにも早期に公的な新生児マススクリーニングの対象疾患としての全国一斉の実施が望まれる。

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こと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が必要である。これにより、不要な再採血が減少し、適正な再採血率、精検率を確保ことが可能となり、検査精度の向上にも繋がることになるため、当所では、再採血率や精検率が高い対象疾患についての二次検査法の検討も進めている。

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考ええる。

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. 九曜雅子, 米田 豊, 高森亮輔, 齊藤尚仁, 土肥裕美子 (2014). 富山衛研年報, 37, 25-37
4. 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
5. 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
6. 九曜雅子, 米田 豊, 加藤丈士, 石丸敏子 (2005). 富山衛研年報, 28, 23-32
7. 美澄博雄, 高坂陸年, 和田 洋, 川上幹子, 二宮福子, 末石照香, 市場洋三 (1980). 代謝異常スクリーニング研究会会報, 5, 46-47
8. 九曜雅子, 米田 豊, 前多隆志, 吉田智子 (2010). 富山衛研年報, 33, 27-39

9. とやま統計ワールド「富山県の人口と世帯」,
http://www.pref.toyama.jp/sections/1015/lib/jinko/_news/jinko210401/jinko210401.html (2021 年 6 月 30 日時点アクセス可能)
10. 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
11. 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
12. 猪股弘明, 楠田 聡, 大関武彦, 藤枝憲二, 山口清次, 黒田泰弘, 戸荻 創 (2006). 日本マス・スクリーニング学会誌, 16 (3), 6-7
13. 先天性代謝異常検査等検査状況(令和元年度) 厚生労働省子ども家庭局母子保健課. 特殊ミルク情報, 56, 47-50
14. 九曜雅子, 米田 豊, 五十嵐 登, 二谷 武, 津幡真一, 倉本 崇, 齋藤万里子, 三浦正義, 松倉裕喜, 今村博明, 辻 隆男, 吉田智子 (2009). 日本マス・スクリーニング学会誌, 19 (3), 53-62
15. 九曜雅子, 米田 豊, 西永真理, 高森亮輔, 齋藤尚仁, 角 園子 (2015). 富山衛研年報, 38, 25-36
16. 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
17. 「先天性甲状腺機能低下症マススクリーニングガイドライン (2021 改訂版)」 https://www.jsms.gr.jp/download/CH_Guideline_2021_voll-Public_comment.pdf (2021 年 6 月 30 日時点アクセス可能)
18. 「重症免疫不全症に対する新生児スクリーニング実施体制の整備及びその普及に関する要望書」 https://www.jsms.gr.jp/download/Request_for_SCID_screening_20201225.pdf (2021 年 6 月 30 日時点アクセス可能)
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)

羊水細胞の染色体分析結果 (2020 年度)

高森 亮輔 湊山 亜未 笹島 仁

Chromosome Analysis of Amniotic Fluid Cells (Apr. 2020-Mar. 2021)

Ryosuke TAKAMORI, Ami MINATOYAMA, and Hitoshi SASAJIMA

目的：当所では、富山県の総合母子保健対策の一環として 1973 年度から血液の染色体検査を開始し、1974 年度からは羊水の染色体検査を実施している。出生前診断領域の一翼を担う羊水検査は、染色体異常に起因する何らかの異常が存在するかどうかを、核型分析により検索し、医療機関に提供することを目的として実施されてきた。これまでの 46 年間で、2,854 件の検体を対象として検査を実施してきたが、2020 年度に受付けた羊水検体 26 件について、検査状況および結果の概略を報告する。

材料と方法：羊水細胞の培養は、既報 [1] および当所の方法 [2] に基づいておこなった。詳細については、既報 [3] に従った。

染色体標本の作製方法については、培養に供した 1 検体あたり 2 枚のシャーレそれぞれについて、標本作製した。

G バンド視覚化のためのトリプシン処理およびギムザ染色は、トリプシンによる標本消化効果を高めるため、標本作製日の翌日以降に行った。

核型分析には、Meta System 社の染色体核型解析システム Ikaros (Ver. 5.0) を使用した。

データ集計については、一般的に 35 歳以上での出産が想定される場合を高齢妊娠と定義する [4] が、本報では検査依頼受け付け時点で 35 歳以上の場合を高齢妊娠とした。

また、妊娠週数については、主治医による検査依頼書への記載が、たとえば「16 週 5 日」であっても「16 週」となっているケースが散見されるなど「何日」部分が省略される場合が多いことから、その記載がある場合でも「何日」部分についてはすべて切り捨ててデータを取りまとめた。

結果：2020 年度は、県内医療機関より計 26 件の羊水検体についての染色体核型分析検査依頼を受け付けた。

依頼医療機関数は 6 施設であった。その内訳は、総合病院 4 施設、産科医院 2 施設であった。

妊娠週数別の依頼件数を表 1 に示した。16 週での依頼が 20 件で最も多く、全体の 76.9% を占めた。次いで 17 週 5 件、18 週 1 件であった。

表 1. 妊娠週数別検査依頼件数

週数	16	17	18	合計
件数	20	5	1	26

母体年齢別の検査依頼件数を表 2 に示した。39 歳での依頼が 5 件で最も多く、最低年齢は 24 歳、最高年齢は 45 歳であった。本報で定義した高齢妊娠である 35 歳以上での検査依頼件数は 17 件で、全体の 65.4% であった。

検査依頼理由別件数および異常核型判定結果を表 3 に示した。高齢妊娠および、これにその他

表 2. 母体年齢別検査依頼件数および年齢区分別割合

年齢	24	25	29	30	31	32	34	35	37	38	39	40	42	43	44	45	合計
件数	1	1	2	2	1	1	1	2	1	1	5	2	3	1	1	1	26
9(34.6%)								17(65.4%)									

表3. 検査依頼理由別件数および異常核型判定結果

依頼理由	受付数	異常数	核型
35歳以上	17	2	
高齢妊娠	11	0	
前児染色体異常	2	0	
NT肥厚	2	1	47,XX,+21
胎児皮下浮腫あり	1	1	47,XY,+18
後頸部浮腫あり	1	0	
35歳未満	9	1	
NT肥厚	4	0	
QTで染色体異常疑い	2	0	
頸部嚢胞あり	1	1	46,XX,t(2;6)(q?23;q?23)
身内に染色体異常あり	1	0	
卵黄嚢の拡大あり	1	0	
計	26	3	

NT:nuchal translucency(後頸部低エコー域)

QT:quatro (marker) test(母体血清4成分による対象疾患罹患確率スクリーニング検査)

表4. 培養日数別標本作製件数

培養日数	9	10	11	12	13	14	15	合計	平均日数
1回目	1	4	7	6	5	1	2	26	11.8±1.5
2回目	1	2	4	9	5	2	3	26	12.3±1.5

表5. 検査全行程所要日数別件数

日数	11	12	13	14	15	16	17	計
件数	1	1	3	4	9	6	2	26

の依頼理由が付随したものは、表2でも示したとおり17件で、全体の65.4%であった。

母体が35歳未満でも、超音波検査等で、胎児に何らかの染色体異常や形態異常が疑われたことによる依頼は6件で、全体の66.7%であった。

染色体核型異常を認めたのは全検体26件中3件(11.5%)であった。高齢妊娠での検査依頼17件のうち2件(11.8%)に異常を認めた。

近年、胎児の染色体異常を疑うきっかけとして大きな割合を占めているNuchal Translucency(NT:後頸部低エコー域)肥厚の記載のある依頼は6件(35歳以上2件、35歳未満4件)あり、1件(16.7%)に異常を認めた。

母体血液を用いたクアトロテスト(QT)の結果から胎児異常の疑いがもたれた依頼が2件(35歳以上0件、35歳未満2件)あり、異常は認められなかった。

2020年度に判定した異常核型3件の内訳は、常染色体の数的異常2件(21トリソミー症候群

1件、18トリソミー症候群1件)、構造異常1件であった。

染色体標本作製までに要した培養日数別の件数を、表4に示した。1検体あたり2回標本作製を行っており、1回目の標本作製のピークは培養11日目であり、10～14日目の5日間の総数は23件(88.5%)であった。2回目の標本作製のピークは培養12日目であり、10～14日目の5日間の総数は、22件(84.6%)であった。平均培養日数は、標本作製1回目が11.8±1.5日、2回目が12.3±1.5日であった。

検体受入れから、培養、標本作製、顕微鏡下での観察、写真撮影、核型分析を経て検査成績報告書を作成し、これを医療機関あてに送付するまでの全作業工程所要日数別の件数を、表5に示した。最短で11日、最長で17日、平均は14.7±1.5日であった。

考察:2020年度の検査依頼件数は、26件であった。県内の出生数は年々微減傾向にあり、妊娠数

自体も微減傾向にあると推測される。

出生前診断を目的とする羊水検査は、羊水採取に際しての安全面、培養に必要な細胞数の確保、母体への負荷や精神的なストレスの低減等の観点から、妊娠 16 週前後での実施が最適であるとされているが、当所で受け付けた検査依頼も、16 週のみで半数以上、その他は、17 週と 18 週のみであった。

母体年齢別の検査依頼件数については、高齢妊娠での依頼が 6 割を占めていた。

受付検体 26 件のすべてについて検査を完了し、3 件に異常を見出したが、35 歳以上 17 件中の異常核型判定件数は 2 件 (11.8%)、35 歳未満 9 件中の異常核型判定件数は 1 件 (11.1%) であった。

35 歳以上での検査依頼 17 件のうち、高齢妊娠のみを依頼理由としたのは 11 件であり、それ以外の 6 件では NT 肥厚や母体血液検査による胎児染色体異常疑い等の依頼理由が加わっていた。異常核型を認めたケースは、NT 肥厚、胎児皮下浮腫ありでそれぞれ 1 件ずつであった。一般的に高齢妊娠において胎児の染色体異常の発生頻度が高まるとされるが、検体は限られるが、高齢妊娠に加えて、それ以外の依頼理由が付随することで異常核型検出の発生頻度が格段に高まると考えられた。

NT に関して、学会のガイドラインには、「NT 肥厚と胎児形態異常とは関連がある (NT 肥厚が確認された児では染色体異常や心形態異常頻度が高い)」と明記されているが、正確な判定には、測定された状況が重要であることも記されている [5]。NT 測定は妊娠 11 週 0 日から 13 週 6 日の間に実施するよう推奨されているが、NT 肥厚を主訴とした 6 検体のうち、2 検体は測定週日の記載がなく、記載のあった 4 検体は、推奨された期間内に測定が行われていた。依頼理由としての NT 肥厚と染色体異常との相関について考察するためには、より詳細なデータの収集とさらなるデータの蓄積が必要と思われる。

異常核型 3 件の内訳は、21 トリソミー症候群 1 件、18 トリソミー症候群 1 件、構造異常 1 件であった。

検体受入れから染色体標本作製までに要した培養日数のピークは、標本作製 1 回目が 11 日、2 回目が 12 日であった。全検体の平均培養日数は 1 回目が 11.8 日、2 回目が 12.3 日で、平成 29 年度から令和元年度までの 3 年分のデータ (1 回目: 11.9 日, 10.9 日, 11.7 日, 2 回目: 12.0 日,

11.2 日, 12.5 日) と比較するとほぼ平均的な培養日数であった。

当所では、染色体核型分析の対象となっている羊水、血液、流産胎児絨毛のいずれについても、検体受入れ日から 3 週間以内に検査結果を依頼者のもとへ届けられるように、日程を調整しながら作業を進めている。羊水検体 26 件の全工程所要日数の平均は、 14.7 ± 1.5 日であった。過去 3 年間については、平成 29 年度 15.6 ± 2.1 日、平成 30 年度 14.3 ± 2.4 日、令和元年度 14.8 ± 2.2 日となっていた。全工程の平均所要日数では過去 3 年間の平均的な値に収めることができた。これは、担当者が作業に習熟したためではないかと推察される。また、2015 年度より、染色体核型分析システム Ikaros を用いたパソコン画面上での核型分析による作業工程の簡略・省力化を実現したことも要因と考えられる。

検体受領から 3 週間以内の結果報告を実現できなかったケースは、皆無であった。

標本作製までの平均培養日数を検体別に比較すると、血液は基本的に 3 日、流産胎児絨毛ではおよそ 10 日程度要する。2020 年度の羊水の培養日数は、1 回目 11.8 日、2 回目が 12.3 日となり、流産胎児絨毛より 2 日程度長かった。

検体の種類に関わらず、検査結果の正確性こそが最重要であるが、血液や流産胎児組織とは大きく異なり、羊水検査に関しては判定結果が妊娠の継続の可否をも左右しかねないために、母体保護ならびに倫理的な観点からも、その迅速性が求められる。そのため、検体受入れから培養、染色体標本作製、そして結果報告までに要する日数を 1 日でも短縮することは、重要な課題である。

文 献

1. 鈴森薫 (1996). 臨床染色体診断法, 260 - 263 金原出版
2. 本田幸子, 品川保弘, 林美貴子, 他. (2010). 富山衛研年報, 33, 54
3. 品川保弘, 高森亮輔, 西永真理, 他. (2015). 富山衛研年報, 38, 43 - 44
4. 日本産科婦人科学会 (2007). 日産婦誌, 59, 7, N-224
5. 公益社団法人日本産科婦人科学会・公益社団法人日本産婦人科医会 (2017). 産婦人科診療ガイドラインー産科編 2017, 101

流産胎児の染色体分析結果 (2020 年度)

湊山 亜未 高森 亮輔 笹島 仁

Chromosome Analysis of Abortus Cells (Apr. 2020 -Mar. 2021)

Ami MINATOYAMA, Ryosuke TAKAMORI, 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、昭和 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。2020 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・絨毛組織を貼り付け法や酵素処理法により、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、2020 年度は 63 件であった。63 検体中 62 検体の分析を完了した。

受け入れた検体はすべて絨毛のみが 60 件、臍帯のみが 1 件、絨毛 + 血液が 1 件、絨毛 + 臍帯 + 右胸水 + 左胸水と心臓内液 + 腹水が 1 件であった。流産確認時の在胎週数が記載されていた 62 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 26 週の範囲で、もっとも件数の多かったのは 8 週

の 19 件 (全体の 30.6%)、次いで 7 週の 16 件 (25.8%) であった。10 週未満と 10 週以降で分けると、10 週未満が 50 件 (80.6%)、10 週以降が 12 件 (19.4%) であった。10 週未満の 50 件の週数の平均は 7.6 ± 1.3 週、62 件全体の週数の平均は 9.0 ± 3.6 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 62 件中 44 件 (71.0%) 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 982 件を数えるが、分析を完了できた検体 931 件のうち、異常を確認したのは 563 件であり、検査完了件数に占める異常検体の確認率は 60.5% となっている。

染色体異常 44 件の内訳は、数的異常 34 件、モザイク 2 件 (45,X/46,XX 47,XXX/46,XX)、ターナー症候群 1 件 (45,X)、構造異常 2 件、3 倍体 3 件、構造異常 + 数的異常 1 件 (47,XX,lqh+,+16)、構造異常 + 数的異常 + モザイク 1 件 (46,XY,der(14;14)(q10;q10),+14/46,XY) 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。総流産回数は染色体核型に異常ありの群で 2.2 ± 1.1 回、異常なしが 2.3 ± 1.1 回であった。母体年齢は異常ありが 35.5 ± 5.0 歳、異常なしが 32.1 ± 4.6 歳であり、在胎週数は異常ありが 8.2 ± 1.9 週で異常なしが 10.0 ± 4.7 週であった。

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	15	18	23	26
検体数	5	16	19	10	5	2	1	1	1	1	1
計	50				12						

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	7		
反復流産	20	0	13	6	0	1	0	12	47,XX,+4 47,XY,+8 47,XY,+9 47,XX,+11 47,XX,+15 47,XY,+15 47,XX,+16 47,XX,1qh+,+16※ 47,XY,+16 47,XY,+21 47,XX,+22 47,XY,+22
流産原因精査	19	14	3	0	3	0	0	16	45,X 45,X/46,XX 46,XX,add(11)(pter→q23:?) 46,XY,der(14;14)(q10;q10),+14/46,XY 47,XY,+3 47,XY,+11 47,XX,+14 47,XY,+16[2] 47,XY,+21 47,XX,+22[2] 47,XY,+22 47,XXX/46,XX 48,XY,+14,+22 48,XY,+20,+22
不育症	13	2	5	3	2	0	1	9	47,XY,+14 47,XX,+15 47,XY,+18 46,XY,add(18)(pter→ q23:?) 47,XX,+21 47,XY,+21 48,XY,+21,+22 69,XXY[2]
習慣性流産	4	0	2	2	0	0	0	4	47,XX,+16[2] 47,XY,+16 69,XXX
その他	6	0	5	1	0	0	0	3	47,XY,+16 47,XX,+18 47,XY,+21
合計	62	16	28	12	5	1	1	44	

[2]: 同一核型が2件であることを示す

※1qh+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

	異常あり	異常なし	全体
流産回数	2.2±1.1 (n=44)	2.3±1.1 (n=18)	2.2±1.1 (n=62)
母体年齢	35.5±5.0 (n=44)	32.1±4.6 (n=18)	34.6±5.1 (n=62)
在胎週数	8.2±1.9 (n=43)	10.0±4.7 (n=18)	9.0±3.6 (n=61)

考察: 検体のおよそ7割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。

2020年度は、培養不可による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

富山県における 2020 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 畠田 嵩久 佐賀由美子
五十嵐笑子 長谷川澄代 谷 英樹

Viruses and Rickettsiae Detected from Specimens of Patients in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2020

Masae ITAMOCHI, Noriko INASAKI, Takahisa SHIMADA, Yumiko SAGA,
Emiko IGARASHI, 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など、種々の目的によって検査を行っている。ここでは、2020 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。

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。

2020 年 4 月から 2021 年 3 月までに受け付けた被検者は延べ 11,467 例、検体別では糞便（直腸拭い液を含む）45、鼻咽頭または鼻腔拭い液 7,751、喀痰または気管吸引液 24、唾液 3,929、髄液 14、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）26、痂皮 1 の計 11,804 件であった。

結果および考察: 被検者 11,467 例中 820 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。

新型コロナウイルス感染症 (COVID-19): 2020 年 4 月～2021 年 3 月に計 11,347 例（咽頭または鼻腔拭い液 7,674、唾液 3,900、喀痰 24）の検査を行ったところ、756 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 1～3 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、57 症例（鼻咽頭拭い液または鼻腔拭い液 40、唾液 17）について N501Y 変異検査を行った。その結果、3 月の 10 症例に N501Y 変異がみられた。N501Y 変異のみられた症例のうち 9 症例について国立感染症研究所に検体 RNA を送付し、ゲノム解析を依頼したところ、9 症例すべて B.1.1.7

（アルファ株）と判定された。

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 4 症例（鼻咽頭または鼻腔拭い液 4、血清 1、髄液 1、糞便 2、尿 2）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 1 症例からライノウイルスが検出された。

脳炎・脳症: 計 5 症例（髄液 4、血清 3、糞便 3、鼻咽頭または鼻腔拭い液 5、尿 3）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 型が検出された。

無菌性髄膜炎: 6 症例（髄液 6、血清 4、糞便 3、鼻咽頭または鼻腔拭い液 5、尿 3）の検査を行ったが、ウイルスは検出されなかった。

急性弛緩性麻痺: 1 症例（髄液 1、血清 1、糞便 1、咽頭拭い液 1）の検査を行ったが、ポリオウイルスを含むエンテロ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 5 事例（29 名、糞便 29）について検査を行ったところ、9 月に 1 事例 2 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、6 月に 1 事例、9 月に 3 事例、3 月に 1 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 2 症例（糞便 2）について検査を行ったが、ウイルスは検出されなかった。

麻疹: 麻疹疑い例として検査依頼を受けた 3 症例（咽頭拭い液 3、血漿 3、末梢血単核球 3、尿 3）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: 先天性風疹症候群を疑われた 1 症例（咽頭拭い液 1、血漿または血清 1、尿 1）の検査を行ったが、風疹ウイルスは検出されなかった。

表 1. 2020 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	2020年					2021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	1		1			4	
インフルエンザ様疾患	ライノ							1						1	
新型コロナウイルス	(被検者数) ^a	1,760	999	162	321	1,562	537	278	621	1,651	2,673	481	302	11,347	
感染症 (COVID-19)	新型コロナ ^a	255	123	4	16	111	18	3	18	43	144	7	14	756	
新型コロナウイルス	(被検者数)										19	4	34	57	
変異検査	N501Y変異あり												10	10	
	N501Y変異なし										19	4	18	41	
	判定不能												6	6	
脳炎・脳症	(被検者数)				1	1			2			1		5	
	ヒトヘルペス6型								1					1	
無菌性髄膜炎	(被検者数)			1		1	2	1		1				6	
	－													0	
急性弛緩性麻痺	(被検者数)												1	1	
	－													0	
感染性胃腸炎 (集団)	(被検者数)			4			19						6	29	
	ノロGII ^b						2							2	
感染性胃腸炎 (散発)	(被検者数)									1			1	2	
	－													0	
麻疹	(被検者数)		1					1					1	3	
	－													0	
風疹	(被検者数)						1							1	
	－													0	
つつが虫病	(被検者数)		1					1	1					3	
(SFTS ^c , 日本紅斑熱疑い含む)	つつが虫病リケッチア								1					1	
A型肝炎	(被検者数)		1	1	1				1					4	
	A型肝炎		1	1										2	
デング熱	(被検者数)											1		1	
	－													0	
その他 ^d	(被検者数)				1		2					1		4	
	－													0	
症例合計	(被検者数)	1,760	1,002	168	324	1,564	562	282	626	1,653	2,693	488	345	11,467	
	病原体検出者数	255	124	5	16	111	20	4	20	43	163	11	48	820	

■, 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: 7月および9月の計2症例はパレコウイルス感染症疑い。9月および2月の計2症例はライム病疑い。

月別被検者数は、検体採取日をもとに集計した。

つつが虫病〔重症熱性血小板減少症候群(SFTS), 日本紅斑熱疑い含む〕: 計3症例(全血1, 血漿または血清3, バフィーコート1, 痂皮1)の検査を行ったところ, 1症例の血液および痂皮からつつが虫病原体リケッチアKawasaki型が検出された。

A型肝炎: 5月, 6月, 7月, 11月に計4症例(糞便4)の検査を行ったところ, 5~6月の2症例からA型肝炎ウイルスが検出された。また, これらの症例に関連して7~11月に井戸水または水道水4件の検査を行ったが, A型肝炎ウイルスは検出されなかった。

デング熱: 2月に1症例(血漿1, 末梢血単核球1, 尿1)の検査を行ったが, ウイルスは検出

されなかった。

その他: 7月および9月にパレコウイルス感染症疑い計2症例(糞便2, 咽頭拭い液2, 血清2, 尿1)の検査を行ったが, ウイルスは検出されなかった。また, 9月および2月にライム病疑い計2症例(髄液2)の検査を行ったが, ライム病ボレリアは検出されなかった。

謝辞: ウイルス検査は結果が判明するまでに時間がかかるが, 今後の感染症の発生動向を知るうえで貴重な資料となる。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。

ポリオ流行予測調査 (2020 年度)

板持 雅恵 稲崎 倫子 畠田 嵩久 佐賀由美子
五十嵐笑子 長谷川澄代 關口 健治¹ 平 麻衣子²
野尻 麻友³ 関 理恵子⁴ 石川 智子⁵ 高木 優⁶
谷 英樹

Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2020

Masae ITAMOCHI, Noriko INASAKI, Takahisa SHIMADA, Yumiko SAGA,
Emiko IGARASHI, Sumiyo HASEGAWA, Kenji SEKIGUCHI, Maiko HIRA,
Mayu NOJIRI, Rieko SEKI, Tomoko ISHIKAWA, Suguru TAKAGI,
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、2020年には2か国（アフガニスタン、パキスタン）からの140例の報告となり、99%以下まで減少した [1]。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2020年には26か国（アンゴラ、ベニン、ブルキナファソ、カメルーン、中央アフリカ共和国、チャド、コンゴ共和国、コートジボアール、コンゴ民主共和国、エチオピア、ガーナ、ギニア、マリ、ニジェール、ナイジェリア、シエラレオネ、南スーダン、トゴ、アフガニスタン、パキスタン、ソマリア、スーダン、イエメン、タジキスタン、マレーシア、フィリピン）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。2020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合わせて報告する。

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：2020年7月から2021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2 L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。

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		2020年					2021年				計
		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	2型						3				3
計		0	0	0	0	0	3	0	0	0	3

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	<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	18	2	0	0	0	1	2	2	7	4	16	(88.9)	206.1	
2～3	12	0	0	1	1	0	1	1	6	2	12	(100)	143.7	
4～9	15	0	0	2	1	1	3	3	1	4	15	(100)	92.6	
10～14	22	0	1	1	2	2	3	3	6	4	22	(100)	99.5	
15～19	15	0	0	0	0	4	5	1	3	2	15	(100)	97.0	
20～24	23	1	0	0	0	5	5	5	4	3	22	(95.7)	109.3	
25～29	27	0	0	4	2	2	4	7	3	5	27	(100)	82.7	
30～39	27	0	2	2	1	4	5	6	2	5	27	(100)	72.8	
40～49	25	8	3	3	2	5	1	2	0	1	17	(68.0)	23.1	
50～59	22	4	2	5	3	4	2	2	0	0	18	(81.8)	19.4	
60～	23	4	0	0	3	5	5	3	1	2	19	(82.6)	64.0	
合計	229	19	8	18	15	33	36	35	33	32	210	(91.7)	75.0	
(%)		(8.3)	(3.5)	(7.9)	(6.6)	(14.4)	(15.7)	(15.3)	(14.4)	(14.0)	(91.7)			

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	18	2	0	0	0	1	1	3	4	7	16	(88.9)	245.1	
2～3	12	0	0	0	0	0	1	1	1	9	12	(100)	362.0	
4～9	13	0	0	0	0	1	1	1	6	4	13	(100)	230.1	
10～14	22	1	0	1	2	5	6	4	2	1	21	(95.5)	61.9	
15～19	15	0	0	2	2	5	3	1	2	0	15	(100)	40.3	
20～24	23	0	0	2	3	7	4	5	1	1	23	(100)	48.8	
25～29	27	0	0	6	7	7	3	4	0	0	27	(100)	26.1	
30～39	27	0	0	2	4	6	8	5	1	1	27	(100)	49.5	
40～49	25	0	0	4	3	5	4	6	3	0	25	(100)	47.2	
50～59	22	0	0	2	7	3	2	3	4	1	22	(100)	48.2	
60～	23	2	2	5	1	2	4	3	3	1	21	(91.3)	39.0	
合計	227	5	2	24	29	42	37	36	27	25	222	(97.8)	61.1	
(%)		(2.2)	(0.9)	(10.6)	(12.8)	(18.5)	(16.3)	(15.9)	(11.9)	(11.0)	(97.8)			

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	18	2	0	0	0	2	1	2	5	6	16	(88.9)	215.3	
2～3	12	0	0	0	0	0	2	2	3	5	12	(100)	241.6	
4～9	15	0	0	2	1	1	2	1	5	3	15	(100)	106.4	
10～14	22	7	2	4	6	1	2	0	0	0	15	(68.2)	13.9	
15～19	15	9	2	3	0	0	1	0	0	0	6	(40.0)	9.0	
20～24	23	6	3	5	3	2	1	1	1	1	17	(73.9)	19.6	
25～29	27	4	2	7	6	3	2	3	0	0	23	(85.2)	18.6	
30～39	27	7	2	6	4	3	1	4	0	0	20	(74.1)	20.4	
40～49	25	8	0	7	4	1	2	0	3	0	17	(68.0)	24.1	
50～59	22	5	4	2	3	2	4	1	0	1	17	(77.3)	22.2	
60～	23	1	1	2	3	5	7	2	2	0	22	(95.7)	39.9	
合計	229	49	16	38	30	20	25	16	19	16	180	(78.6)	35.1	
(%)		(21.4)	(7.0)	(16.6)	(13.1)	(8.7)	(10.9)	(7.0)	(8.3)	(7.0)	78.6			

すなわち、下水流入水遠心上清 1 L 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 (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たり 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 2 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：2020 年 7 月から 10 月にかけて、県内住民 0 ～ 83 歳の合計 229 名 (ポリオウイルス 2 型については 227 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 ($1 \sim 2 \times 10^5$ 細胞/mL) を 100 μ L ずつ加え、35 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 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 97.8% (222/227) で最も高く、次いで 1 型が 91.7% (210/229)、3 型が 78.6% (180/229) 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 68.0%、50 ～ 59 歳が 81.8%、60 歳以上が 82.6%、0 ～ 1 歳が 88.9% 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 0 ～ 1 歳が 88.9%、60 歳以上が 91.3% 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。一方、3 型は 15 ～ 19 歳が 40.0%、10 ～ 14 歳が 68.2%、40 ～ 49 歳が 68.0% と低く、それ以外の年齢区分が 70% 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 75.0 倍、2 型 61.1 倍、3 型 35.1 倍であった。

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回不活化3回		不活化4回以上		不活化3回		不活化2回		回数不明		接種歴なし		接種歴不明	
		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(%)	陽性数/検査数	保有率(%)
0～1	18					4 / 4	(100)	11 / 11	(100)	1 / 1	(100)			0 / 1	(0)	0 / 1	(0)
2～3	12					11 / 11	(100)	1 / 1	(100)								
4～9	15	2 / 2	(100)	1 / 1	(100)	11 / 11	(100)	1 / 1	(100)								
10～14	22	21 / 21	(100)									1 / 1	(100)				
15～19	15	14 / 14	(100)													1 / 1	(100)
20～24	23	8 / 9	(88.9)													14 / 14	(100)
25～29	27	2 / 2	(100)													25 / 25	(100)
30～39	27															27 / 27	(100)
40～49	25													0 / 1	(0)	17 / 24	(70.8)
50～59	22															18 / 22	(81.8)
60～	23													2 / 3	(66.7)	17 / 20	(85.0)
合計	229	47 / 48	(97.9)	1 / 1	(100)	26 / 26	(100)	13 / 13	(100)	1 / 1	(100)	1 / 1	(100)	2 / 5	(40.0)	119 / 134	(88.8)
		89 / 90 (98.9%)															

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回不活化3回		不活化4回以上		不活化3回		不活化2回		回数不明		接種歴なし		接種歴不明	
		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(%)	陽性数/検査数	保有率(%)
0～1	18					4 / 4	(100)	11 / 11	(100)	1 / 1	(100)			0 / 1	(0)	0 / 1	(0)
2～3	12					11 / 11	(100)	1 / 1	(100)								
4～9	13	2 / 2	(100)	1 / 1	(100)	9 / 9	(100)	1 / 1	(100)								
10～14	22	20 / 21	(95.2)									1 / 1	(100)				
15～19	15	14 / 14	(100)													1 / 1	(100)
20～24	23	9 / 9	(100)													14 / 14	(100)
25～29	27	2 / 2	(100)													25 / 25	(100)
30～39	27															27 / 27	(100)
40～49	25													1 / 1	(100)	24 / 24	(100)
50～59	22															22 / 22	(100)
60～	23													3 / 3	(100)	18 / 20	(90.0)
合計	227	47 / 48	(97.9)	1 / 1	(100)	24 / 24	(100)	13 / 13	(100)	1 / 1	(100)	1 / 1	(100)	4 / 5	(80.0)	131 / 134	(97.8)
		87 / 88 (98.9%)															

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回不活化3回		不活化4回以上		不活化3回		不活化2回		回数不明		接種歴なし		接種歴不明	
		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(%)	陽性数/検査数	保有率(%)
0～1	18					4 / 4	(100)	11 / 11	(100)	1 / 1	(100)			0 / 1	(0)	0 / 1	(0)
2～3	12					11 / 11	(100)	1 / 1	(100)								
4～9	15	2 / 2	(100)	1 / 1	(100)	11 / 11	(100)	1 / 1	(100)								
10～14	22	14 / 21	(66.7)									1 / 1	(100)				
15～19	15	5 / 14	(35.7)													1 / 1	(100)
20～24	23	6 / 9	(66.7)													11 / 14	(78.6)
25～29	27	2 / 2	(100)													21 / 25	(84.0)
30～39	27															20 / 27	(74.1)
40～49	25													0 / 1	(0)	17 / 24	(70.8)
50～59	22															17 / 22	(77.3)
60～	23													3 / 3	(100)	19 / 20	(95.0)
合計	229	29 / 48	(60.4)	1 / 1	(100)	26 / 26	(100)	13 / 13	(100)	1 / 1	(100)	1 / 1	(100)	3 / 5	(60.0)	106 / 134	(79.1)
		71 / 90 (78.9%)															

年齢区分別では、1型では50～59歳の19.4倍から0～1歳の206.1倍までを示した。2型では25～29歳の26.1倍から2～3歳の362.0倍までを示した。3型では15～19歳の9.0倍から2～3歳の241.6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では、1, 2, 3型のいずれも100%と高い抗体保有率を示した。一方、2回の生ワクチン接種では、1型で97.9%, 2型で97.9%と高い抗体保有率を示したが、3型は60.4%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72.2% (164/227) であった。年齢区分別では、2～3歳および4～9歳が100%と高かつ

た。15～19歳が40.0%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(40.0%)を反映しているものと考えられた(表2)。

日本では、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

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	18	2							16 (88.9)
2～3	12								12 (100)
4～9	13								13 (100)
10～14	22					7		1	14 (63.6)
15～19	15					9			6 (40.0)
20～24	23			1		5			17 (73.9)
25～29	27					4			23 (85.2)
30～39	27					7			20 (74.1)
40～49	25			4		4	4		13 (52.0)
50～59	22					5	4		13 (59.1)
60～	23			1			3	2	17 (73.9)
合計 (%)	227 (100)	2 (0.9)	0 (0)	6 (2.6)	0 (0)	41 (18.1)	11 (4.8)	3 (1.3)	164 (72.2)

表 5. 乳幼児の血清検体数 (2011 ～ 2020 年)

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

かっこ内の数値は、2型の抗体検査に用いた検体数

(2011 ～ 2020 年) における乳幼児 (0 ～ 8 歳) の抗体保有状況 [11 - 19] を比較した。検体数は、表 5 に示す計 670 件であり、このうち、生ワクチン 2 回以上接種者は 227 名 (33.9%)、不活化ワクチン 4 回以上接種者は 181 名 (27.0%) であった。図 1A, 1B に 2011 年から 2020 年までの乳幼児 (0 ～ 8 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、0 ～ 8 歳の接種歴のある人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、2020 年では 0 ～ 8 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、生ワクチン 2 回以上接種者と不活化ワクチン 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期間別に示した。生ワクチン 2 回以上接種者、不活化ワクチン 4 回以上接種者ともに接種後の経過月数が経るごとに中和抗体価が低くなる傾向がみられた。

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 [20, 21]。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 [22 - 25]。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。

2020 年も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

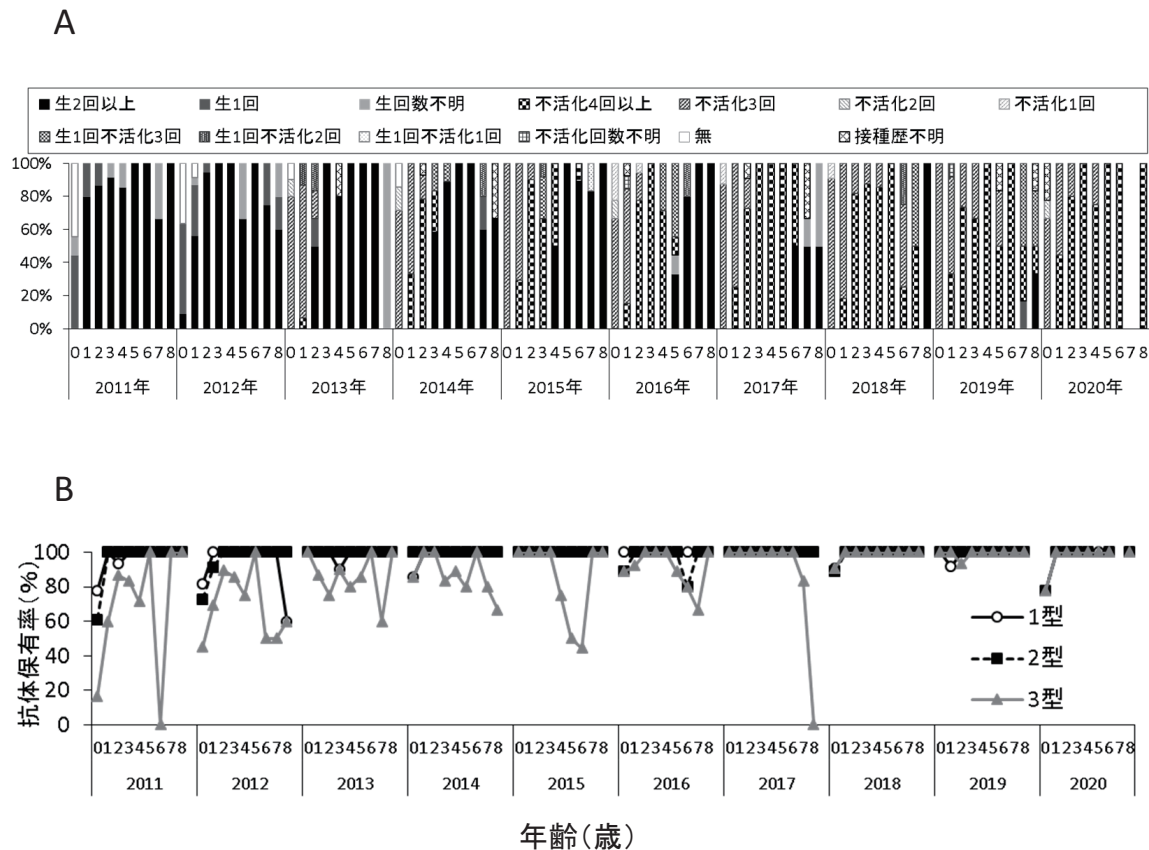


図1. 乳幼児におけるポリオワクチン接種歴と抗体保有状況 (2011～2020年)。

A：ワクチン接種歴，B：抗体保有率。

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[5]。また、世界全体の生ワクチン使用国で発生しているcVDPVによる症例の多くが2型ウイルスによることから、2016年5月には世界的に2型の生ワクチンが停止され、3価から2価（1型＋3型）の生ワクチンに替えられた。生ワクチン使用国においては、少なくとも1回の不活化ワクチン接種が追加されている[5]。

本調査結果は、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ることを示している。したがって、県内への野生株、cVDPVの侵入及び伝播の可能性は、現時点では低いものと考えられた。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、今後もすべての型に対する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：2020年7月～2021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：2020年7月から10月に採取された0歳から83歳までの229名（2型ポリオウイルスは227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91.7%、2型97.8%、3型78.6%であった。また、抗体保有者の幾何平均抗体価は1型75.0倍、2型61.1倍、3型35.1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

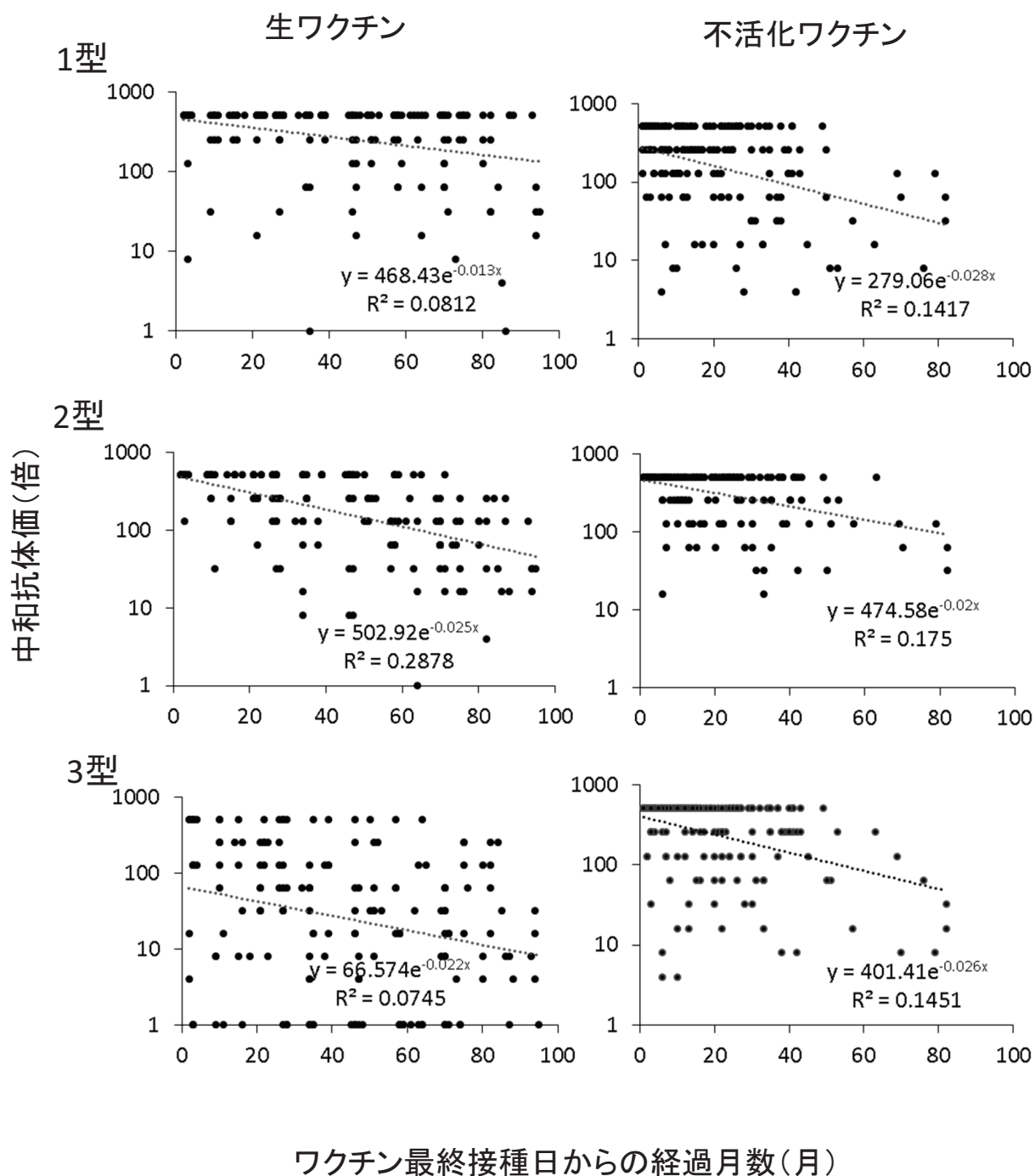


図2. 生ワクチン2回以上接種者と不活化ワクチン4回以上接種者における中和抗体価.
各検体のポリオワクチン最終接種日からの経過月数と中和抗体価を点で示した. *抗体価512倍以上を512とし, 4倍未満を1とした.

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 (2021). Weekly epidemiological record, 96, 65 – 68
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 (2002). 感染症流行予測調査事業検査術式, 1 – 8
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, 小淵正次, 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, 小淵正次, 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, 嶋田嵩久, 他. (2020). 富山県衛生研究所年報 (令和元年度), 43, 74 – 81
20. Maladonado, Y.A., Pema-Cruz, V., Sanchez, M. et. al. (1997). J. Infect. Dis., 175, 545 – 553
21. 土居穰, 鎗水宏, 山本浩, 他. (1993). 臨床とウイルス, 21, 123-131
22. Modlin, J.F., Halsey, N.A., Thoms, M.L. (1997). J. Infect. Dis., 175, S228 – 234
23. 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 富山県衛生研究所年報 (平成 24 年度), 36, 100 – 105
24. 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 3 版, 7 – 21
25. 厚生労働省 (2012). 第 4 回不可化ポリオワクチンの円滑な導入に関する検討会 資料. (<http://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/2r9852000002gxwd.html>)

日本脳炎流行予測調査における感染源調査 (2020 年度)

佐賀由美子 畠田 嵩久 長谷川澄代 五十嵐笑子
 稲崎 倫子 板持 雅恵 高木 優¹ 谷 英樹

Epidemiological Surveillance of Japanese Encephalitis
 in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2020

Yumiko SAGA, Takahisa SHIMADA, Sumiyo HASEGAWA, Emiko IGARASHI,
 Noriko INASAKI, Masae ITAMOCHI, Suguru TAKAGI, and Hideki TANI

目的：過去5年間の国内における日本脳炎患者発生数は0～11人の間で推移している。また、過去の全国での日本脳炎流行予測調査の結果から、ウイルスは環境中に存在しているといえる[1～5]。近年においても県内でウイルスの存在が確認されており[6～9]、日本脳炎の脅威は続いている。そこで、2020年度も本研究を継続し、日本脳炎ウイルスを媒介するコガタアカイエカ *Culex tritaeniorhynchus* の発生状況とウイルスの浸淫状況を調査したので報告する。

1. コガタアカイエカ雌成虫の発生調査

調査地と調査方法：蚊の捕集定点は2019年[10]と同様の場所から「4. 射水」の1定点を選んで実施した(図1)。

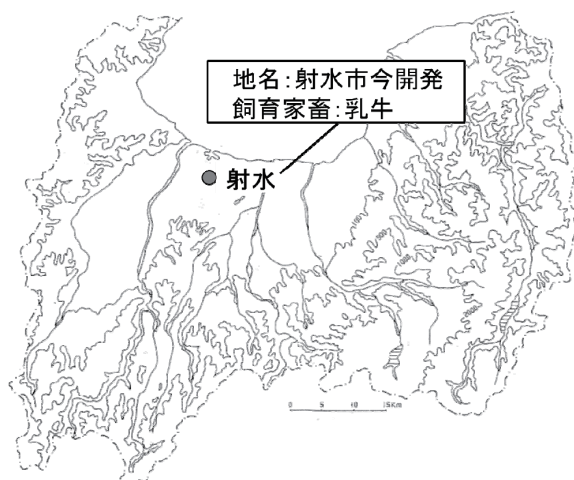


図1. コガタアカイエカの捕集定点(畜舎)

調査期間および調査方法も2019年とほぼ同様であった。すなわち、6月10日(第2週)から10月28日(第4週)まで、毎週水曜日のみトラップを一晩点灯し、捕集を行なった(週1捕集)。なお、電源タイマー(PT50DW デジタルプログラムタイマーⅡ, REVEX)によりライトトラップが毎週水曜日18時から翌朝6時まで点灯するように設定し、毎週木曜日に筆者らが捕集籠を回収・交換した。このようにして得られた捕集籠内の蚊類を、検査室にて分類・計数した。

結果：射水定点におけるコガタアカイエカ雌成虫捕集数について、2020年の成績を表1に、年次推移を図2に示した。コガタアカイエカは、調査を開始した6月第2週から捕集され、7月下旬から9月中旬にかけて捕集数が多くなった。捕

表1. 射水定点におけるコガタアカイエカ雌成虫の捕集数

調査日	捕集数	調査日	捕集数
6月 10日	78	9月 2日	3,480
17日	2,518	9日	8,728
24日	1,316	16日	669
7月 1日	609	23日	111
8日	3,806	30日	261
15日	1,960	10月 7日	15
22日	9,572	14日	—
29日	1,518	21日	11
8月 5日	3,421	28日	3
12日	3,062		
19日	18,320		
27日	5,136		
合計			64,594

「—」はトラップの故障等による欠測を示す。

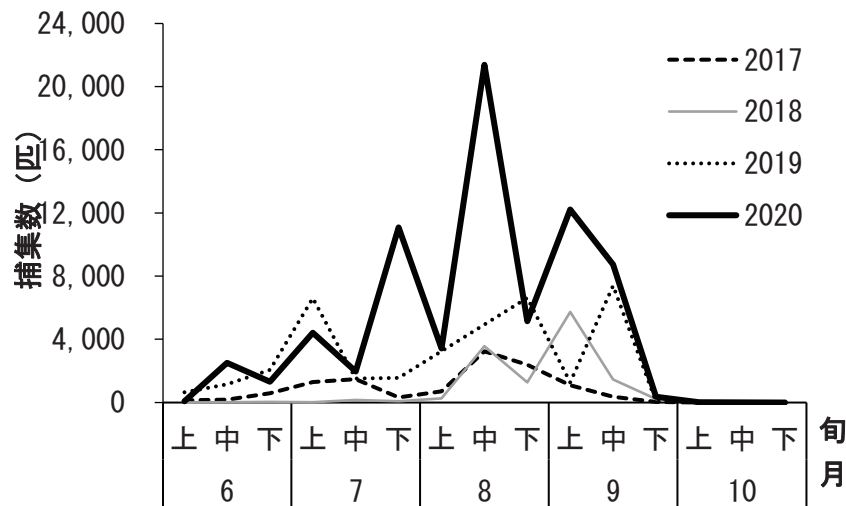


図 2. 射水定点におけるライトトラップによるコガタアカイエカ雌成虫の捕集数 (2017～2020 年)

表 2. 近年調査実績のある 6 定点におけるライトトラップによるコガタアカイエカ雌成虫の年間捕集数

年	6月2週から 9月30日までの毎週水曜日に捕集した総数					
	大 井(富山市)	小矢部	黒 部	上 市	婦 中	射 水
2011	150,365	45,532	36,900	20,612	36,508	—
2012	115,041	39,225	5,883	4,836	16,359	—
2013	106,487	27,956	11,498	7,268	20,513	—
2014	72,879	12,692	1,282	880	4,323	—
2015	336,974	37,781	6,214	4,000	4,234 ^a	—
2016	182,133	56,671	10,068	12,131	3,931	—
2017	23,076 ^b	31,462	13,988	4,223	1,873	16,857
2018	—	11,659 ^c	14,463	4,638	2,728	16,013
2019	—	—	22,780	19,485	4,618	36,636
2020	—	—	—	—	—	64,565

a 婦中では、2015年に畜舎内のトラップの位置を変更した。

b 大井では、2017年に飼育頭数が減少していたため、2017年度に終了した。

c 小矢部の2018年の捕集数は、8月第4週までの集計を示した。

集数は9月下旬から顕著に減少した。2020年の年間捕集数は、過去4年間で最も多かった(図2)。

表2に、近年に複数年にわたり調査実績のある6定点の2011年以降のコガタアカイエカ雌成虫の定点別捕集数を示した。定点毎に捕集数のバラツキはあるものの、年次推移の傾向は概ね一致している。2020年は、1定点のみで調査を実施したが、この定点で調査実績のある過去4年間で最も捕集数が多かった(図2、表2)。したがって、2020年の県内におけるコガタアカイエカの

発生数は多かったと推定される。

II. 豚血清の日本脳炎 HI 抗体保有調査

調査対象と検査方法：7月13日から9月28日までの約3ヶ月間、富山食肉総合センターに搬入された生後6か月の県内産(小矢部市、南砺市、立山町、黒部市)の豚を対象として、月2～3回、各10頭ずつから血液を採取し、合計80頭の日本脳炎ウイルスに対する抗体保有状況を調査

した。抗体価の測定は例年と同様に感染症流行予測調査事業検査術式 [11] に従った。すなわち、アセトン処理を2回行うことにより、被検血清から非特異的赤血球凝集抑制物質を除去した後、日本脳炎 CF、HI 試薬「生研」JaGAr01 株（デンカ生研）を抗原として、赤血球凝集抑制（HI）反応により抗体価を測定した。血球はガチョウの赤血球を用い、マイクロタイター法で行った。抗体価 10 倍以上を抗体陽性とした。さらに、抗体価 40 倍以上を示した血清について 37℃ で 1 時間 2-メルカプトエタノール（2-ME）処理を行い、抗体価が 8 倍以上下がれば 2-ME 感受性陽性（＝IgM 抗体陽性）とし、新鮮感染とみなした。

結果：2020 年の HI 抗体価の測定結果を表 3 に示した。2020 年は、抗体陽性の豚が 7 月下旬から 8 月上旬にかけて 20～30% 確認された。8 月上旬には、新鮮感染を示す豚が 2 頭確認された。その他の期間には抗体陽性の豚は確認されなかった。全体として、80 頭中 5 頭から抗体が検出された。

考 察

2020 年の調査では、コガタアカイエカの捕集数は、2017～2019 年と比較して多かった。抗

体陽性の豚は 5 頭確認された。

これまでの調査結果 [6－10, 13－14] より、蚊および豚における日本脳炎ウイルスの流行は小規模な年と大規模な年があると考えられる。2015～2019 年の調査における採血週あたりの豚の HI 抗体保有率は、各々 0～5%、0～10%、0～55%、0～25%、0%、0～10% であった [6－10]。また、過去 5 年間の調査では、2015、2016、2017 年に蚊または豚血清から日本脳炎ウイルスが分離され、2018、2019 年はウイルスが分離されていない [6－10]。以上のことから、過去 5 年間と比較して、2020 年の豚における日本脳炎ウイルスの流行は、2016 年に次いで、比較的大規模であったと推測された。また、2020 年に抗体を保有する豚が確認されたのは 7 月下旬から 8 月上旬であったが、この時期はコガタアカイエカの発生数も多かった。したがって、2020 年における日本脳炎ウイルスが蚊からヒトへ感染する機会は、比較的多かったと推測された。

県内では、1997 年を最後に日本脳炎患者は発生していない。しかしながら、2020 年には隣県の石川県で 1 症例の日本脳炎患者が発生した [15]。また、2020 年の感受性調査においても、ワクチン接種歴がないにもかかわらず日本脳炎ウイルス抗体を保有しているヒトが確認されており、不顕性感染していたものと考えられた [16]。

表 3. 豚血清における日本脳炎ウイルスの HI 抗体保有状況（2020 年）

検体 採取日	抗体価								2-ME感受性 陽性数
	×10>	×10	×20	×40	×80	×160	×320	×640≤	
7月13, 14日	10 (100)								
27, 28日	7 (70)	1 (10)	2 (20)						
8月3日	8 (80)			1 (10)	1 (10)				2/2 (100)
17日	10 (100)								
31日	10 (100)								
9月7日	10 (100)								
14, 15日	10 (100)								
27, 28日	10 (100)								
計	75 (93.8)	1 (1.3)	2 (2.5)	1 (1.3)	1 (1.3)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	

- 注 1. 表中の数字は検体数を表し、括弧内の数字はパーセントを示す。
 2. 抗体価10倍以上を陽性とみなし、さらに40倍以上を示した血清について2-メルカプトエタノール（2-ME）処理を行い、ウイルスの新鮮感染を検討した。
 3. 2005年度から、2-ME処理により抗体価40倍から10倍未満に低下した時は2-ME感受性陽性とした。

したがって、引き続き調査を実施し、県内の日本脳炎ウイルスの浸淫状況を把握する必要があると考えられた。

謝 辞

本調査の実施にあたり、ご協力いただいた各定点畜舎、関係厚生センター・支所および食肉総合センター、食肉検査所の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，国立感染症研究所感染症情報センター（2016）．平成25年度感染症流行予測調査報告書，126－153
2. 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（2016）．平成26年度感染症流行予測調査報告書，120－147
3. 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（2017）．平成27年度感染症流行予測調査報告書，118－144
4. 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（2018）．平成28年度感染症流行予測調査報告書，122－148
5. 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（2019）．平成29年度感染症流行予測調査報告書，127－144
6. 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
7. 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
8. 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
9. 佐賀由美子，名古屋真弓，畠田嵩久，他. (2019). 富山衛研年報，42，78－83
10. 佐賀由美子，畠田嵩久，稲崎倫子，他. (2020). 富山衛研年報，43，82－87
11. 厚生労働省健康局結核感染症課 (2002). 感染症流行予測調査事業検査術式，27－39，東京
12. Huang J L., Lin H T, Wang Y M, et al. (2004). J. Med. Virol., 74, 589－96
13. Watanabe M, Hasegawa S, Obara M, et al. (2011) Long-term analyses of the population dynamics of *Culex tritaeniorhynchus* and *Anopheles sinensis*, and serological surveys of Japanese encephalitis virus among swine in Toyama Prefecture, Japan, from 1969 to 2003 – a review of surveys for the prediction of epidemics of Japanese encephalitis in Toyama Prefecture over 35 years – . 159 pp. Skarafactory. Ltd., Toyama
14. Obara M, Yamauchi T, Watanabe M, et al. (2011). Am. J. Trop. Med. Hyg., 84, 695－708
15. 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.html> (2021年6月23日アクセス可能)
16. 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

日本脳炎流行予測調査における感受性調査 (2020 年度)

髙田 嵩久 佐賀由美子 五十嵐笑子 板持 雅恵
稲崎 倫子 長谷川澄代 關口 健治¹ 平 麻衣子²
野尻 麻友³ 関 理恵子⁴ 石川 智子⁵ 高木 優⁶
谷 英樹

Serological Investigation of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2020

Takahisa SHIMADA, Yumiko SAGA, Emiko IGARASHI, Masae ITAMOCHI,
Noriko INASAKI, Sumiyo HASEGAWA, Kenji SEKIGUTI, Maiko HIRA,
Mayu NOJIRI, Rieko SEKI, Tomoko ISHIKAWA, Suguru TAKAGI,
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：2020 年 7 月から 10 月に、県内住民合計 229 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)/25 μ L 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と比較して、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：229 名のうち、日本脳炎ウイル

スに対する抗体陽性者は 142 名 (62.0%) 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、5～29 歳では 93.3% 以上と高い抗体保有率を示した。これに対し、0～4 歳では 29.4%、30～39 歳では 70.4%、40～49 歳では 44.0%、50～59 歳では 18.2%、60 歳以上では 21.7% 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] とほぼ同様であった。

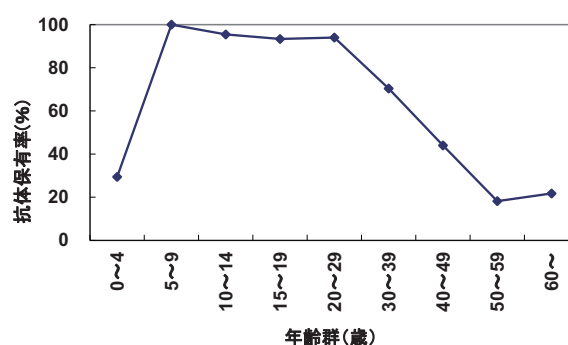


図 1. 年齢群別の中和抗体保有率 (2020 年度)

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

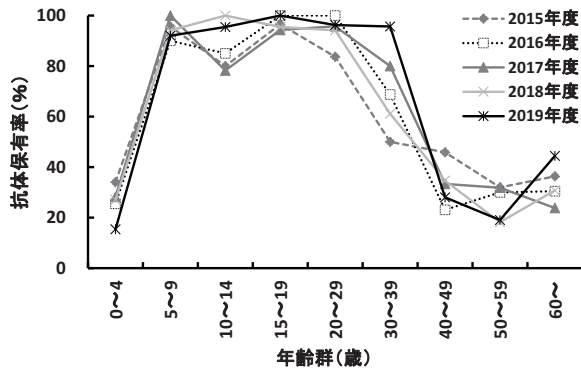


図2. 年齢群別の中和抗体保有率
(2015～2019年度)

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61.8% (21/34)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4.8% (1/21)であり、「ワクチン接種歴あり」の抗体保有率は100% (9/9)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。

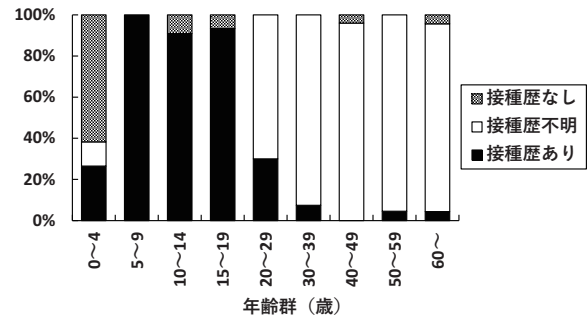


図3. 年齢群別のワクチン接種歴 (2020年度)

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。なお、60歳以上の年齢群で40～59歳の年代群より抗体保有率がやや増加するのは、60歳以上の年齢群では日本脳炎ウイルスに自然感染する機会が多かったためと考えられる。

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2名(7.7%)存在した。これら抗体陽性者2名に関しては日本脳炎ウイルスに自然感染した可能性が考えられた。これら2名の日本脳炎罹患歴は、「なし」が1名、「不明」が1名であり、罹患歴が「なし」の1名については不顕性感染であったと推定された。なお、このうち1名に関しては、0歳4ヶ月齢であり、母親からの移行抗体が残存したために抗体陽性となった可能性も考えられた。

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

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)	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%

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 62.0% 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. また, 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. 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, 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. 名古屋真弓, 稲崎倫子, 小淵正次, 他. (2016). 富山衛研年報, 39, 76 – 79
2. 稲崎倫子, 青柳由美子, 米田哲也, 他. (2017). 富山衛研年報, 40, 75 – 77
3. 稲崎倫子, 青柳由美子, 米田哲也, 他. (2018). 富山衛研年報, 41, 75 – 77
4. 名古屋真弓, 畠田嵩久, 板持雅恵, 他. (2019). 富山衛研年報, 42, 84 – 86
5. 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
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 (2019). 平成 29 年度感染症流行予測調査報告書, 117 – 144
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.html> (2021 年 6 月 23 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, 稲崎倫子, 青柳由美子, 他. (2017). 富山衛研年報, 40, 68 – 74
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, 稲崎倫子, 他. (2020). 富山衛研年報, 43, 82 – 8

インフルエンザ流行予測調査 (2020 年度)

五十嵐笑子 畠田 嵩久 稲崎 倫子 佐賀由美子
 長谷川澄代 板持 雅恵 関口 健治¹ 平 麻衣子
 野尻 麻友³ 関 理恵子⁴ 橋本 尚人⁵ 高木 優⁶
 谷 英樹

Serological Investigation of Influenza Virus Infection
 in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2020

Emiko IGARASHI, Takahisa SHIMADA, Noriko INASAKI, Yumiko SAGA,
 Sumiyo HASEGAWA, Masae ITAMOUCHI, Kenzi SEKIGUCHI, Maiko HIRA,
 Mayu Nojiri, Rieko SEKI, Naoto Hashimoto, Suguru TAKAGI,
 and Hideki TANI

インフルエンザの流行開始前、かつワクチン接種前のインフルエンザウイルスに対する県民の抗体保有状況を把握し、今後の流行予測および注意喚起を促すことを目的として、調査を行った。その調査結果を報告する。

なお本調査は予防接種法に基づき、厚生労働省結核感染症課が主体となり、全国の地方衛生研究所、保健所、医療機関等が協力して実施した。

対象および方法

2020年7～9月に調査を行った。2020年度は、県内住民226名について調査を行った。年齢群別調査数は0～4歳：31名、5～9歳：11名、10～14歳：22名、15～19歳：15名、20～29歳：50名、30～39歳：27名、40～49歳：25名、50～59歳：22名、60歳以上：23名であった。

検査方法は、調査対象者から採血し、血清中のインフルエンザウイルス赤血球凝集抑制 (HI) 抗体価を測定した。抗体価の測定は、「感染症流行予測調査事業検査術式 (平成14年発行)」に準じて行い、血清希釈10倍を最低希釈倍数とした。

抗原は、次の4種類を使用した (2020/21 シーズンワクチン株)。

1. A/ 広東-茂南 /SWL1536 /2019(H1N1)
2. A/ 香港 /2671/2019(H3N2)
3. B/ プーケット /3073/2013 (山形系統)
4. B/ ビクトリア /705/2018 (BVR-11)(ビクトリア系統)

抗原はデンカ生研製を使用した。血球は1, 3, 4の抗原に対して0.5%ニワトリ血球浮遊液を、2の抗原に対しては0.75%モルモット血球浮遊液を使用した。

調査の協力が得られた226名を対象に、2020/21 シーズンの予防接種歴とインフルエンザ罹患歴について、年度末にアンケート調査を行った。調査項目は、ワクチン接種回数と接種年月日、インフルエンザの発症年月日と検出された型とした。

結 果

1. 年齢群別抗体保有状況

HI 抗体価10倍未満～2560倍の抗体保有状況およびHI抗体価40倍以上の抗体保有率を年齢群別に示した (表1)。なお、本稿においては、抗体保有率の高低について60%以上を「高い」、40～59%を「比較的高い」、25～39%を「中程度」、10～24%を「比較的低い」、5～9%を「低い」、5%未満を「極めて低い」として以下の

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. 年齢群別インフルエンザ HI 抗体保有状況 226 件

A/広東-茂南 /SWL1536 /2019(H1N1)

年齢群	人数	各HI抗体価別人数									40倍以上 抗体保有者(率)	
		<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	人数	%
0-4	31	21	3	2	0	3	1	1	0	0	5	16.1
5-9	11	1	1	4	3	2	0	0	0	0	5	45.5
10-14	22	2	2	8	6	2	2	0	0	0	10	45.5
15-19	15	1	1	5	2	5	1	0	0	0	8	53.3
20-29	50	14	3	13	9	10	0	1	0	0	20	40.0
30-39	27	3	2	12	7	1	1	0	1	0	10	37.0
40-49	25	13	2	5	3	1	1	0	0	0	5	20.0
50-59	22	15	1	2	2	2	0	0	0	0	4	18.2
≥60	23	14	3	1	2	0	3	0	0	0	5	21.7
合計	226	90	19	53	34	26	9	2	1	0	72	31.9

A/香港/2671/2019(H3N2)

年齢群	人数	各HI抗体価別人数									40倍以上 抗体保有者(率)	
		<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	人数	%
0-4	31	0	2	21	3	2	1	1	0	1	8	25.8
5-9	11	0	0	3	4	1	1	1	0	1	8	72.7
10-14	22	0	0	1	3	5	4	3	3	3	21	95.5
15-19	15	0	0	0	1	2	5	2	5	0	15	100.0
20-29	50	0	1	3	9	13	11	11	2	0	46	92.0
30-39	27	1	2	5	3	4	4	8	0	0	19	70.4
40-49	25	5	6	2	6	2	2	1	1	0	12	48.0
50-59	22	8	3	3	3	4	1	0	0	0	8	36.4
≥60	23	1	8	4	1	3	2	3	1	0	10	43.5
合計	226	15	23	46	34	37	32	30	12	5	147	65.0

B/プーケット/3073/2013 (山形系統)

年齢群	人数	各HI抗体価別人数									40倍以上 抗体保有者(率)	
		<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	人数	%
0-4	31	4	18	5	2	1	1	0	0	0	4	12.9
5-9	11	0	3	3	4	1	0	0	0	0	5	45.5
10-14	22	0	3	6	5	6	2	0	0	0	13	59.1
15-19	15	0	1	2	5	5	2	0	0	0	12	80.0
20-29	50	0	0	6	11	19	11	3	0	0	44	88.0
30-39	27	0	2	1	8	11	3	2	0	0	24	88.9
40-49	25	1	5	5	4	9	1	0	0	0	14	56.0
50-59	22	2	4	5	6	3	1	1	0	0	11	50.0
≥60	23	2	8	6	4	2	1	0	0	0	7	30.4
合計	226	9	48	41	50	58	22	6	0	0	134	59.3

B/ビクトリア/705/2018(BVR-11)(ビクトリア系統)

年齢群	人数	各HI抗体価別人数									40倍以上 抗体保有者(率)	
		<10	10	20	40	80	160	320	640	1280	人数	%
0-4	31	14	9	7	1	0	0	0	0	0	1	3.2
5-9	11	3	1	2	5	0	0	0	0	0	5	45.5
10-14	22	1	5	7	7	0	2	0	0	0	9	40.9
15-19	15	2	2	1	8	2	0	0	0	0	10	66.7
20-29	50	2	12	17	12	3	3	1	0	0	19	38.0
30-39	27	3	5	6	9	3	1	0	0	0	13	48.1
40-49	25	1	2	5	5	9	3	0	0	0	17	68.0
50-59	22	0	3	4	7	6	1	1	0	0	15	68.2
≥60	23	4	8	5	3	2	0	0	1	0	6	26.1
合計	226	32	50	56	57	26	10	2	1	0	95	42.0

表 2. 予防接種歴別 HI 抗体保有率 (抗体価 40 倍以上)

抗原		A/広東-茂南 /SWL1536 /2019(H1N1)		A/香港 /2671/2019(H3N2)		B/プーケット /3073/2013 (山形系統)		B/ビクトリア /705/2018(BVR- 11)(ビクトリア系統)	
予防接種		有	無	有	無	有	無	有	無
年齢区分	0-4	10.7%	7.1%	10.7%	14.3%	14.3%	0.0%	3.6%	0.0%
	5-9	20.0%	30.0%	40.0%	30.0%	50.0%	0.0%	50.0%	0.0%
	10-14	28.6%	14.3%	61.9%	33.3%	42.9%	19.0%	33.3%	9.5%
	15-19	26.7%	26.7%	46.7%	53.3%	46.7%	33.3%	46.7%	20.0%
	20-29	32.5%	7.5%	67.5%	27.5%	62.5%	25.0%	25.0%	10.0%
	30-39	27.3%	13.6%	36.4%	40.9%	50.0%	36.4%	27.3%	22.7%
	40-49	0.0%	22.7%	13.6%	31.8%	18.2%	36.4%	22.7%	45.5%
	50-59	18.8%	0.0%	37.5%	0.0%	50.0%	0.0%	56.3%	12.5%
	≥60	15.0%	10.0%	25.0%	10.0%	20.0%	5.0%	15.0%	10.0%
全体		20.6%	12.9%	39.2%	26.3%	39.7%	18.6%	27.3%	14.4%

表 3. 年齢別ワクチン接種者 (率) および罹患者 (率)

年齢群	回答人数	ワクチン接種者 (率)		罹患者 (率)			
				ワクチン接種有		ワクチン接種無	
		人数	%	人数	%	人数	%
0-4	24	21	87.5%	0	0.0%	0	0.0%
5-9	6	6	100.0%	0	0.0%	0	0.0%
10-14	18	13	72.2%	0	0.0%	0	0.0%
15-19	10	5	50.0%	0	0.0%	0	0.0%
20-29	29	18	62.1%	0	0.0%	0	0.0%
30-39	21	8	38.1%	0	0.0%	0	0.0%
40-49	16	7	43.8%	0	0.0%	0	0.0%
50-59	19	9	47.4%	0	0.0%	0	0.0%
≥60	16	11	68.8%	0	0.0%	0	0.0%
全体	159	98	61.6%	0	0.0%	0	0.0%

表現に用いた。

(1) A/ 広東-茂南 /SWL1536 /2019(H1N1) に対する抗体保有率

本株に対する HI 抗体価 40 倍以上の抗体保有率は平均 31.9%であった。年齢群別では、15～19 歳 53.3%、5～9 歳及び 10～14 歳 45.5%、20～29 歳 40.0%と比較的高く、30～39 歳の群では 37.0%と中程度であった。60 歳以上 21.7%、40～49 歳 20.0%、50～59 歳 18.2%、0～4 歳 16.1%と比較的低かった。

(2) A/ 香港 /2671/2019(H3N2) に対する抗体保有率

本株に対する HI 抗体価 40 倍以上の抗体保有率は平均 65.0%であった。年齢群別では、15～19 歳 100.0%、10～14 歳 95.5%、20～29 歳

92.0%、5～9 歳 72.7%、30～39 歳 70.4%と高かった。40～49 歳、60 歳以上の群では、48.0%、43.5%と比較的高く、50～59 歳、0～4 歳では 36.4%、25.8%と中程度であった。

(3) B/ プーケット /3073/2013 (山形系統) に対する抗体保有率

本株に対する HI 抗体価 40 倍以上の抗体保有率は平均 59.3%であった。年齢群別では、30～39 歳、20～29 歳、15～19 歳の群では、それぞれ 88.9%、88.0%、80.0%と高かった。10～14 歳 59.1%、40～49 歳 56.0%、50～59 歳 50.0%、5～9 歳 45.5%と比較的高かった。5～9 歳の群では 28.0%と中程度であった。60 歳以上では 30.4%と中程度であった。0～4 歳の群では 12.9%と比較的低かった。

(4) B/ ビクトリア /705/2018 (BVR - 11)(ビクトリア系統) に対する抗体保有率

本株に対する HI 抗体価 40 倍以上の抗体保有率は平均 42.0%であった。年齢群別では、50 ～ 59 歳 68.2 %，40 ～ 49 歳 68.2 %，15 ～ 19 歳 66.7 % と高かった。30 ～ 39 歳 48.1 %，5 ～ 9 歳 45.5 %，10 ～ 14 歳 40.9 % と比較的高かった。20 ～ 29 歳，60 歳以上の群では，それぞれ 38.0%，26.1%と中程度であった。一方，0 ～ 4 歳の群では 3.2%と極めて低かった。

2. 予防接種歴別抗体保有状況

調査対象者 226 名中，予防接種歴不明の 32 名を除く 194 名におけるインフルエンザワクチン接種率（採血時に 2019/20 シーズンのワクチン接種歴ありと回答した者）は 51.0% (99 名)であった。年齢群別の接種率は 27.3 (40 ～ 49 歳) ～ 70.0 (5 ～ 9 歳) %で，各年齢群間で最大 42.7 ポイントの差がみられた。

予防接種歴別抗体保有率を表 2 に示す。全年齢群における平均抗体保有率を予防接種歴別に見ると，A/ 広東 - 茂南 /SWL1536 /2019(H1N1) で 20.6 % : 12.9 %（接種歴有群：接種歴無群，以下同），A/ 香港 /2671/2019(H3N2) で 39.2 % : 26.3 %，B/ プーケット /3073/2013（山形系統）で 39.7 % : 18.6%，B/ ビクトリア /705/2018 (BVR - 11)(ビクトリア系統) で 27.3 % : 14.4 % と，接種歴有群は無群と比較して高い傾向がみられた。

3. ワクチン接種歴および罹患状況

回答が得られたのは，226 名中 159 名で回答率は，70.4 %であった。ワクチン接種率は，61.6 %であった。年齢群別では 5 ～ 9 歳の群が，100.0 % と最も高く，30 ～ 39 歳の群が 38.1 % と最も低かった。全年齢群における罹患率をワクチン接種の有無で見ると，接種歴有群 0%，接種

歴無群 0 %であった（表 3）。

考 察

年齢群別抗体保有率では，ワクチン株が 3 種類変更したにもかかわらず，昨年度の調査結果 [1] と比較して高い傾向がみられた。また，従来からの調査と同様に，0 ～ 4 歳の年齢群においては，他の年齢群よりも抗体保有率が低いことから，インフルエンザに対する注意が必要であると考えられた。

予防接種歴別抗体保有率では，2020/21 シーズンのワクチン株の変更ににかかわらず，いずれの株においても接種歴有群が接種歴無群よりも高い傾向がみられた。このことは，予防接種が抗体価の維持にも一定の効果があることを示唆している。

年度末のアンケート調査では，15 ～ 19 歳，30 ～ 39 歳，40 ～ 49 歳および 50 ～ 59 歳の群の接種率は 50 %以下であった。特に 30 ～ 39 歳の群は 38.1 %であったことから，接種率が低い年齢群に対して，ワクチン接種を呼びかける必要があると考えられる。

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多数の関係各位に深謝いたします。

文 献

1. 小淵正次, 五十嵐笑子, 畠田嵩久, 他. (2020). 富山県衛生研究所年報, 43, 91 - 94

インフルエンザ発生動向調査 (2020/21 シーズン)

五十嵐笑子 畠田 嵩久 稲崎 倫子 佐賀由美子
 長谷川澄代 板持 雅恵 関口 健治¹ 平 麻衣子²
 野尻 麻友³ 関 理恵子⁴ 橋本 尚人⁵ 高木 優⁶
 谷 英樹

Epidemiological Surveillance of Influenza Virus Infection
in Toyama Prefecture, 2020-2021

Emiko IGARASHI, Takahisa SHIMADA, Noriko INASAKI, Yumiko SAGA,
 Sumiyo HASEGAWA, Masae ITAMOUCHI, Kenzi SEKIGUCHI, Maiko HIRA,
 Mayu Nojiri, Rieko SEKI, Naoto Hashimoto, Suguru TAKAGI,
 and Hideki TANI

感染症法に基づく感染症発生動向調査にしたがい、インフルエンザの発生状況の正確な把握と分析を行い、その結果を県民や医療機関へ迅速に提供・公開することにより、インフルエンザのまん延を防止することを目的として調査を実施した。2020/21 シーズンの患者発生状況およびウイルスの検出状況について報告する。

材料と方法

指定提出機関として、黒部市民病院（黒部市）、しむら小児科クリニック（高岡市）の協力を得て、合計2件（2020年10月19日および2021年1月7日採取）の検体について検査を行った。

検査方法は、患者から採取した鼻腔拭い液からRNAを抽出し、リアルタイム RT-PCR によるウイルス遺伝子の検出によって型・亜型の同定を行った [1]。インフルエンザウイルス陰性の検体については、ライノウイルス、RSウイルス、ヒトメタニューモウイルス、パラインフルエンザウイルス1～4型、コロナウイルス、アデノウイルス、エンテロウイルス、ヒトボカウイルスを対象としたリアルタイム RT-PCR を行った [2]。

結果および考察

1. インフルエンザ患者発生状況

2020/21 シーズンにおけるインフルエンザ患者の最初の報告は2020年第48週（11/23～11/29）であった。今シーズンの定点医療機関当たり0.02～0.04人を推移しており、非常に少なかった。過去5シーズンで最も報告数が少なく、定点医療機関での累積患者報告数は10人であった（図1）。

「集団かぜ」による学級閉鎖等の措置は、0施設で、前シーズンの150施設と比べて学級閉鎖等の措置数が大幅に減少した（図2）。

2. インフルエンザウイルスの検出状況

2検体について、インフルエンザウイルスの遺伝子検出を試みたが、インフルエンザウイルスは検出されなかった。成績を表1に示す。

インフルエンザウイルスが陰性だった2検体のうち、1検体（10月採取）からライノウイルスが検出された。これは、インフルエンザ様疾患の検体であった。しかしながら、検体数が1件しかないことや、検体搬入が一部の医療機関に限られていることなどから、これらウイルスの地域

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

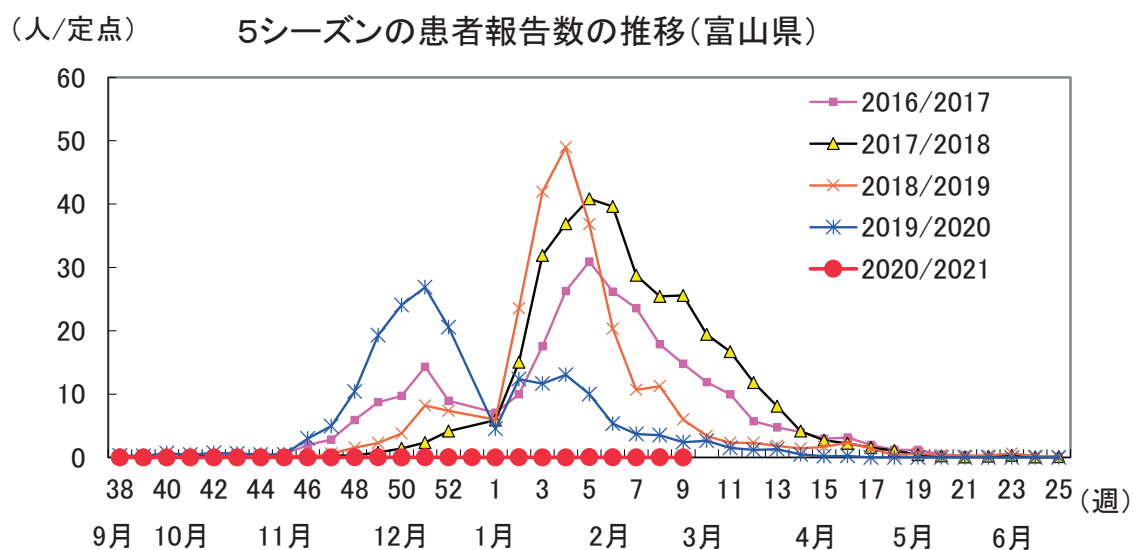


図1. 過去5シーズンの患者報告数の推移 (富山県)

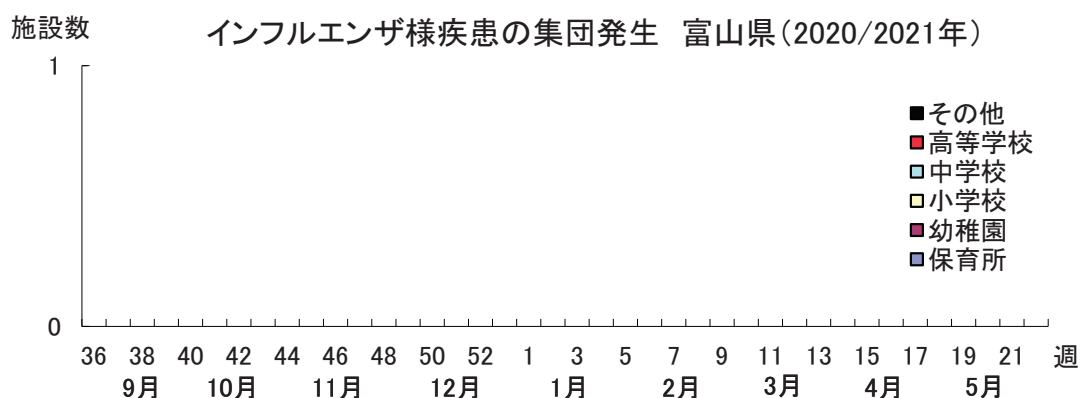


図2. インフルエンザ様疾患の集団発生 (2020/21 シーズン)

表1. 施設別インフルエンザウイルス検出数

管轄厚生 センター・ 保健所等	検体採取施設	採取日	検体数	検出数	型・亜型			
					AH1pdm	AH3	B(山形 系統)	B(ビクトリ ア系統)
新川	黒部市民病院	2020/10/19	1	0	0	0	0	0
高岡	しむら小児科クリニック	2021/1/7	1	0	0	0	0	0
合計			2	0	0	0	0	0

流行については不明である。

今シーズンのインフルエンザ患者報告数は非常に少なかった。新型コロナウイルスの感染拡大により、これまでにない感染症予防対策が講じられているためにインフルエンザの感染も封じ込められていると考えられる。今後のインフルエンザの流行については、新型コロナウイルス感染症の流行状況と合わせて注視していく必要があると思われる。

謝 辞

検査材料の採取と臨床症状の調査にご協力いただいた黒部市民病院、しむら小児科クリニックに

深謝いたします。また、ご協力いただいた多数の関係各位に深謝いたします。

文 献

1. インフルエンザ診断マニュアル第4版(平成30年12月 国立感染症研究所監修)
2. Obuchi M, Yagi S, Oguri A, et al. (2015). Jpn J Infect Dis., 68, 259-261
3. 小淵正次, 五十嵐笑子, 畠田嵩久, 他.(2020). 富山県衛生研究所年報, 43, 99 - 101

感染症媒介蚊の生息状況調査 (2020 年)

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

Distribution of Mosquitoes in Toyama Prefecture, 2020

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

蚊媒介ウイルス感染症には、デング熱、チクングニア熱、ジカウイルス感染症、日本脳炎、ウエストナイル熱などがある。国内では、毎年少数ではあるが日本脳炎の国内発生が報告されている他、デング熱やチクングニア熱などの輸入症例が継続的に報告されており、特にデング熱の輸入症例は近年増加傾向にある [1]。2014 年には、デング熱の国内感染症例が 69 年ぶりに発生し、最終的に 162 例が報告された [2]。2019 年にもデング熱の国内感染 4 症例が発生した [3]。国内にも広く分布するヒトスジシマカ *Aedes albopictus* によって媒介されるデング熱、チクングニア熱、ジカウイルス感染症は、ヒト→蚊→ヒトの感染環を持つため、散発例に止まらず地域流行する恐れがあり、重点的に対策を行う必要がある。2020 年は、新型コロナウイルス感染症の世界的流行により海外との往来が減少した結果、デング熱の輸入症例の報告数は顕著に減少した [1]。しかしながら、ワクチン接種の実施などにより新型コロナウイルス感染症の流行が散発的なものになった後は、再びデング熱などの輸入症例の報告数が増加すると予測されるため、引き続き対策を行う必要がある。

今回、デング熱などの蚊媒介感染症対策の基礎資料とすることを目的に、蚊の発生活動を調査し

た。なお、これまでの調査結果などから県内の観光地において蚊媒介感染症の地域流行が起こるリスクは低いと考えられたため、今年度は観光地における蚊の生息状況の調査は実施しなかった。

材料と方法:2020 年 5～10 月に 2 週に 1～2 回、太閤山ランド（富山県民福祉公園, 富山県射水市）で調査を行った（図 1）。蚊の捕集は、CDC ライトトラップ 512 型（John W. Hock 社製）の豆電球を外して吸引トラップとして用い、誘引源のドライアイス約 1 kg と共に地上約 1～1.5 m の高さに設置し、一晩作動させて行った。蚊の発生が少ない 10 月第 3 週以降は 8 分間人囀法も併用した。このようにして得られた蚊類を、検査室にて分類・計数した。



図 1. 蚊の生息状況調査地点

表 1. 太閤山ランドにおける蚊の種別捕集数

調査 方法	<i>Aedes</i> 属				<i>Culex</i> 属						<i>Tripteroides</i> 属		<i>Armigeres</i> 属		計
	ヒトスジ シマカ		ヤマト ヤブカ		アカイエカ		コガタ アカイエカ		カラツ イエカ		キンバラ ナガハシカ		オオクロ ヤブカ		
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	
トラップ	154	2	4	0	18	3	12	0	1	0	16	0	30	0	240
人囀法	8	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12
計	162	4	6	0	18	3	12	0	1	0	16	0	30	0	252

結果：太閤山ランドにおける種別捕集数を表1に示した。4属7種252個体の蚊が捕集された。優占して捕集された種はヒトスジシマカ（捕集割合61.9%）であった。他に捕集された種も過去の調査と同様で、特筆すべき種は捕集されなかった。

太閤山ランドにおける2020年のヒトスジシマカの発生は5月下旬から10月下旬にかけて観察された。ヒトスジシマカが多数捕集された期間は、9月下旬から10月上旬であった（表2、図2）。

太閤山ランドにおける2016～2020年のヒトスジシマカ雌成虫の捕集数の推移を比較すると、

2020年のピーク時の捕集数は2018年より少なく、2016年、2017年および2019年と同程度で、捕集数が多くなる時期は9月下旬から10月上旬と過去4年に比較して遅かった（図2）。

考 察

県内におけるヒトスジシマカの2020の発生は、5月下旬から10月下旬にかけて確認され、この期間にヒトへの吸血リスクがあることが示された。ヒトスジシマカの発生ピークの時期は地点や年次によって変動がみられるが、これまでの調

表2. 太閤山ランドにおけるヒトスジシマカ雌成虫の調査日別採集数

表2-1. 2020年5月～8月

調査地点(調査方法)	5月				6月				7月				8月			
	5週	1週	3週	4週	1週	2週	3週	4週	1週	2週	3週	4週	1週	2週	3週	4週
地点1(CDCTラップ)	1	2	3	0	3	3	4	5	*	6	5	5				
地点2(CDCTラップ)	0	1	0	1	0	4	2	3	4	7	0	3				
地点1(8分間人囃法)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-				
計	1	3	3	1	3	7	6	8	4	13	5	8				

-: 調査実施せず * : トラップの故障等による欠測

表2-2. 2020年9月～10月

調査地点(調査方法)	9月			10月				計
	1週	3週	4週	1週	2週	3週	4週	
地点1(CDCTラップ)	5	9	22	31	2	7	0	113
地点2(CDCTラップ)	7	1	7	0	0	1	0	41
地点1(8分間人囃法)	-	-	-	-	-	7	3	10
計	12	10	29	31	2	15	3	164

-: 調査実施せず * : トラップの故障等による欠測

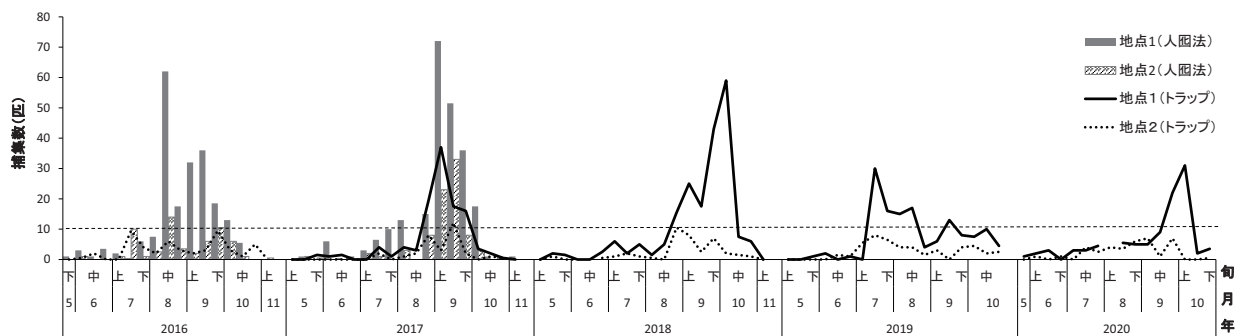


図2. 太閤山ランドにおけるヒトスジシマカ雌成虫の調査日別採集数

2016年は地点1で人囃法、地点2で人囃法とCDCトラップを、2017年は地点1、2ともに人囃法とCDCトラップを、2018～2020年は地点1、2ともにCDCトラップを用いて調査した。グラフ中の水平線(---)は捕集数が多いと判断する目安(10匹)を示した。

査結果 [4 – 8] を総合すると、ヒトスジシマカの発生が多くなるのは、7月から10月上旬の期間であった。この期間は、蚊媒介感染症対策を講じる上で最も注意すべき期間である。

ヒトスジシマカの幼虫の発育速度は発生源の水温に依存するため [9]、気温が高くなると成虫に羽化するまでの期間が短縮される。現在のところ、県内でヒトスジシマカの成虫が確認され始める時期は5月中旬から5月下旬であるが、今後、温暖化が進行した場合、時期が早まる可能性がある。また、ヒトスジシマカの発生源は竹の切り株などの小さな水溜まりであることから、発生数の増減には気温に加えて降雨の影響を受ける。そのため、ヒトスジシマカの発生状況は地域変動や年次変動が大きく、生息状況の調査は地域ごとに単年ではなく複数年にわたって行うことが望ましい。デング熱などの蚊媒介感染症対策を講じる際の基礎資料とするために、今後も継続してヒトスジシマカの発生状況を調査する必要がある。

観光地においては、海外からの観光客によって蚊媒介ウイルスが持ち込まれる可能性がある。2014年には、観光客の多い東京都の代々木公園を中心にデング熱の国内流行が発生し、最終的に162例の国内感染例が報告された [2]。2014年に代々木公園などにおいて感染が拡大した要因としては、ヒトスジシマカの生息密度の高さに加え、長期間滞在する人や日常的に散歩を行う人などが多数存在したことが挙げられる。すなわち、ウイルス血症になったヒトを蚊が刺咬し、多くのウイルス保有蚊が発生したと考えられた。一方、県内観光地においては、これまでの調査の結果、ヒトスジシマカの生息密度が高く、かつ多くの人が定期的に訪問する地点はなかった。したがって、県内の観光地において蚊媒介感染症の地域流行が起

こるリスクは低いと考えられた。そのため、今年度は県内観光地における蚊の生息状況の調査は行わなかった。しかしながら、ヒトスジシマカの生息密度は風通しなどわずかな環境条件の違いにより狭い場所であっても大きく異なるとの報告 [10] があることから、今後の環境条件の変化によってはその生息密度が高くなる可能性がある。したがって、観光地における蚊の生息状況についても定期的に調査する必要がある。

文 献

1. 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> (2020年7月1日アクセス可能)
2. 国立感染症研究所. (2015). IASR, 36, 33 – 34
3. 国立感染症研究所. (2020). IASR, 41, 89 – 96
4. 佐賀由美子, 畠田嵩久, 稲崎倫子, 他. (2020). 富山県衛生研究所年報, 43, 101 – 103
5. 佐賀由美子, 畠田嵩久, 名古屋真弓, 他. (2019). 富山県衛生研究所年報, 42, 107 – 109
6. 佐賀由美子, 長谷川澄代, 稲崎倫子, 他. (2018). 富山県衛生研究所年報, 41, 109 – 113
7. 佐賀由美子, 名古屋真弓, 稲崎倫子, 他. (2017). 富山県衛生研究所年報, 40, 104 – 109
8. 佐賀由美子, 名古屋真弓, 稲崎倫子, 他. (2016). 富山県衛生研究所年報, 39, 93 – 96
9. 津田良夫. (2013). 蚊の観察と生態調査, 47 – 48, 北隆館
10. Tuda Y, Kim K. (2012). Med. Entomol. Zool., 63, 223 – 230

ウイルス性胃腸炎の集団発生事例及び散発例について (2020 年度)

稲崎 倫子 頼成 明奈¹ 五十嵐笑子 畠田 嵩久
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 2020

Noriko INASAKI, Akina RAIJOU, Emiko IGARASHI, Takahisa SHIMADA,
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、主に冬季に多発し、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。一方、小児の散発例では、NoV とともに A 群ロタウイルスの占める割合が多い [2]。

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 [3]。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 [4-7]。

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 [2,13-

25]、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

2020 年 4 月～2021 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

2020 年 4 月～2021 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

厚生労働省通知 [26] に準じ、糞便からの RNA 抽出、DNase 処理、逆転写反応を行い、リアルタイム PCR 法および PCR 法により NoV の検出を行った。PCR 産物から、ダイレクトシーケンスにより G2-SKF/G2-SKR 領域の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/>) により行った。遺伝子型番号は、NoroNet の遺伝子型分類法 [27] に基づき表記した。また、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。

1. 富山市保健所

結果および考察：

1. 集団発生事例の概要

2020 年度に当所で受け付けた感染性胃腸炎の集団発生 5 事例のうち、1 事例からウイルスが検出された（表 1）。この 1 事例の検出ウイルスは NoV GII であった。この NoV の遺伝子型は GII.4 であった。本事例は家庭内発生事例であり、感染経路は不明であった。

2. 月別発生事例数（図 1）

NoV 陽性事例 1 件の発生時期は 9 月であり、例年ウイルス性胃腸炎集団事例の発生数が増加する 12～3 月には発生が確認されなかった。1 年間の発生数は、過去 5 年間の発生数（年 9～16 件）と比較すると大幅に少なかった。この要因として、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が考えられた。

3. 散发例からの遺伝子型別

2020 年度に受け付けた感染性胃腸炎の小児散

発例 5 例（2020 年 3 月採取 3 例、10 月 1 例、12 月 1 例）のうち、2020 年 3 月採取の 1 例より NoV GII が、1 例よりアストロウイルスが検出された。2020 年度に採取された 2 例からはウイルスは検出されなかった。検出された NoV の遺伝子型は GII.2 であった。

4. NoV の遺伝子解析（図 2）

集団事例 1 件においては患者 2 名から NoV が検出されており、2 名のウイルスの塩基配列は 100% 一致していたことから、患者 2 名は同じ感染源から感染したと考えられた。

2020 年 3 月に採取された GII.2 株の配列は、2016/17 年冬季に国内外で流行した GII.2 変異株（参考株：Hu/GII.P16-GII.2/330022/Tokyo/2016/JPN, accession no. LC279234）[29] と近縁であった。2019 年度は 4 月から 2020 年 1 月まで県内でこの変異株に近縁な GII.2 株が確認されており [25]、2019 年度の GII.2 変異株の流行が 2020 年 3 月まで継続していたと考えられた。

表 1. 2020 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.	発生月	発生／原因施設	患者数	推定原因ウイルス	推定感染源
1	2020 年 9 月	家庭内	2	NoV GII.4	不明

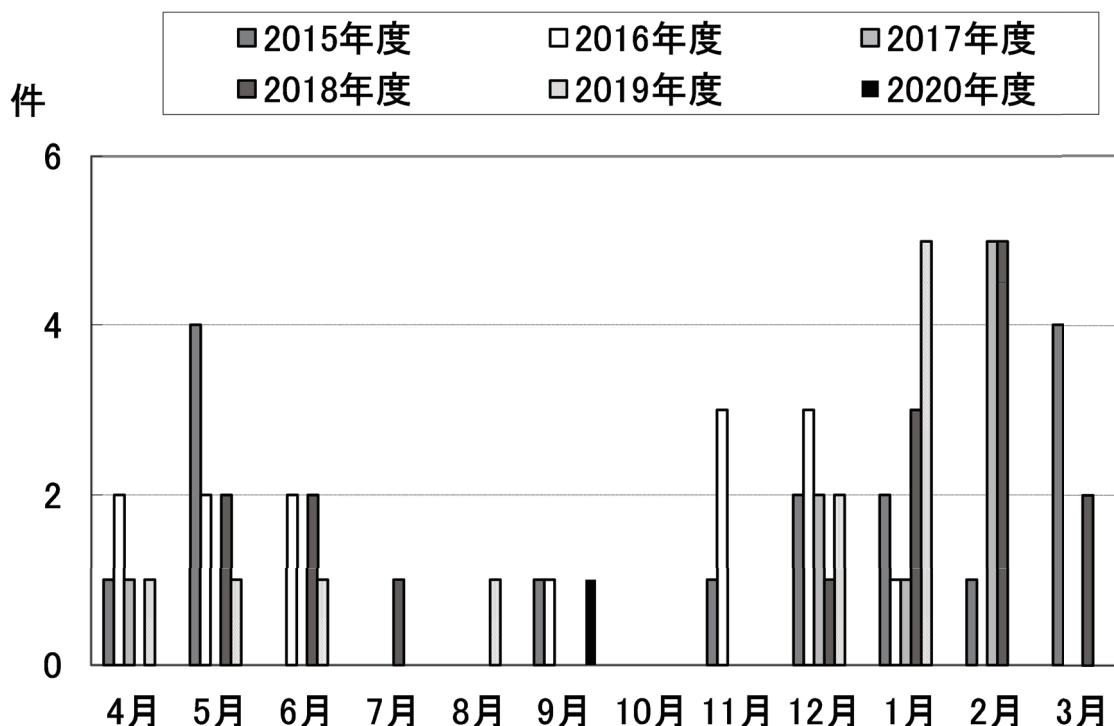


図 1. 年度ごとの月別事例発生数

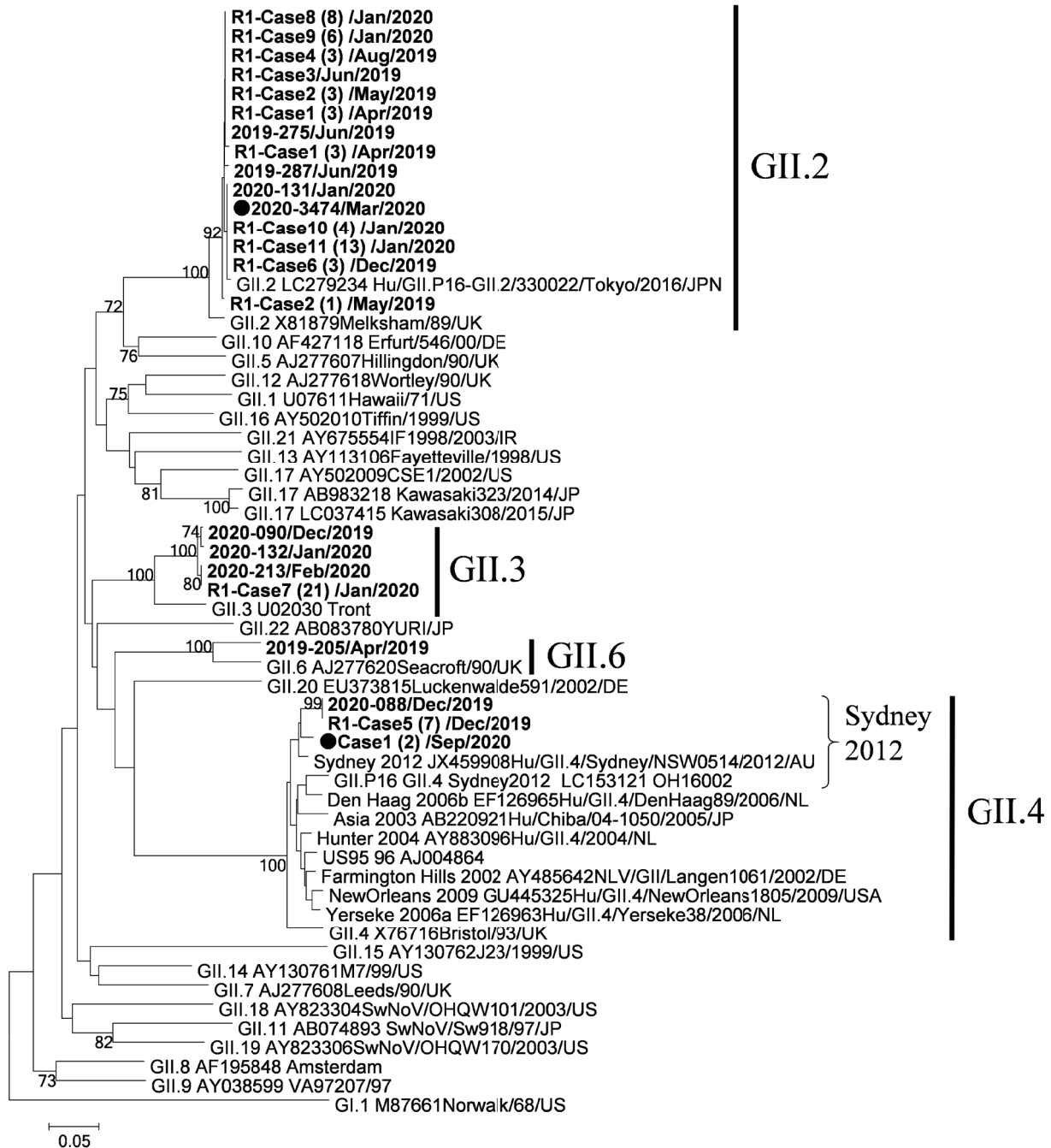


図 2. 2020 年度に得られたノロウイルス GII のカプシド N/S 領域 (282 塩基) における系統樹

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 2020 年度受付検体を、その他は 2019 年度受付検体を示す。集団発生事例の検体は「事例番号 (ヒト検体数または検体の種類) 発生月 / 年」、散发例の検体は「検体番号 / 発生月 / 年」で示す。参考株については「遺伝子型 accession no. 株名」で示す。GII.4 亜型の参考株については「亜型名 accession no. 株名」で示す。

2020年9月に検出された GII.4 株は Sydney 2012 亜型 (標準株: Sydney/NSW0514/2012/AU, accession no. JX459908 に近縁の株) [30] に分類された。2020 年度は 2013 ~ 2019 年度 [18-25] 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。

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、健康課、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_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html (2021 年 6 月 28 日アクセス可能)
2. 宗玄俊一, 小原真弓, 長谷川澄代, 他. (2010). 小児感染免疫, 22, 23-28
3. 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).
4. Ando T, Noel JS, Fankhauser RL. (2000). J. Infect. Dis., 181, S336-348
5. Vinjé J, Green J, Lewis DC, et al. (2000). Arch. Virol., 145, 223-241
6. Kawamoto H, Yamazaki K, Utagawa E, et al. (2001). J. Med. Virol., 64, 569-576
7. Katayama K, Sirato-Horikoshi H, Kojima S, et al. (2002). Virology, 299, 225-223
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, 畠田嵩久, 他. (2019). 富山衛研年報, 42, 33-38
25. 稲崎倫子, 頼成明奈, 畠田嵩久, 他. (2020). 富山衛研年報, 43, 37-42
26. 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長 (2003) 食安監初 115001 号.
27. 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> (2021 年 6 月 28 日アクセス可能)
28. Somura Y, Mizukoshi F, Nagasawa K, et al. (2018). Jpn J Infect Dis., 71(2), 172-173
29. van Beek J, Ambert-Balay K, Botteldoorn N, et al. (2013). Euro Surveill., 18(1), 8-9
30. Nakamura K, Iwai M, Jie Zhang, et al. (2009). Jpn J Infect Dis 62(5): 394-398

2020 年度富山県病原体等検査の精度管理調査 －チフス菌，パラチフス A 菌の同定－

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

Quality Control of the Bacterial Testing of Pathogen in Toyama Prefecture (2020) －Identification of *Salmonella* Typhi and *Salmonella* Paratyphi A－

Keiko KIMATA, Junko ISOBE, Emi MAENISHI, Kaoru UCHIDA,
Jun-ichi KANATANI, Masanori WATAHIKI, 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，向上を目的とした精度管理調査を平成 28 年度より実施している．令和 2 年度の調査は，三類感染症であるチフス，パラチフスの起因菌であるチフス菌，パラチフス A 菌の同定を検査項目とした．

検査試料は，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：県内 5 機関を対象とし，令和 3 年 2 月 16 日～3 月 19 日に実施した．

検査項目はチフス菌・パラチフス A 菌を疑う菌を同定することとした．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．

検査法は各機関の検査実施標準作業書（SOP）に準拠して行い，検査終了後は，検体は SOP に従い，滅菌廃棄した．

結果：各機関の成績は表 2 に示した．全ての機関が，試料 A，B，C について正しく回答した．以下に，提出された記録から結果の詳細を解析した（表 3－5）．

(1) 平板上の集落の観察：調査試料として配布した菌株（以下供試菌）が純培養菌であるか確認する．この確認作業では非選択培地と選択培地の両方に培養して発育菌を観察することが重要となる．非選択培地上では，発育した集落が単一性状（湿潤，辺縁，厚みなど）であるか確認する．選択分離培地では発育した集落がチフス菌，あるいはパラチフス A 菌の特徴を示し，すべての集落が単一性状であるか確認する．これらの平板での観察から供試菌が純培養菌か否かを判定する．純培養菌であることが確認された場合，平板上の集落 5 個以上を一次鑑別培地（TSI，LIM）等に接種し，生化学性状を確認する．

選択分離培地は，記載のない 1 機関を除き，

表 1. 配付資料と接種菌名

試料名	接種菌名
A	<i>Salmonella</i> Plymouth
B	<i>Salmonella</i> Typhi
C	<i>Salmonella</i> Paratyphi A

表 2. 精度管理調査結果

機関名	検体 A		検体 B		検体 C	
	チフス菌	パラチフス菌	チフス菌	パラチフス菌	チフス菌	パラチフス菌
1	否定	否定	陽性	否定	否定	陽性
2	否定	否定	陽性	否定	否定	陽性
3	否定	否定	陽性	否定	否定	陽性
4	否定	否定	陽性	否定	否定	陽性
5	否定	否定	陽性	否定	否定	陽性

表 3. 検体 A (Salmonella Plymouth) の解析結果

機関名	培地名	色調	使用培地	色調	使用培地	色調	使用培地	色調	TSI	LIM	ズルシット	アジノース	キシロース	クエン酸	マロン酸	オルニチン	V P	ONPG	トリニダート	02	09	Vi	Hd	Ha
1	TSA	白	SS	中心黒	DHL	中心黒	クロモアガーサルモネラ	藤色	- , + , + , +	+ , - , +	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	nt	-	-
2	TSA	白	SS	中心黒	DHL	中心黒	クロモアガーサルモネラ	藤色	- , + , + , +	+ , - , +	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
3	血液寒天	灰白	SS	半透明 中心黒	DHL	半透明 中心黒	クロモアガーサルモネラ	藤色	- , + , + , w , +	+ , - , +	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-
4	TSA	白	SS	無色半透明 中心黒	DHL	無色半透明 中心黒	クロモアガーサルモネラ	藤色	- , + , + , +	+ , - , +	+	+	+	+	-	+	nt	-	nt	-	+	-	-	nt
5				中心黒	DHL	中心黒			- , 黒 , + , +	+ , - , +	+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-

nt: not test

表 4. 検体 B (Salmonella Typhi) の解析結果

機関名	培地名	色調	使用培地	色調	使用培地	色調	使用培地	色調	TSI	LIM	ズルシット	アジノース	キシロース	クエン酸	マロン酸	オルニチン	V P	ONPG	トリニダート	02	09	Vi	Hd	Ha
1	TSA	白	SS	白	DHL	白	クロモアガーサルモネラ	藤色	- , + , - , +	+ , - , + , w	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
2	TSA	白	SS	透明	DHL	透明	クロモアガーサルモネラ	藤色	- , + , - , + , w	+ , - , +	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
3	血液寒天	灰白	SS	半透明	DHL	半透明	クロモアガーサルモネラ	藤色 (H)	- , + , - , + , w	+ , - , + , w	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-
4	TSA	白	SS	無色 半透明	DHL	無色 半透明	クロモアガーサルモネラ	藤色	- , + , - , +	+ , - , -	-	-	-	-	-	-	nt	-	nt	-	+	+	+	nt
5				無色 透明	DHL	無色 透明			- , + , + , + , w	+ , - , +	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-

nt: not test

表 5. 検体 C (Salmonella ParatyphiA) の解析結果

機関名	培地名	色調	使用培地	色調	使用培地	色調	使用培地	色調	TSI	LIM	ズルシット	アジノース	キシロース	クエン酸	マロン酸	オルニチン	V P	ONPG	トリニダート	02	09	Vi	Hd	Ha
1	TSA	白	SS	白	DHL	白	クロモアガーサルモネラ	藤色	- , + , + , -	- , - , +	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	nt	-	+
2	TSA	白	SS	透明	DHL	透明	クロモアガーサルモネラ	藤色	- , + , + , -	- , - , +	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
3	血液寒天	灰白	SS	半透明	DHL	半透明	クロモアガーサルモネラ	藤色	- , + , + , -	- , - , +	+	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	+
4	TSA	白	SS	無色 半透明	DHL	無色 半透明	クロモアガーサルモネラ	藤色	- , + , + , -	- , - , +	+	+	-	-	-	+	nt	-	-	nt	+	-	-	+
5				無色透明	DHL	無色透明			- , + , + , -	- , - , +	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	+

nt: not test

SS 寒天培地, DHL 寒天培地, クロモアガーサルモネラを複数種類併用していた。これらの選択分離培地はサルモネラ属菌の硫化水素の産生性やサルモネラ属菌に特有な酵素基質を利用した選択分離培地である。上記のサルモネラ属菌の選択性の原理が異なる培地を複数組み合わせることにより、より精度の高いサルモネラ属菌の分離が可能となる。チフス菌はわずかに硫化水素を産生し、パラチフス A 菌は全く硫化水素を代謝しない特徴がある。このため、チフス菌、パラチフス A 菌は SS 寒天培地, DHL 寒天培地では無色透明な集落を形成する(チフス菌は DHL 寒天培地上で中心部のみ黒色の半透明な集落を呈することがある)。一方、クロモアガーサルモネラ培地では、一般的なサルモネラ属菌と同様、チフス菌、パラチフス A 菌も藤色となる。これらの集落の特徴を観察し、チフス菌、パラチフス A 菌疑い株を分離する。しかし、近年、硫化水素の産生性が低いサルモネラ属菌もあり、これらの選択分離培地でチフス菌が疑われる場合があるため、注意を要する。

(2) O 群血清凝集試験：チフス菌、パラチフス A 菌同定にはそれぞれ Vi 血清・O9 群血清・H-d 血清による血清凝集試験, O2 群血清・H-a 血清による血清凝集試験が必要である。

O 群血清凝集試験は供試する菌量と抗血清の量の変動により、しばしば偽陰性となることがある。このため、検査担当者は日常の検査で、血清凝集試験に最適な供試菌量と抗血清の量の最適比を確認しておくことが重要である。

チフス菌は莢膜抗原の Vi 抗原を保有する V 型菌と、Vi 抗原が脱落した W 型菌が存在する。Vi 抗原は、チフス菌、パラチフス C 菌と一部の *Salmonella* Dublin のみが保有するとされ、とりわけチフス菌については、人からの新鮮分離株で検出される。しかし、人工培地で継代された菌では Vi ファージの脱落によりその凝集性は失われることが多い。このため、生菌を用いた血清凝集試験では、V 型菌は Vi 血清に凝集し、O9 群血清には弱く凝集するかもしれない。一方、W 型菌の血清凝集試験では Vi 血清に凝集せず、O9 群血清のみ凝集する。このため、生菌で Vi 血清凝集が観察された場合は、加熱処理により Vi 抗原を菌体から遊離させた抗原液に用いて O9 群血清の血清凝集試験を行わなければならない。今回の精度管理ではいずれの機関も検体 B (チフス菌) について、Vi 血清および O9 群血清凝集試験を行い、Vi、O9 群血清に双方に凝集す

ることを確認していた(なお 1 機関は Vi 凝集試験結果を生菌の場合と加熱菌を用いた場合で取り違えて記録していた)。一方、検体 C (パラチフス A 菌) ではすべての機関が O2 群血清凝集試験で O2 群血清に凝集することを確認していた。検体 A (*Salmonella* Plymouth) の抗原構造は O9,46:d:z6 であり、O9 群血清および O9,46 群血清に凝集する。生化学性状試験の結果を考慮するとチフス菌である可能性は低いが、市販されている他の血清との凝集性を確認することが望ましい。

(3) H 血清凝集試験：H 血清凝集試験においては、他のサルモネラに比べて運動性が弱いチフス菌、パラチフス A 菌の場合、H 免疫血清との凝集性の判定には注意が必要である。抗原である鞭毛が血清凝集試験に十分な量発現していない場合があるため、チフス菌、パラチフス A 菌が強く疑われる菌で H-d や H-a 血清に凝集しない場合、運動性を高める培養(25℃培養、クレイギー管の使用等)を行うことが望ましい。また、凝集が認められない場合や上述の運動性を高める培養を行った場合などは、抗原液の調製(菌液の培養温度等)や血清凝集試験の温度条件等を確認する必要があるため、記録を残すべきである。前年度のチフス菌精度管理においては、これらの記録を記載していない機関が多かったが、今年度の精度管理では 4 機関で記載されていた。検体 B (チフス菌) ではクレイギー管入り 0.3% 寒天加半流動培地を用いて 25℃で 1 回培養または 36℃で 2 回継代培養による運動性強化を 2 機関が行っていた。5 機関すべてが検体 B (チフス菌) では H-d 血清に、検体 C (パラチフス A 菌) では H-a 血清に凝集することを確認していた。検体 A (*Salmonella* Plymouth, 抗原構造 O9,46:d:z6) では I 相が H-d 血清に、II 相が市販の H-z6 血清または H-1 血清に凝集する。このように抗原の一部がチフス菌と同じ血清に凝集するサルモネラ属菌も存在することから、H-d や H-a 以外の市販されている他の血清との凝集性を確認することが望ましい。

(4) 生化学性状試験：チフス菌、パラチフス A 菌の主要な生化学性状は、硫化水素産生性、ガス産生性、リジンデカルボキシラーゼ産生性、運動性であり、TSI と LIM 培地ではほぼ判別できる。一般的なサルモネラ属菌は硫化水素が強産生性であり TSI 高層で黒色を呈する。しかし、チフス菌、パラチフス A 菌の硫化水素の産生性はないもしくは極めて弱く、TSI 高層での硫化水素産生

による黒変はごく微小か観察されないことが多い。また、生化学性状の確認試験として1機関がSIMによる運動性と硫化水素産生を確認していた。SIMはLIMにくらべ、運動性を確認しやすく、運動性が弱い菌の確認試験には有効な培地である。

今回1機関においてアラビノース代謝試験の結果が陰性であり、他の機関の結果と異なっていた(表2, 表4 機関5)。当該機関に確認したところ、使用したアラビノースはD体であった。細菌学的試験ではL-アラビノースを使用し、通常光学異性体であるD-アラビノースは使用しない。当該機関でのL-アラビノースによる再試験を行ったところ、アラビノース代謝試験の結果は陽性であった。代謝試験に用いる糖について試薬購入時または使用時にいずれの光学異性型の糖を試験に用いるのか確認が必要である。

(5) 陽性コントロール: 今回、3機関が培地の性能確認のために陽性コントロール菌株を用いて選択培地の精度、生化学性状のための培地や試薬の性能を確認していた。用いた陽性コントロール菌株は *Salmonella* Enteritidis が2機関、*Salmonella* Infantis が1機関であった。

Salmonella Enteritidis は O9 群血清に凝集陽性であるため、血清の精度なども確認できる。また、これらの陽性コントロールを置くことで、上述のアラビノース代謝試験においても培地確認が容易になると考えられた。

考察: チフス、パラチフスは本県では3-5年に1例程度の報告があるのみの希少感染症であるが、国内では年間20-30例の推移で患者が発生しており、時に国内では集団感染事例(IASR Vol. 36 p. 162-163: 2015年8月号)が報告されている。また、チフスとパラチフスは三類感染症であり、診断の根拠となる起因菌の同定は迅速かつ正確でなければならない。このため、これらの検査体制の維持は重要である。チフス、パラチフスの同定は生化学性状検査および血清学的検査の両方の結果から判定する。今年度の精度管理では同定の最終結果は全ての機関で正解であったが、一部の機関に培地調整の誤りや結果の誤記載が認められた。今後、各検査機関においては、結果報告の確認体制および培地調整に関するOJT等を今後再確認する必要があると考える。

富山県内の腸管出血性大腸菌感染症発生状況 (2020 年)

木全 恵子 内田 薫 金谷 潤一 前西 絵美
綿引 正則 磯部 順子 百石祐一朗¹ 大石 和徳

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Infectious Diseases Detected
in Toyama Prefecture, 2020

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

2020 年 1 月から 12 月までに富山県において発生した腸管出血性大腸菌 (EHEC) 感染事例は 24 件, 感染者は 28 名であった。これらの内訳は, EHEC O157 感染事例が 12 件, 15 名, EHEC O26 感染事例が 6 件, 6 名, EHEC Og91 感染事例が 3 件, 4 名, O103, Og100, OgN1 感染事例がそれぞれ 1 件, 1 名であった (表 1)。なお遺伝子型別により決定した O 血清群および H 血清型をそれぞれ Og, Hg と表記した。以下にこれらの感染事例についてその概要, 疫学的解析結果を報告する。

2020 年における EHEC 感染症発生状況: 2020 年の富山県における EHEC 感染症の事例数, 感染者数はそれぞれ前年 (25 件, 31 名) 比 0.96, 0.90 で, 事例数, 感染者数ともにやや減少していた。発生形態は, 集団感染 (家族内感染を含む) 4 件, 散発 20 件で, 前年 (集団感染 4 件, 散発 21 件) とほぼ同様であった (表 1)。

EHEC 感染症の事例数及び感染者数の月別動向を図 1 に示した。春季・秋季に EHEC 感染症が多発した前年と異なり, 2020 年は 6 月から 10 月の夏季から秋季にかけて事例数の 79% (19 件/24 件), 感染者の 75% (21 名/28 名) と EHEC 感染症が多く発生した。

有症者の割合は 64% (18 名/28 名) であった。年代ごとの感染者数は 20 歳代が 32% (9 名/28 名) と全体の約 3 割を占めていた (図 2)。また, 男女比は男性 32%, 女性 68% で, 約 7 割が女性であった。

表 1. 富山県腸管出血性大腸菌感染症発生状況 (2020)

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}	毒素遺伝子型
1	2020.1	2	集団	O157:H7	stx2
2	2020.1	1	散発	O26:H11	stx1
3	2020.2	1	散発	Og100:Hg20	stx2
4	2020.3	1	散発	O26:H11	stx1
5	2020.4	2	集団	Og91:Hg14	stx1stx2
6	2020.6	1	散発	O157:H7	stx1stx2
7	2020.6	1	散発	O157:H7	stx1stx2
8	2020.6	1	散発	O103:H11	stx1
9	2020.6	1	散発	O157:H7	stx1stx2
10	2020.7	2	集団	O157:H7	stx2
11	2020.7	1	散発	OgN1:Hg43	stx2
12	2020.8	2	集団	O157:H7	stx2
13	2020.8	1	散発	O26:H11	stx1
14	2020.8	1	散発	O26:H11	stx1
15	2020.8	1	散発	O157:H7	stx2
16	2020.9	1	散発	O157:H7	stx2
17	2020.9	1	散発	O157:H7	stx1stx2
18	2020.9	1	散発	O26:H11	stx1
19	2020.9	1	散発	O157:H7	stx1stx2
20	2020.9	1	散発	O157:H7	stx1stx2
21	2020.10	1	散発	O157:H7	stx1stx2
22	2020.10	1	散発	Og91:Hg14	stx1
23	2020.10	1	散発	Og91:Hg14	stx1
24	2020.10	1	散発	O26:HUT	stx1
O157 12件(15名), O26 6件(6名), Og91 3件(4名), O103 1件(1名), Og100 1件(1名), OgN1 1件(1名) 計24件(28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

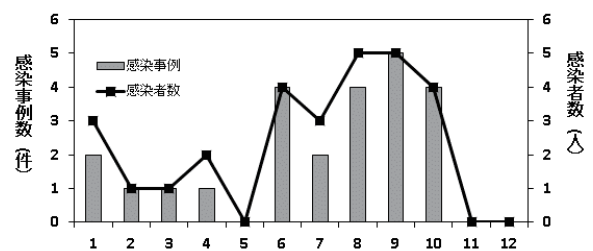


図 1. 富山県における腸管出血性大腸菌感染症月別発生動向 (2020)

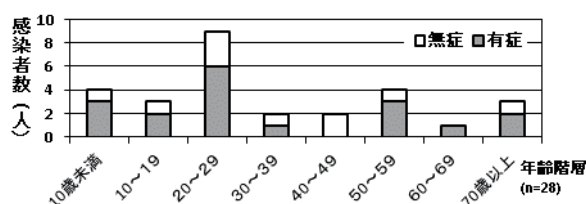


図2. 年齢別腸管出血性大腸菌感染症発生状況

分離株の薬剤感受性：菌株を入手できなかった事例 No.24 を除く表1の各事例の代表株23株について、薬剤感受性試験を行った。対象とした薬剤は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）で、CLSI のプロトコールに準拠し、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・ディッキンソン）を用いた。

供試菌株のうち、上記13薬剤のいずれかに耐性を示したのは事例 No.3 分離株（アンピシリン・SXT 合剤耐性）、事例 No.11 分離株（ストレプトマイシン・テトラサイクリン耐性）、事例 No.17 分離株（ストレプトマイシン耐性）、事例 No.22 分離株（アンピシリン・ストレプトマイシン・テトラサイクリン耐性）、事例 No.23 分離株（ストレプトマイシン耐性）の5株（22%）であった。

分離株の病原因子：各事例の分離株について（表1、事例 No.24 を除く）、接着因子遺伝子 *eae*、ベロ毒素遺伝子 *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。

ベロ毒素遺伝子型は表1のとおりであり、*stx1* *stx2* 保有型が8株、*stx2* 保有型が7株、*stx1* 保有

型が9株であった。事例 No.3, 5, 11, 22, 23 における分離株は *eae* を保有していなかった。また、*astA* は事例 No.4 の分離株から検出された。

O157, O26 の MLVA による遺伝子型別：2018 年から当所において O157, O26, O111 の multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis (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2020年に県内で分離された O157, O26 の各事例分離株（事例 No.24 を除く）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、国立感染症研究所により付与された MLVA の遺伝子型（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.9 について標的遺伝子座 EHC-5 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、事例 No.12, 15, 16（表2, MLVA 型 20m0173）,

表2. MLVA における各標的遺伝子座の反復配列数

O157		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
事例No.	血清型																			
1	O157	2	-2	1	6	-2	16	4	-2	-2	17	9	7	5	4	7	8	5	20m0007	
6	O157	2	-2	1	4	-2	5	4	2	-2	8	12	12	8	7	6	3	7	20m0077	
7	O157	2	-2	1	4	-2	6	4	7	-2	17	12	10	5	7	6	7	6	20m0060	
9	O157	2	-2	1	4	-2	7	4	9/10	-2	11	12	8	6	6	6	6	7	19m0344	
10	O157	2	-2	1	6	-2	10	5	-2	-2	11	9	11	5	4	7	10	6	20m0105	20c010
12	O157	2	-2	1	1	-2	7	5	13	-2	6	9	12	3	3	5	7	6	20m0173	
15	O157	2	-2	1	1	-2	7	5	13	-2	6	9	12	3	3	5	7	6	20m0173	
16	O157	2	-2	1	1	-2	7	5	13	-2	6	9	12	3	3	5	7	6	20m0173	
17	O157	2	-2	1	5	-2	5	4	-2	16	9	12	12	8	7	6	3	6	20m0226	
19	O157	2	-2	1	1	-2	8	6	15	-2	-2	9	8	5	3	5	5	8	20m0342	
20	O157	2	-2	1	5	-2	5	4	-2	-2	9	12	12	8	7	6	3		19m0513	20c030
21	O157	2	-2	1	5	-2	5	4	-2	-2	9	12	12	8	7	6	3	6	19m0513	20c030

O26		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
事例No.	血清型																			
2	O26	2	1	1	2	2	10	24	-2	-2	-2	1	10	2	-2	1	-2	-2	19m2167	
4	O26	2	1	1	2	3	6	15	3	18	-2	1	9	2	-2	1	-2	10	20m2016	
13	O26	2	1	1	2	3	7	20	-2	-2	-2	1	10	2	-2	1	-2	-2	15m2050	
14	O26	2	1	1	2	3	7	20	-2	-4	-2	1	10	2	-2	1	-2	2	20m2103	
18	O26	2	1	1	2	2	8	14	8	-2	-2	1	9	2	-2	1	-2	-2	20m2099	

POR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。

事例 No.20, 21 (表 2, MLVA 型 19m0513, MLVA コンプレックス 20c030) であった。事例 No.12, 15, 16 は 2020 年 8 月～9 月, 事例 No.20, No.21 は 2020 年 9 月～10 月に発生した感染事例であった。以上からこの時期に県内で同一 MLVA 型の EHEC が流行したと考えられたが、感染源は明らかになっていない。

全国における EHEC 感染症発生状況との比較：2020 年の全国における EHEC 感染者数は 3,088 名で、昨年の 0.82 倍で、過去 5 年における年間感染者数は最も少なかった [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、2020 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 遺伝子型または MLVA コンプレックス 26 種類であった [4]。このうち、本県で検出された広域流行株の事例、MLVA 遺伝子型または MLVA コンプレックス、検出された都道府県数は、事例 No.7 (MLVA 遺伝子型 20m0060, 1 都 4 県)、事例 No.10 (MLVA コンプレックス 20c010, 1 都 6 県)、事例 No.20, 21 (MLVA コンプレックス 20c030, 1 都 14 県) であった。2020 年に本県で検出された MLVA 遺伝子型は、O157 が 9 タイプ、O26 が 5 タイプであり、他の MLVA 遺伝子型と関連性があると認められた MLVA コンプレックスが、O157 で 2 種類検出された (表 2)。事例 No.7, 事例 No.10, 20, 21 では他県の同じ MLVA 遺伝子型または 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：2020 年の感染事例のうち、上述の広域流行株以外的事例について以下に詳細を報告する。

県内で発生した EHEC Og91 感染事例：2020 年は Og91 : Hg14 による感染事例が 3 件発生した (表 1)。その内訳は 4 月に 1 件 (表 1 事例 No.5, 感染者 2 名)、10 月に 2 件 (表 1 事例 No.22, No.23, 感染者それぞれ 1 名) であった。上記 3 事例の分離株は市販の大腸菌 O 血清群抗血清に凝集せず、OUT と報告された。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、これらの分離株の血清型はすべて Og91 であることが判明した。これらの分離株の抗原が市販の O91 血清群抗血清に凝集しなかった原因として、O91 血清群の抗原が発現していない可能性や、抗原液の加熱処理による莢膜除去が不十分であった可能性などが考えられたが、原因は不明である。また、各事例分離株の毒素型は、事例 No.5 が *stx1 stx2* 保有型、事例 No.22, No.23 が *stx1* 保有型であった。

国立感染症研究所では 2017 年から O91 の MLVA 解析を開始している。上記 3 件の EHEC Og91 の MLVA 型は、事例 No.5 は 20m8003, 事例 No.22 は 17m8031, 事例 No.23 は 17m8030 であった。これらの事例では MLVA 型も異なることから関連性はないと考えられた。

県内で発生した EHEC Og100 および EHEC OgN1 感染事例：2020 年は上述の EHEC Og91 感染事例 3 件のほかに、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 2 件報告された (表 1 事例 No.3, No.11)。事例 No.3 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、Og100 であることが判明した。2020 年に血清群 O100 の EHEC 分離は本件を含め、全国で 2 件報告されている [3]。

事例 No.11 の分離株は当所で行っている大腸菌の遺伝子型別法 [5] では型別不明 (OgUT) であった。このため、菌株を国立感染症研究所に送付し、国立感染症研究所で他の新規 O 血清群遺伝子の型別を行った [6]。その結果、事例 No.11 の分離株は OgN1 であることが判明した。本血清群遺伝子型は 2016 年に新しい O 血清群遺伝子型として EHEC から検出、報告されている [7]。

考察：2020 年は遺伝子型別による O 血清群の決定を要した感染事例が 5 件発生した。遺伝子型別による O 血清群の決定は、市販の大腸菌 O 血清群抗血清による型別ができない EHEC 感染事例間の遺伝的関連性を確認することができる有効な手段である。その一方で、ゲノム解析から今後新規の大腸菌の O 血清群遺伝子型が増加することが予測される。このため、今後は地方衛生研究所など検査機関において、これらの新規の 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, 健康課, 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. (2021) 病原微生物検出情報, 42, 87 – 90
4. 泉谷秀昌, 李 謙一, 伊豫田淳, 他. (2021) 病原微生物検出情報, 42, 96 – 97
5. Iguchi A, Iyoda S, Seto K, et al. (2017) J Clin Microbiol, 53, 2427– 2432
6. Iguchi A, Nishi H, Seto K, et al. (2020) J Clin Microbiol, 58, e01493-20
7. Iguchi A, Iyoda S, Seto K, et al. (2016) Front Microbiol, 7, 765

2020 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 内田 薫
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 (2020)

Jun-ichi KANATANI, Masanori WATAHIKI, Junko ISOBE, Kaoru UCHIDA,
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、平成11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 [1]。本年の微生物学的検査の精度管理調査では、牛乳中に添加した生菌数測定および模擬食品（加熱食肉製品 加熱殺菌後包装）中のサルモネラ属菌検査（成分規格陰性）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、令和3年2月16日～令和3年2月26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、標準測定（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。

サルモネラ属菌検査用の模擬食品は、市販のコンビーフにサルモネラ属菌の培養液を表1の通り接種して作製した。なお、コンビーフからサルモネラ属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 1.27×10^4 CFU/ml、最大値 1.39×10^4 CFU/ml、最小値 1.17×10^4 CFU/ml であった。SD は 797.5 となり、すべて平均値 $\pm 2SD$ ($1.11 \times 10^4 \sim 1.43 \times 10^4$) 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。各機関の実測値（1 検体あたり 2 回）を見ると、SD は 784.5 となり、すべて平均値 $\pm 2SD$ ($1.11 \times 10^4 \sim 1.42 \times 10^4$) の範囲内であった。実測値の Z スコアにおいても、絶対値はすべて 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 1.25×10^3 CFU/ml、最大値 1.40×10^3 CFU/ml、最小値 1.09×10^3 CFU/ml であった。SD は 111.2 となり、すべて平均値 $\pm 2SD$ ($1.03 \times 10^3 \sim 1.47 \times 10^3$) 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。各機関の実測値を見ると、SD は 108.2 となり、すべて平均値 $\pm 2SD$ ($1.03 \times 10^3 \sim 1.47 \times 10^3$) の範囲内であった。実測値の Z スコアにおいても、すべて絶対値は 2 以下で、ばらつき度合いは良好と判断された。

平成 28 年度～令和 2 年度において、生菌数の

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	未接種 (精製水 2 ml)	0 CFU/g
模擬食品 D	サルモネラ属菌	約 3.3×10^2 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	1.30×10^4	12950	300.0	0.38	13100 12800	450.0 150.0	0.57 0.19
No. 2	1.39×10^4	13900	1250.0	1.57	13800 14000	1150.0 1350.0	1.47 1.72
No. 3	1.22×10^4	12200	-450.0	-0.56	12500 11900	-150.0 -750.0	-0.19 -0.96
No. 4	1.17×10^4	11650	-1000.0	-1.25	11700 11600	-950.0 -1050.0	-1.21 -1.34
No. 5	1.30×10^4	13000	350.0	0.44	13200 12800	550.0 150.0	0.70 0.19
No. 6	1.22×10^4	12200	-450.0	-0.56	12400 12000	-250.0 -650.0	-0.32 -0.83
平均値 ($\bar{X}$)	1.27×10^4	12650.0			12650.0		
標準偏差 (SD)		797.5			784.5		
$\bar{X}+2SD$		14245.0			14219.0		
$\bar{X}-2SD$		11055.0			11081.0		

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	1.23×10^3	1230	-21.7	-0.19	1230 1230	-20.8 -20.8	-0.19 -0.19
No. 2	1.40×10^3	1395	143.3	1.29	1400 1390	149.2 139.2	1.38 1.29
No. 3	1.09×10^3	1090	-161.7	-1.45	1120 1060	-130.8 -190.8	-1.21 -1.76
No. 4	1.30×10^3	1295	43.3	0.39	1340 1250	89.2 -0.8	0.82 -0.01
No. 5	1.33×10^3	1330	78.3	0.70	1320 1330	69.2 79.2	0.64 0.73
No. 6	1.17×10^3	1170	-81.7	-0.73	1190 1150	-60.8 -100.8	-0.56 -0.93
平均値 ($\bar{X}$)	1.25×10^3	1251.7			1250.8		
標準偏差 (SD)		111.2			108.2		
$\bar{X}+2SD$		1474.1			1467.3		
$\bar{X}-2SD$		1029.3			1034.3		

測定値および実測値のZスコアを機関ごとに示した(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. 2の1回の値、機関No. 6の1回の値が $2 < |Z| < 3$ であった。

サルモネラ属菌検査については、すべての機関が食品Dからサルモネラ属菌(O7群)が検出された(表3)。一方、食品Cからはすべての機関でサルモネラ属菌は検出されず、検査精度に問題はなかった。

表3. 模擬食品からのサルモネラ属菌検出

機関名	食品C	食品D
No. 1	陰性	陽性 (O7群)
No. 2	陰性	陽性 (O7群)
No. 3	陰性	陽性 (O7群)
No. 4	陰性	陽性 (O7群)
No. 5	陰性	陽性 (O7群)
No. 6	陰性	陽性 (O7群)

考察：令和2年度において、生菌数の測定値および実測値のZスコアをみると、いずれの機関も「良好」とされる範囲内であり問題はなかった。ただし、平成28年度～令和2年度においては、測定値をみると、1つの機関(計1回)でZス

コアが $2 < |Z| < 3$ の範囲であった。また、実測値では、2つの機関(計2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。

サルモネラ属菌による食中毒は、近年は卵を原因とする集団食中毒事件が減少していることから、行政的に検査する機会も減少傾向にある。しかしながら、厚生労働省の食中毒統計資料によると、令和2年には全国で33件(患者数861名)のサルモネラ属菌による食中毒が発生している。鶏肉からのサルモネラ属菌の検出率は高く、最も注意しなければならない食中毒原因菌のひとつであることに変わりはない。また、加熱食肉製品(加熱殺菌後包装)や食鳥卵(殺菌液卵)からはサル

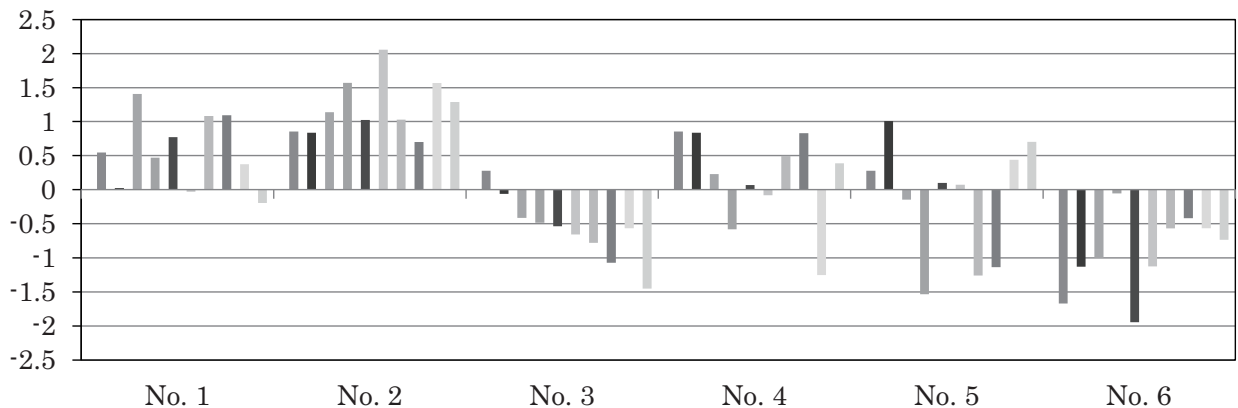


図1. 測定値のZスコア (H28～R02)

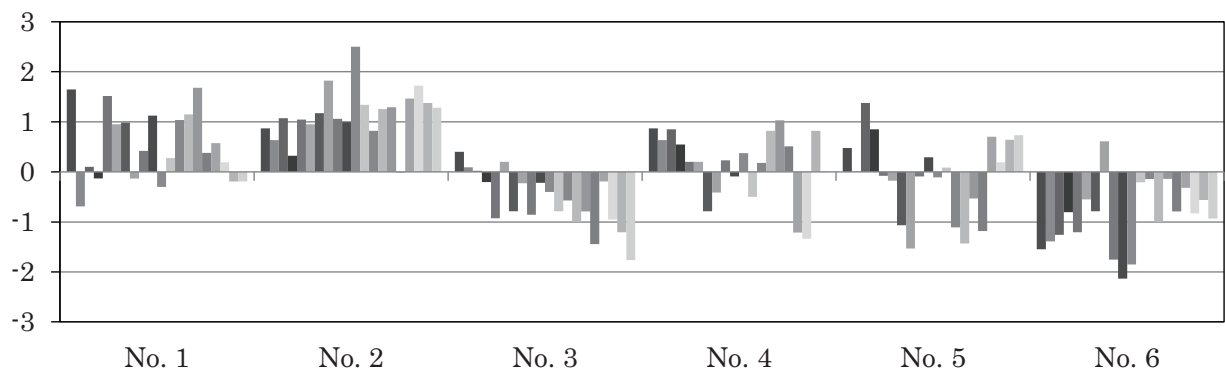


図2. 実測値のZスコア (H28～R02)

モネラ属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。

今回、食品 D に接種したサルモネラ属菌は硫化水素を産生しない非定型菌であったため、硫化水素産生性を指標とする培地（MLCB 培地、DHL 培地など）ではサルモネラ属菌を鑑別できない。一方、特定酵素基質培地上ではサルモネラ属菌とサイトロバクター属菌の典型的な集落が異なるため、容易に鑑別が可能である。ただし、TSI 培地での生化学的性状は硫化水素非産生となることに注意する必要がある。5 機関では、LIM 培地による生化学的性状、O 血清群別に加え、その他の生化学的性状試験（オキシダーゼ試験、クエン酸利用能試験、VP 試験、ONPG 試験、マロ

ン酸利用能試験）を実施し、サルモネラ属菌を確認していたが、1 機関は、その他の生化学的性状試験を実施せずに判定していた。非定型的サルモネラ属菌が疑われた際は、その他の生化学的性状試験を実施し、サルモネラ属菌を確認することが望ましい。また、収去検査でサルモネラ属菌を検出する機会は少ないことから、定期的に精度管理を実施し、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も望ましい。

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 (2020 年)

綿引 正則 内田 薫 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 (2020)

Masanori WATAHIKI, Kaoru UCHIDA, 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 2020 年の患者発生動向と、分離された CRE の 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

2020 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 5 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た CRE13 株について調査した。カルバペネマーゼ遺伝子 (IMP 型, NDM 型, VIM-2 型, KPC 型, OXA-48 型) の検出は PCR 法 [3] により行った。カルバペネマーゼ以外の β -ラクタム耐性機序の確認のため、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-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調べた [4, 5]。

結果と考察：

1. CRE 感染症届出数

富山県内の過去 5 年間の CRE 届出数を表 1 に示した。2020 年は 13 件の届出であった。

菌種別では、*Klebsiella aerogenes* (旧名：*Enterobacter aerogenes*) と *Enterobacter cloacae* が各 4 株、*Enterobacter sp.* が 3 株、*Klebsiella pneumoniae* 及び *Enterobacter cloacae* complex (*E. roggenkampii*) が各 1 株であった (表 2)。

表 1. CRE 感染症の報告数 (2016 ～ 2020 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

表2. 富山県における菌種別CRE感染症届出状況(2020年)

菌種	届出数 (件)
<i>Klebsiella aerogenes</i>	4
<i>Enterobacter cloacae</i>	4
<i>Enterobacter</i> sp.	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1
<i>Enterobacter roggenkanpii</i>	1
計	13

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13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表3に示した。2020年に分離されたCRE菌株からは, カルバペネマーゼ遺伝子は検出されなかった。ESBL遺伝子についてはSHV型が, AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子については, 2株からそれぞれEBC型及びDHA型が検出された。

CREのカルバペネム耐性はカルバペネマーゼの産生, あるいは外膜タンパクの変化を伴ったβ-ラクタマーゼの産生量の増加による。*Enterobacter*属菌などは, 染色体性の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。

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, 腸内細菌目の他菌種に容易に伝播する可能性がある。そのため, CREとして届出対象となった菌株がカルバペネマーゼ遺伝子を保有するかどうかを鑑別することは医療関連感染対策上重要である[1]。

CRE感染症においては, カルバペネマーゼ産生性の鑑別やカルバペネマーゼ遺伝子の型別の必要性が増しており, CREの発生動向には今後も注視する必要がある。

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

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 (2020年)

菌種 (分離数)	カルバペネマーゼ遺伝子				
	IMP型	VIM型	NDM型	KPC型	OXA-48型
<i>Klebsiella aerogenes</i> (4)	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i> (4)	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter</i> sp. (3)	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (1)	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter roggenkanpii</i>	0	0	0	0	0

菌種 (分離数)	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-9型
<i>Klebsiella aerogenes</i> (4)	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i> (4)	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter</i> sp. (3)	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (1)	0	1	0	0	0
<i>Enterobacter roggenkanpii</i>	0	0	0	0	0

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
<i>Klebsiella aerogenes</i> (4)	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i> (4)	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter</i> sp. (3)	0	0	0	0	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (1)	0	0	1	0	0
<i>Enterobacter roggenkanpii</i>	0	0	0	0	0

- 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, 166–172
 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

富山県における 2020 年の病原微生物検出情報

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

Pathogenic Bacteria Isolated in Toyama Prefecture, 2020

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

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ている。2020 年 1 月から 12 月までの検出情報を菌種別および材料別に集計した (図 1, 表 1)。病院で分離された *Staphylococcus aureus* については, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) の割合を求めた。

図 1 に菌種別の分離菌数を示す。 *Escherichia coli* が 4,431 株 (29.1%) でもっとも多かった。

次いで, *S. aureus* が 2,410 株 (15.8%), コアグラウゼ陰性 *S. aureus* 1,515 株 (10.0%), *Klebsiella pneumoniae* が 1,076 株 (7.1%) であった。

検出材料別病原細菌の分離菌数を表 1 に示す。分離菌数は尿から 6,563 株 (43.1%) と最も多く, 続いて喀痰, 気管吸引液および下気道の材料から 3,386 株 (22.2%), 血液から 2,280 株 (15.0%) の順であった。これらの材料からの分離菌数で全体の約 8 割を占めた。この傾向は昨年と同様であった。しかしながら, 分離菌総数 15,220 株は,

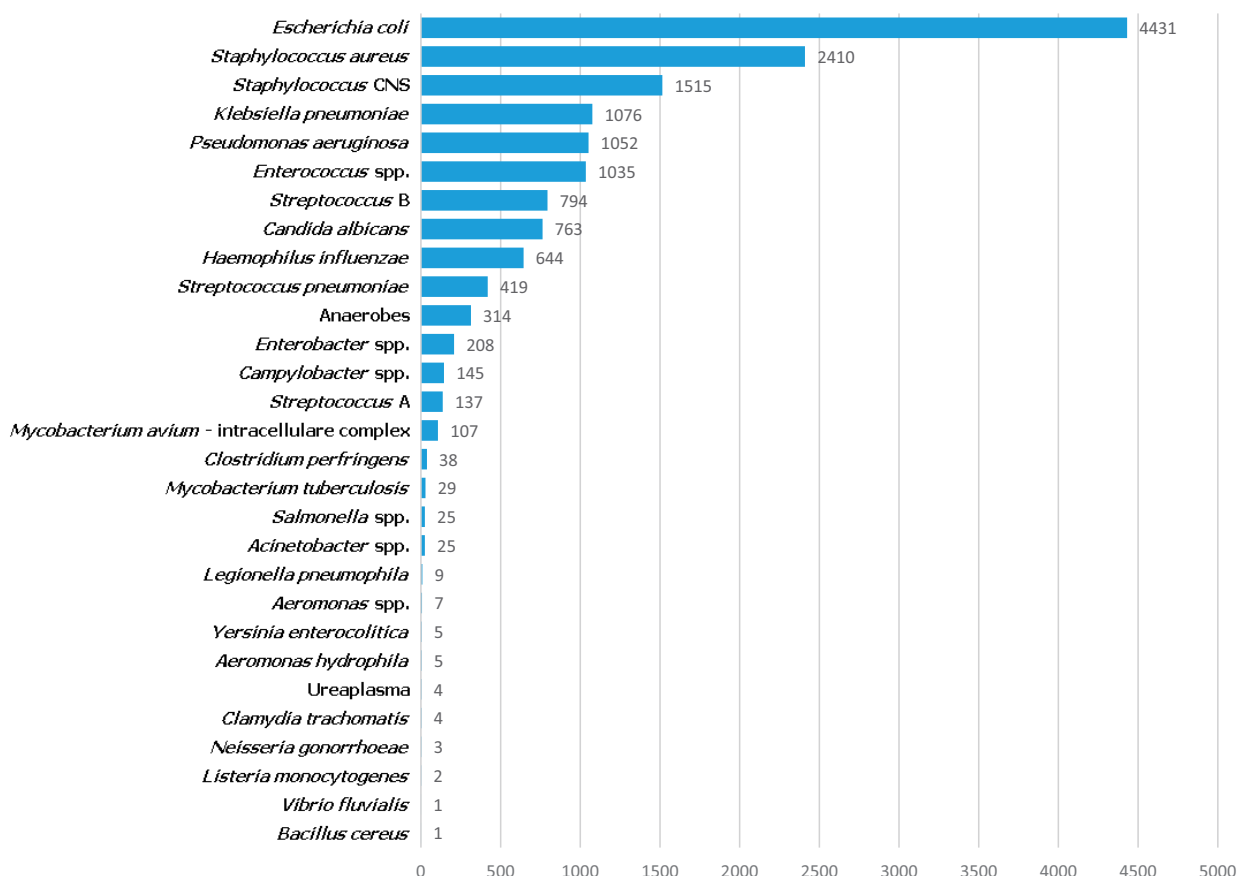


図 1. 菌種別病原細菌分離状況 (2020)

表1. 材料別病原細菌分離状況 (2020)

分離材料	分離菌数	割合 (%)
尿	6,563	43.1
喀痰、気管吸引液および下気道の材料	3,386	22.2
血液	2,280	15.0
陰部尿道頸管擦過(分泌)物	1,159	7.6
糞便	831	5.5
咽頭および鼻咽喉からの材料咽頭	635	4.2
穿刺液(胸水、腹水、関節液など)	360	2.4
髄液	6	0.0
	15,220	100.0

昨年の17,519株の86.9%と減少傾向を示した。とりわけ、咽頭および鼻咽喉では昨年比47.9%と分離菌数が顕著に減少した。

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831株で、前年の70.3%であった。最も多かったのは*E. coli* 362株であったが、前年の615株のおよそ半数に減少した。*E. coli* (EHEC/VTEC)は28株分離され、その内訳は血清群O157が15株、O26が6株、Og91が4株、O103、O100、OgN1各1株であった(データ未掲載)。次に多かったのは*S. aureus* 234株(うちMRSA105株44.9%)で、前年の91%であった。*Campylobacter*は153株で前年の86.9%であった。このように上位3菌種はいずれも前年より分離菌数が減少していた。

穿刺液:分離菌数は360株で前年の101.1%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6株(前年は3株)であった。

血液:分離菌数は2,280株、前年の101.4%であった。*E. coli*, コアグララーゼ陰性*S. aureus*, *S. aureus*(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635株で前年の1,327株から大きく減少した(47.9%)。分離されたのは*Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus B*の3菌種のみである。

喀痰、気管吸引液および下気道:分離菌数は3,386で前年の4,436株の76.3%と大きく減少した。*S. aureus*が1,454(うちMRSA736株45.4%)と最も多く、*Pseudomonas aeruginosa*, *S. pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae*, *H. influenza*なども多く分離された。

尿:分離菌数は6,563株で前年の97.3%であった。*E. coli*の分離菌数は3,127株で最も多く、尿からの分離菌数のおよそ半数(47.6%)を占めた。*Enterococcus spp.*, *S. aureus*, *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1,159で前年の94.8%であった。昨年同様*Streptococcus B*, *Candida albicans*が多く分離された。

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・菌種の病原微生物検出状況 (2020)

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						1		2	4				7
<i>Salmonella</i> O7					1	3		1	3	1	2		11
<i>Salmonella</i> O8									2				2
<i>Salmonella</i> O9						1							1
<i>Salmonella</i> O9,46 (D2)							1						1
<i>Salmonella</i> O3,10 (E1,E2,E3)	1												1
<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	1
<i>Yersinia enterocolitica</i>					1		2			2			5
<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>													0
<i>Vibrio fluvialis</i>							1						1
<i>Vibrio mimicus</i>													0
<i>Aeromonas</i>	1	0	1	0	2	1	2	3	2	0	1	0	13
<i>Plesiomonas shigelloides</i>													0
<i>Campylobacter</i>	5	9	5	11	4	21	23	12	9	15	20	19	153
<i>Staphylococcus aureus</i>	26	26	23	21	8	15	17	20	17	24	20	17	234
<i>Clostridium perfringens</i>	8	4	7	9		2		8					38
<i>Clostridium botulinum</i> E													0
<i>Clostridium botulinum</i> E以外													0
<i>Bacillus cereus</i>								1					1
<i>Bacillus thuringiensis</i>													0
<i>Entamoeba histolytica</i>													0
<i>Escherichia coli</i> 組織侵入性				1					1		1		3
<i>Escherichia coli</i> 毒素原性	5	3	3	1						5	3	1	21
<i>Escherichia coli</i> 病原大腸菌	32	28	25	24	17	29	33	22	22	16	18	13	279
<i>Escherichia coli</i> EHEC/VTEC	3	1	1	2		4	3	4	6	4			28
<i>Escherichia coli</i> その他,不明	8	4	3	3	7	4	2						31
<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	89	75	68	72	40	81	84	73	66	67	65	51	831

注：() 内は海外旅行者分再掲，○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>	4	4	3	6	7	2	11	5	6	4	8	5	65
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	1		1		1	4	4	1		3	4	21
<i>Haemophilus influenzae</i>	1	1											2
<i>Neisseria meningitidis</i>													0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	1	2	2	3	3		1		5	4		25
<i>Mycobacterium</i> spp.													0
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	4	6	5	3	6	7	5	8	6	4	6	65
<i>Staphylococcus</i> コアグラーゼ陰性	2	1	1	4	2	3	1	5	5	2	7	5	38
<i>Streptococcus pneumoniae</i>					1								1
Anaerobes	10	17	12	8	17	14	15	7	7	9	20	7	143
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>													0
合 計	28	29	24	26	33	29	38	27	27	26	46	27	360

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>													0
<i>Haemophilus influenzae</i>													0
<i>Neisseria meningitidis</i>													0
<i>Listeria monocytogenes</i>						1		1					2
<i>Staphylococcus aureus</i>							1		1	1			3
<i>Streptococcus</i> , B									1				1
<i>Streptococcus pneumoniae</i>													0
合 計	0	0	0	0	0	1	1	1	2	1	0	0	6

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>	84	60	63	66	66	70	69	94	86	82	62	75	877
<i>Salmonella</i> Typhi													0
<i>Salmonella</i> Paratyphi A													0
<i>Salmonella</i> spp.						1	2						3
<i>Haemophilus influenzae</i>								1					1
<i>Neisseria meningitidis</i>													0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7	2	4	3	3	5	7	7	5	7	6	6	62
<i>Staphylococcus aureus</i>	32	22	22	23	23	28	23	24	30	35	32	25	319
<i>Staphylococcus</i> コアグラーゼ陰性	61	58	52	45	55	63	75	89	90	95	51	62	796
<i>Streptococcus</i> , B	3	4	2	1	1	4	9	6	4	3	2		39
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	1	1		1	1	2	1		1	1	3	13
Anaerobes	11	30	6	22	12	13	17	15	8	13	13	10	170
<i>Plasmodium</i> spp.													0
合 計	199	177	150	160	161	185	204	237	223	236	167	181	2280

5) 分離材料：咽頭および鼻咽喉からの材料

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>	56	70	54	36	12	12	12	18	10	14	15	24	333
<i>Neisseria meningitidis</i>													0
<i>Streptococcus</i> , A	22	23	18	16	7	9	6	3	6	3	2	2	117
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	22	26	27	16	5	4	19	12	8	20	13	13	185
<i>C. diphtheriae</i>													0
合 計	100	119	99	68	24	25	37	33	24	37	30	39	635

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>	3	2	4	2	2	2	4	3	3	4			29
<i>Mycobacterium avium</i> - intracellul	10	15	17	2	3	3	13	9	9	11	7	8	107
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	54	43	32	42	38	49	37	61	43	46	44	39	528
<i>Haemophilus influenzae</i>	62	63	38	24	10	18	14	13	21	12	15	18	308
<i>Legionella pneumophila</i>			1	2	1	3		1			1	1	10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	58	49	47	34	32	46	41	47	46	47	58	47	552
<i>Staphylococcus aureus</i>	190	150	141	97	93	103	97	119	115	123	108	118	1454
<i>Streptococcus</i> , A	5	3	3	2	2	1			1	2	1		20
<i>Streptococcus</i> , B	24	20	7	8	8	8	10	19	18	9	12	14	157
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	27	23	30	11	14	11	14	12	17	22	25	14	220
Anaerobes			1										1
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>													0
合 計	433	368	321	224	203	244	230	284	273	276	271	259	3386

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>	310	246	266	230	224	260	278	297	266	257	262	231	3127
<i>Enterobacter</i> spp.	19	16	19	14	13	14	15	29	22	22	14	11	208
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	38	40	43	37	25	43	40	54	53	56	51	47	527
<i>Acinetobacter</i> spp.	1	1	1		1		1	4	3	5	3	5	25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	36	29	30	40	23	21	35	45	47	39	32	36	413
<i>Staphylococcus aureus</i>	32	21	30	26	20	19	23	27	41	33	39	24	335
<i>Staphylococcus</i> コアグラーゼ陰性	58	50	57	63	43	69	53	66	47	69	54	52	681
<i>Enterococcus</i> spp.	86	99	88	81	79	79	76	107	77	81	82	100	1035
<i>Candida albicans</i>	18	21	17	20	25	19	12	18	18	11	20	13	212
合 計	598	523	551	511	453	524	533	647	574	573	557	519	6563

8) 分離材料：陰部尿道頸管擦過(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>				1	1			1					3
<i>Streptococcus</i> , B	57	47	61	51	40	52	61	48	50	47	46	37	597
<i>Chlamydia trachomatis</i>					1			1	1	1			4
<i>Ureaplasma</i>	2		2										4
<i>Candida albicans</i>	62	60	59	30	36	33	40	49	52	48	50	32	551
<i>Trichomonas vaginalis</i>													0
合 計	121	107	122	82	78	85	101	99	103	96	96	69	1159

Staphylococcus aureus

		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	15	12	11	10	3	7	9	9	6	10	8	5	105
	MSSA	11	14	12	11	5	8	8	11	11	14	12	12	129
	未検査													0
	件数	26	26	23	21	8	15	17	20	17	24	20	17	234
穿刺液	MRSA	1	2	2	1	0	3	5	3	2	2	0	3	24
	MSSA	4	2	4	4	3	3	2	2	6	4	4	3	41
	未検査													0
	件数	5	4	6	5	3	6	7	5	8	6	4	6	65
髄液	MRSA	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1
	MSSA	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	2
	未検査													0
	件数	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	3
血液	MRSA	9	5	12	9	12	9	6	11	14	10	16	8	121
	MSSA	23	17	10	14	11	19	17	13	16	25	16	17	198
	未検査													0
	件数	32	22	22	23	23	28	23	24	30	35	32	25	319
呼吸器	MRSA	87	84	73	46	47	54	52	61	53	55	49	57	718
	MSSA	103	66	68	51	46	49	45	58	62	68	59	61	736
	未検査													0
	件数	190	150	141	97	93	103	97	119	115	123	108	118	1454
尿	MRSA	17	9	14	12	6	12	12	12	24	18	26	15	177
	MSSA	15	12	16	14	14	7	11	15	17	15	13	9	158
	未検査													0
	件数	32	21	30	26	20	19	23	27	41	33	39	24	335
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 (2020 年)

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

Serotypes and Antibiotic Susceptibilities of Clinical Hemolytic Streptococcal Isolates in Toyama Prefecture, 2020

Junko ISOBE, Kaoru UCHIDA, Emi MAENISHI, Masanori WATAHIKI,
Keiko KIMATA, Jun-ichi KANATANI, Naomi SHIBAYAMA¹, Taeko HORIE¹,
Yutaro KASHIWAGI, Ami TAKESHIMA¹, Tadayoshi IKEBE², 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、膿痂疹など様々な感染症を引き越すだけでなく、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。これら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群の割合も増えている[1]。劇症型となる要因や発生機序は未だ明らかではない。一方、A群溶レン菌におけるマクロライド系やリンコマイシン系薬剤に対する耐性株が近年増加傾向にあるため、その動向には注意が必要である[2]。

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、2020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

2020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、2020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7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」（デンカ生研）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由来株の病原体サーベイランス

2020年に富山県内で届出された劇症型溶レン菌感染症は9件であった。収集された9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」（デンカ生研）を用いた。T血清型別は、(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」（バイオメリュウ）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

1. 富山市民病院 2. 国立感染症研究所細菌第一部

富山県における2020年のA群溶レン菌咽頭炎の患者報告数は3,330人(定点あたり114.83人)であり、定点あたりでみると2019年の115.1人と同様であった。2018年のそれ(77.86人)と比べると増加傾向にあり、今後も注目したい。

2020年の劇症型溶レン菌感染症の患者報告数は9人であった。この報告数は、2018年の20人、2019年の15人に比べると半減している(図1)。2017年以前の報告数は10人前後であったので、このまま増加傾向が下がるのか、監視したい。

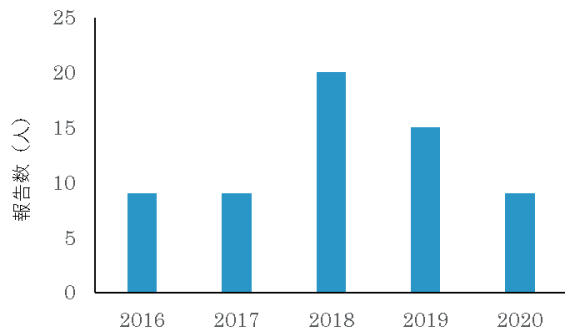


図1. 富山県における劇症型溶血性レンサ球菌感染症報告数(2020)

(2) A群溶レン菌のT血清型別

2020年に分離されたA群溶レン菌のT血清型別結果を表1に示した。分離されたのは1月(2株)、2月(1株)、3月(2株)と冬期間に多い傾向であるが、例年は年間を通して分離される。分離された溶レン菌のT型は、T-3型(2株, 28.6%), T-6型(1株, 14.3%)で、4株が型別不能(57.1%)であった。全国ではT-1型の分離割合が高いが、県内ではT-1の分離数は多くなく、2020年もT-1に型別された株は認められなかった。

(3) 劇症型溶レン菌感染症由来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由来株9株について、検査結果を表2に示した。群別の結果、8/9(88.9%)株がA群、B群が1株であった。A群8株の血清型は、T-1型2株、T-4およびT-12型各1株であった。1株(No.2)は菌種が*S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*であったため、T型別は行っていない。emm遺伝子型は、B群については実施しないため、A群8株の型別を行った。stG643.0, emm49.0型がそれぞれ2株、emm3.93, emm6.0, emm12.0, emm81.0が各1株で、型の集積は認められなかった。

薬剤感受性については、1株でMINO耐性、1株でCPFX低感受性であった。これら以外の7株は13薬剤にすべて感受性であった。

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. 病原微生物検出情報, (2015). 36, 7-8
2. 奥野ルミ, 久保田寛顕, 内谷友美, 他. 病原微生物検出情報, (2015). 36, 6

表 1. 富山県内の 1 医療機関で分離された A 群溶血性レンサ球菌の T 血清型別結果 (2020)

菌型	月別菌株数												合計	%
	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月		
T-3		1	1										2	28.6
T-6			1										1	14.3
型別不能	2				1			1					4	57.1
合計	2	1	2	0	1	0	0	1	0	0	0	0	7	100.0

表 2. 富山県で報告された劇症型溶血性レンサ球菌感染症の起因菌の T 血清型別結果 (2020)

No.	発症月	発症地	年代	性別	群	血清型別	emm型	spe	薬剤感受性
1	1月	富山県	50	女	A	T-3,M-3	emm3.93	ABF	
2	1月	富山県	10未満	男	A	NT*	stG643.0		
3	1月	富山県	70	男	A	T-14/49,MUT	emm49.0	BF	
4	3月	富山県	80	女	A	UT**	stG643.0		
5	3月	富山県	80	女	A	UT	emm49.0	BF	
6	4月	富山県	70	男	A	UT	emm6.0	ABCF	CPFX低感受性
7	9月	富山県	80	男	A	T-12,M-12	emm12.0	BF	
8	10月	富山県	60	男	B	V	NT***		
9	10月	富山県	60	男	A	UT	emm81.0	BF	MINO耐性

*NT, Not Tested (*S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*)

**UT, UnTyped (型別不能)

***NT, Not Tested (A群、B群のみ検査)

アルミナ精製による食品中グリホサートの逆相 HPLC 分析

中山恵理子 山下 智富

Purification with Alumina for Reversed-phase HPLC Analysis of Glyphosate in Foods

Eriko NAKAYAMA, and Tomohisa YAMASHITA

目的：グリホサートは世界で最も使用されている含リンアミノ酸系の非選択性除草剤である（商品名：ラウンドアップ等）。劇物ではないことからホームセンターなどで容易に入手可能であり、これまでに中毒事件・事故の原因物質として複数の報告例がある。

グリホサートは紫外吸収を持たず、蛍光発光も示さないため、通常、誘導体化した後に蛍光検出器付き HPLC により分析される。また、高極性化合物であるため、HPLC 測定に汎用される ODS カラムでは夾雑物質との分離が難しく、イオン交換系などの高価なカラムが用いられている。しかし、食品試料の場合、試験溶液に多量の夾雑物質が残ることがあり、カラムの劣化が生じる場合がある。そのため、ODS 等の比較的廉価なカラムを使用できる方が望ましいが、ODS カラムを使用するためには、通常、夾雑物質を除去する多段階の前処理操作が必要となる。そこで本研究では、廉価で汎用性の高い ODS カラムでの分離測定が可能で、より迅速で簡便な精製法・測定法を確立することを目標とした。それによって分析のスループットを向上できるだけでなく、健康危機管理の面でも有用といえる。

今回、その精製手段としてリン酸基と結合する性質を有するアルミナを利用した。この手法では、グリホサートの代謝物であるアミノメチルリン酸 (AMPA) 及び、同じく含リンアミノ酸系除草剤であるグルホシネートも併せて検出可能であり、その検討した成果を報告する。

材料及び方法：

1. 試料：牛乳、オレンジジュース、コーヒー飲料、ビール、ポタージュスープ（インスタント）、カレー（レトルト）、中華丼の具（冷凍食品）、果実ソース、醤油、焼き肉のたれ。

2. 標準品及び試薬等

標準品：グリホサート標準物質（TraceSure, 富士フイルム和光純薬(株)製）、アミノメチルりん酸標準物質（TRM, 富士フイルム和光純薬(株)製）、グルホシネートアンモニウム標準品（残留農薬試験用, 富士フイルム和光純薬(株)製）。

標準原液 (1000 mg/L)：各標準品 10 mg をメスフラスコに採取し、メタノール 5 ml 及び精製水を加えた。超音波をかけて溶解し、精製水を加えて 10 mL とした。

なお、グルホシネートはアンモニウム塩をグルホシネートの濃度に換算せずに秤取り使用した。

混合標準溶液の調製：上記の各標準原液を採取して混合し、メタノール：水 (1:1) を用いて適宜希釈し、調製した。

検量線用標準液：混合標準溶液を適宜精製水で希釈し、0.02 ～ 0.2 µg/mL の濃度に調製した。

その他の試薬：0.1% クロロギ酸 9-フルオレニルメチル（以下、FMOC）アセトニトリル溶液：FMOC（ペプチド合成用, 富士フイルム和光純薬(株)製）100 mg をアセトニトリルで溶解し、100 mL とした。

0.05 mol/L $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 水溶液：四ほう酸ナトリウム十水和物 1.9 g（特級, 和光純薬工業(株)製）、を精製水に溶解し、100 mL とした。

内部標準液：p-トルエンスルホン酸一水和物（アミノ酸自動分析用, 和光純薬工業(株)製）10 mg を精製水に溶解し 50 mL とした（調製濃度：200 mg/L）。

40 mmol/L KH_2PO_4 溶液 (pH 2.5)：リン酸二水素カリウム（特級, 和光純薬工業(株)製）2.72 g を採取し、精製水に溶解して 500 mL としたものをリン酸で pH 2.5 に調製した。

1% ギ酸含有メタノール溶液：ギ酸（特級, 和光純薬工業(株)製）をメタノールで希釈し、調製した。

1% ギ酸水溶液：ギ酸（特級, 和光純薬工業(株)製）を精製水で希釈し、調製した。

0.0005%ギ酸水溶液：1%ギ酸を精製水で希釈し調製した。

1%炭酸ナトリウム：炭酸ナトリウム（特級，和光純薬工業(株)製）を精製水に溶解して調製した。

その他，メタノール，アセトニトリルはHPLC用を用いた。精製水は日本ミリポア（株）製の超純水装置 Milli-Q Direct 8 で精製した水を使用した。

固相抽出カラム：GLサイエンス社製 InertSep AL-N (100 mg/1 mL) は予めアセトニトリル及び0.0005%ギ酸水溶液各2 mLで順次コンディショニングして用いた。

3. 装置

HPLC 装置：Waters 製 Alliance e2695_e2475 を使用した。

ホモジナイザー：（株）日音医理化機械製作所製 ヒスコトロンを使用した。

4. 測定用試料液の調製（図1）

1) 試料からの抽出及び精製

グリホサートやグルホシネートは水への溶解性が高いが，食品中のマトリックス成分と錯形成しやすいという報告があることから [1]，抽出に際しては高極性農薬の分析法（QuPPe Method）[2] を参考にし，1%ギ酸含有メタノールと精製水の（1:1）混合溶媒を使用した。

具体的には，食品試料1 g に1%ギ酸含有メタノール溶液10 mLを加え，精製水を加えて20 mLとし，混合した。固形食品の場合は，この混合物をホモジナイザーで2分間抽出処理した。抽出液を遠心分離（6,000 rpm，5分間）した後，上清（A）を採取，精製水を加えて飲料類は10倍，加工食品は100倍に希釈し，誘導体化用試料液とした（A'）。

2) 誘導体化及び精製

誘導体化については天川らの手法 [3] 及び水道水質試験法，水質管理目標設定項目の検査方法別添 22[4] を参考にした。

誘導体化用試料液A' 0.5 mLを25 mLの有栓試験管に採取し，0.05 mol/L $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 水溶液2 mL及び0.1% FMOC アセトニトリル溶液2.5 mLを加えて混合した。室温で20分間静置して誘導体化した後，1%ギ酸水溶液を加えて混合した。その後，精製水を加えて希釈し，約25 mLとした（B）。

予めアセトニトリル及び0.0005%ギ酸水溶液

各2 mLで順次コンディショニングした InertSep AL-N に，B全量及び，試験管の内壁を0.0005%ギ酸水溶液2 mLで洗浄した洗液も全て負荷した。

次いで，固相カラムを精製水10 mLで洗浄し，流出液は廃棄した。その後，カラム上部から1%炭酸ナトリウムを流し，溶出液5 mLを採取した（C）。

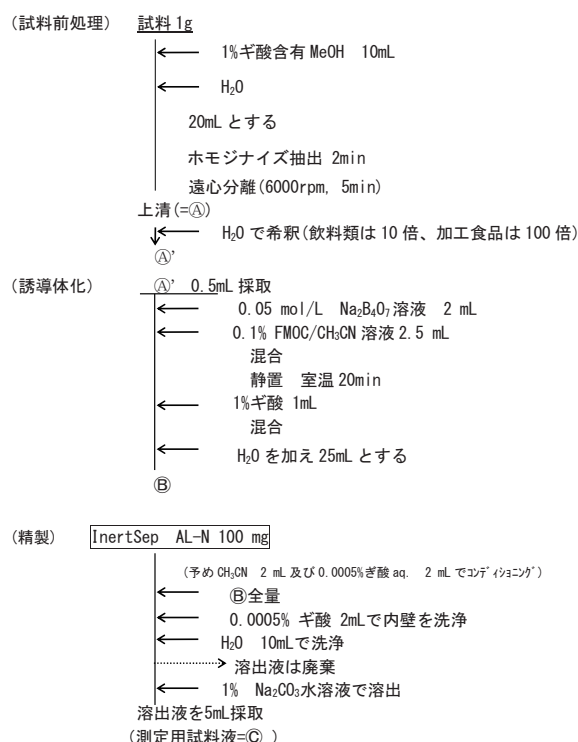


図1. 前処理法の概要

3) 測定条件

© 0.5 mLをバイアル瓶に採取し，内部標準液20 μL 及び移動相溶媒0.5 mLを加えて混合し，測定用試料液とした。

測定用試料液を10 μL 注入し，表1に示す測定条件でHPLC測定を行った。

表1. 測定条件

カラム：	SunFire C18 3.5 μm , 2.1 mm $\times$ 150 mm
移動相：	A: 40mM KH_2PO_4 (pH2.5) aq. B: CH_3CN グラジエント
流量：	0.3mL/min
	A / B = 75 / 25 $\rightarrow$ (13min) $\rightarrow$ 50 / 50 $\rightarrow$ (1min) $\rightarrow$ 30 / 70 $\rightarrow$ (1min) $\rightarrow$ 10 / 90 $\rightarrow$ (1min) $\rightarrow$ 75 / 25
測定時間：	40 min
検出波長：	ex. 268 nm, em. 315 nm
注入量：	10 μL (サンプルクーラー：4℃設定)

4) 検量線の作成

0.02 $\sim$ 0.2 $\mu\text{g/mL}$ の範囲で段階的に調製した検量線用標準液を，それぞれ0.5 mL採取し，以下試料溶液と同様に2-3)の手順に従って処理し，HPLC測定を行った。

得られたピーク面積を基に検量線を作成した。

結果と考察：

1. 精製法の検討

これまでに我々は、アルミナとリン酸基の相互作用を利用した分離・分析手法を報告している [5]。

既報では、アルミナが pH に依存してリン酸基を持つ化合物を捕集および放出する性質を利用して、リン酸基を有する化合物を分離した。本研究ではこの手法を応用して、FMOC 誘導体化したグリホサート、AMPA、グルホシネートをアルミナ固相で精製することを計画した。そこで、精製に適する条件を検討するため、前準備として市販のカラムクロマトグラフ用活性アルミナ (和光純薬工業(株)製 about 45 μ m) を用い、吸着・脱離挙動を調べた。

1) 吸着条件

無機リン酸イオンの活性アルミナへの吸着は pH5 ~ 6 が最適で、pH4 ~ 7 で十分な吸着能力があるとの報告 [1,7] がある。また、共存陰イオンが、酸化金属からなる吸着材へのグリホサートの吸着を妨害すると報告されている [6]。これらの報告から、次の 2 点が前処理において重要だと判断した。

- ・吸着に適する pH 条件に調整すること
 - ・リン酸化合物のアルミナへの吸着効率を上げるため、希釈して共存成分の影響を低減化すること
- そこで、本研究では、希釈操作を前処理に含めるとともに、吸着の最適 pH 条件を探索した。

まず活性アルミナが高濃度の FMOC 誘導体化グリホサートを吸着できるか確認するため、2.5 及び 5 μ g/mL 溶液 (図 1 に示した飲料類の処理法を行った場合の試料中濃度 各々 500, 1000 μ g/g 相当) を 0.5 mL 採取し、図 1 に示した手順で FMOC 誘導体化し、1% ギ酸を加えて反応停止した。(この状態で pH4.9 程度) その中へアルミナ約 100 mg を加え、穏やかに振とうし、農薬濃度の減少の経時変化を測定した。測定結果を図 2 に示す。振とう後 5 分以内に 99% 以上のグリホサートおよび AMPA, 90% 以上のグルホシネートがアルミナに吸着された。この結果は、アルミナ 1 g は 25 μ g のグリホサートを捕集するのに充分量であることを表している。高濃度混入試料の場合であっても、試料量を調節し、グリホサートの絶対量を 25 μ g 未満にすれば対応可能といえる。

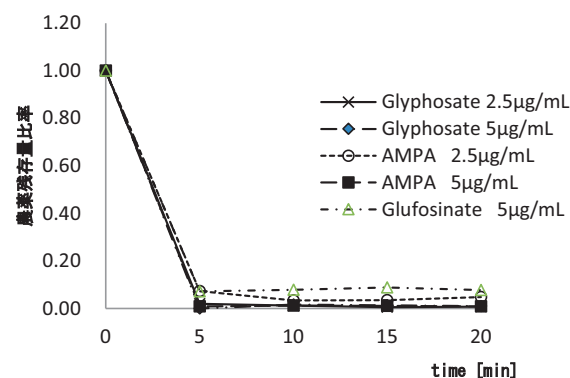


図 2. 高濃度グリホサート等の吸着による減少量経時変化

次に吸着に最適な pH 条件について検討した。試験溶液については以下の通りに調製した。グリホサート、AMPA、グルホシネートの混合標準溶液 1 μ g/mL (試料中濃度 200 μ g/g 相当) を FMOC 誘導体化。誘導体化後、反応停止のためにギ酸溶液を添加し、その後精製水で希釈して 25mL とした。その際、反応停止のためのギ酸溶液の添加量を変えることで pH を調整した。最終的に pH 値が 3.6, 4.4, 5.4, 7.3, 8.3 になるよう調整している。その結果、pH 3.6, 4.4, 5.4 では、グリホサート、AMPA、グルホシネート全て 90% 以上がアルミナに吸着された。pH7.3 ではグルホシネートの吸着率のみが低下して 10% を下回り、pH8.3 になるとさらに AMPA の吸着率も低下して 60% 程度になった。グリホサートは pH8.3 であっても 90% 以上が吸着された。(図 3)。以上の結果より、誘導体化後の溶液については pH 値が 4 ~ 5 になるように調整することとした。

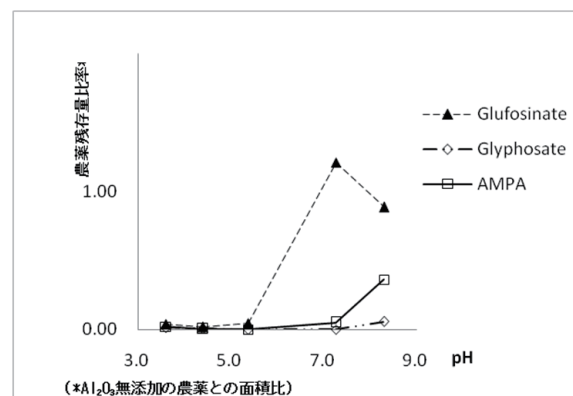


図 3. pH 値と吸着後のグリホサート、AMPA、グルホシネートの残存量比較

2) 脱離条件

グリホサート、AMPA、グルホシネートを吸着したアルミナを含む試験溶液を遠心分離後、液相

を可能な限り除去し、アルミナを残した。そこへ、pH6.2～11の範囲で段階的に調整した水溶液を加えて振とうし、水溶液中に脱離してきた対象物質の濃度を測定した。測定結果を図4に示す。pH10.2 (0.1% 炭酸ナトリウム水溶液) では50%程度しか脱離されなかったが、pH11 (1% 炭酸ナトリウム水溶液) とした場合には、グリホサート、AMPA、グルホシネートすべて10分で80%以上が脱離した。よって、この条件が最適であると判断し、本研究では、脱離にこの溶液濃度を採用することとした。

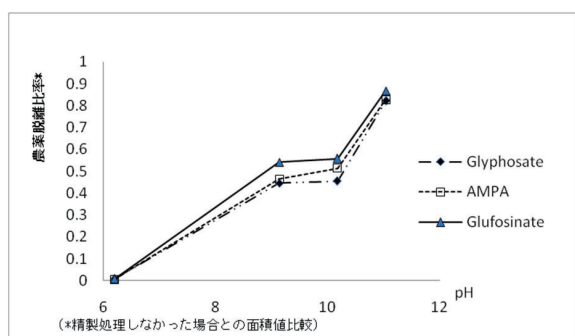


図4. pH値とグリホサート、AMPA、グルホシネートの固相からの脱離量比較

3) 固相カラム

精製処理を行うにあたり、固相のアルミナを計量して使用するよりも市販の固相カラムカートリッジを利用すれば迅速かつ操作が簡便である。そこで、1～2)で検討した条件を基に、固相カラムカートリッジでのグリホサート等の精製効率について実験を行った。

アルミナ固相は活性度によりA、B、Nの3タイプがあり、充填量も100～1000 mg以上と幅がある。Nタイプ1710 mgの固相カラムに誘導体化したグリホサート等を負荷したところ、吸着したまま回収できなかった。そこで100～500 mgの充填量のカラムについて、タイプごとの精製効率の差について、マトリックスを含まない混合標準溶液を用いて確認を行った (表2)。

その結果、充填量100～500 mgであればグリホサート等は概ね90%以上回収できるが、充填量が多くなるほど溶出されにくく、全てを回収するには多くの溶媒量が必要だった。また、充填量が多くなると、タイプA、Bの場合、アルミナ自身が酸性・アルカリ性を示すことから、pH調整が難しくなることが判明したが、充填量100 mgではほとんど差はなかった。

以上の結果を受け、充填量100 mgの固相を用いることとし、今回は中性(N)タイプのものを採用するものとした。この固相からの回収率についてオレンジジュースにグリホサート等の混合標準液を添加した試料で確認したところ、同様の結果を得ることができた。

また、図1の精製過程では精製水10 mLによる洗浄操作を加えた。その理由は、リン酸基とアルミナとの吸着は酸性から中性条件においては比較的強いことから、脱離の前に精製水で十分に洗浄することにより、測定時に妨害ピークとして現れるマトリックス成分をある程度除去することが可能であったためである。

2. 添加回収試験

他機関の報告例を参考にして検出目標濃度を設定し、添加回収試験を実施した。

天川らの報告[3]では経口急性毒性を考慮し、グリホサートとグルホシネートの同時分析における目標分析値を食品1 g当たり100 µgとしている。そこで、本法における固形食品からの検出目標値も100 µg/gとすることにした。しかし、飲料類については、100 mL以上の量を一度に摂取する場合もあることから、目標値を10 µg/gとした。

添加試験を行うにあたり、加工食品などの固体試料の場合、マトリックス成分が、AMPAやグルホシネートのピークと重なって検出される傾向が見られた。そこで、均質化処理後の試料溶液の

表2. 固相タイプと各農薬の溶出割合比較

固相タイプ	試料負荷 流出液の pH値	Glyphosate				AMPA				Glufosinate			
		全脱離量中の割合				全脱離量中の割合				全脱離量中の割合			
		画分(0-5mL)	画分(5-6mL)	画分(6-7mL)	画分(7-8mL)	画分(0-5mL)	画分(5-6mL)	画分(6-7mL)	画分(7-8mL)	画分(0-5mL)	画分(5-6mL)	画分(6-7mL)	画分(7-8mL)
AL-A 100mg	4.2	99.1	0.9	—	—	98.5	1.5	—	—	99.2	0.8	—	—
AL-A 200mg	4.3	98.3	1.7	—	—	98.1	1.9	—	—	99.2	0.8	—	—
AL-B 100mg	4.7*	99.2	0.8	—	—	98.6	1.4	—	—	99.3	0.7	—	—
AL-B 200mg	5.2*	98.9	0.8	0.3	—	98.7	0.8	0.5	—	99.5	0.4	0.1	—
AL-B 500mg	7.2*	97.1	1.7	0.6	0.6	96.2	2.0	1.1	0.7	98.1	1.1	0.5	0.3
AL-N 100mg	4.5	99.5	0.5	—	—	99.2	0.8	—	—	99.7	0.3	—	—
AL-N 200mg	4.5	99.0	1.0	—	—	98.4	1.6	—	—	99.0	1.0	—	—

*アルミナ自体の塩基性の影響が出ていると思われる。

希釈倍率を上げ、誘導体化及び精製操作を実施したところ、食品の種類によっては一部重なりがあるものの、目標濃度の検出が可能となった。

ウスターソースや焼き肉のたれなどの調味料類については除去しきれないマトリックス成分が多かったものの、食品性質上、一度に大量に摂取することは無いと思われることから、固形食品と同様の希釈倍率で試験操作を実施した。しかしながら、醤油については AMPA, グルホシネートについての 100 µg/g レベルの検出は難しく、C18 固相精製操作を加えても十分な効果が見られなかった。

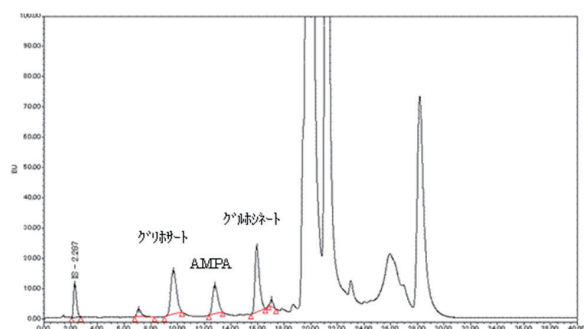


図 5. 中華丼の具に混合標準溶液を添加グリホサート, グルホシネート各 100 µg/g 相当, AMPA 40µg/g 相当検出

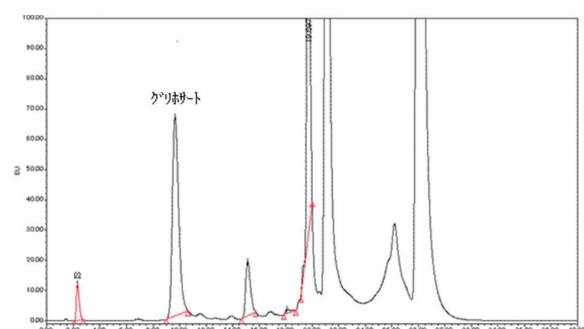


図 6. 牛乳に農薬製剤 (ラウンドアップマックスロード) を添加グリホサート 49 µg/g 相当検出

図 5, 6 に食品へグリホサート等の混合標準溶液を添加した試料のクロマトグラムの例と、実際の農薬製剤 (ラウンドアップマックスロード) を添加したクロマトグラムの例を示す。また、表 3 に食品への添加回収試験結果を示す。

食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドラインに準じ、飲料類, 固形食品各々について、本法の妥当性評価試験を行った。その際の添加濃度として、グリホサート, グルホシネートは検出目標濃度とした。AMPA はグリホサートの代謝物であることから、更に低濃度の検出が必要になると思われ、他の 2 種よりも低濃度の添加を行った。

2 併行 5 日間の添加試験を実施した結果、真度 [%], 併行精度 [RSD%], 室内精度 [RSD%] 全てについて妥当性評価ガイドラインの目標値を満たしていた。結果を表 4 に示す。

以上の結果から、本法は、緊急時対応の迅速分析法として有効使用できると考える。

表 3. 食品への添加回収試験結果
pH と各農薬の吸着量比較

3-1. 飲料類 (添加濃度 10 µg/g)

食品名	グリホサート	AMPA	グルホシネート
牛乳	100	84	105
オレンジジュース	94	92	98
コーヒー飲料	90	83	99
ビール	96	92	100
ホターシュ(インスタント)	90	83	99

3-2. 固形食品 (添加濃度 100 µg/g)

食品名	グリホサート	AMPA	グルホシネート
カレー(レトルト)	107	104	105
中華丼の具	93	93	96

3-3. 調味料 (添加濃度によっては検出困難なピークと重なるため、BL 値考慮)

食品名	グリホサート	AMPA	グルホシネート
ウスターソース 100 µg/g 相当	102	(96)	(90)
焼き肉のたれ 10~25 µg/g 相当	109	(91)	(135)
醤油 100 µg/g 相当	119	(105)	(153)

表 4. 妥当性評価試験結果

食品名	農薬名	添加濃度 [µg/g]	真度 [%]	併行精度 [RSD%]	室内精度 [RSD%]
コーヒー飲料	グリホサート	10	101	1.8	1.6
	AMPA	4	94	2.0	5.8
	グルホシネート	10	103	1.1	2.9
中華丼の具	グリホサート	100	104	1.2	3.5
	AMPA	40	107	1.8	5.2
	グルホシネート	100	109	2.1	3.5

文 献

1. I.Freuze, A. Jadas-Hecart, A.Royer, et al. (2007). J. Chromatogr. A, 1175, 197 – 206
2. M.Anastassiades, D.I.Kolberg, E.Eichhorn, et al. QuPPE of EURL-SRM (Version

- 9.1;2016)
3. 天川映子, 荻原 勉, 永山敏廣. (2006). 東京都健康安全研究センター年報, 57, 235 – 238
 4. 厚生労働省医薬・生活衛生局 水道課長通知. 平成 15 年 10 月 10 日付健水発第 1010001 号.
 5. T. Yamashita, S.Kodama, T. Kemmei, et al. (2009). Lab Chip, 9, 1337 – 1339
 6. D.M.Jia, C.H.Li, and A.M.Li. (2017). RSC Adv., 7, 24430 – 24437
 7. 浦野紘平. (1998). 水質汚濁研究, vol.11, 10, 19 – 23

令和2年度富山県水道水質検査精度管理調査結果 (2020年度)

村元 達也 山下 智富 堀井 裕子

Survey Results of Quality Assessment for Drinking Water in Toyama (2020)

Tatsuya MURAMOTO, Tomohisa YAMASHITA, and Yuko HORII

目的：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、2020年度に実施した塩素酸、硬度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：塩素酸、硬度
- (2) 検体の配布年月日：2021年1月19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：塩素酸測定用検体は、検体配布前日に衛生研究所の水道水に、0.3(w/v)%チオ硫酸ナトリウムを検体500 mLにつき1 mL加えた後、塩素酸イオン標準液(1,000 mg/L：富士フイルム和光純薬株式会社製)を0.15 mg/L相当になるよう添加して作製したもので、配布に際し、塩素酸の濃度範囲は0.06～0.6 mg/Lであると明示した。あらかじめ任意の3本を抜き出して塩素酸を測定したところ、そのビン間変動係数は1.8%であった。また、検体配布7日後(2021年1月26日)、14日後(2021年2月2日)においても塩素酸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。

硬度測定用検体は、検体配布前日に衛生研究所の水道水に、炭酸カルシウム(特級：富士フイルム和光純薬株式会社製)及び硝酸マグネシウム六水和物(特級：富士フイルム和光純薬株式会社製)を用いて調製したカルシウム及びマグネシウム標準液(1,000 mg/L)を、それぞれ20、10 mg/L

相当になるよう添加して作製した。配布に際し、硬度の濃度範囲は30～300 mg/Lであると明示した。あらかじめ任意の3本を抜き出して硬度を測定したところ、そのビン間変動係数は2.3%であった。また、検体配布7日後(2021年1月26日)、14日後(2021年2月2日)においても硬度の値に大幅な変化はなく、配布検体間の値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。

(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

変動係数(CV%) = 各機関の標準偏差 / $\bar{X}$ × 100

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

範囲(R) = | 最大値 - 最小値 |

Zスコア(Z) = $(\bar{X} - X_2) / \sigma$

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

結果と考察：**(1) 塩素酸**

塩素酸の精度管理には16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。誤差率が中央値±10%の範囲から外れる機関はなかった。16機関の測定値の平均値±標準偏差は0.1550±0.0053 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0.0～3.8%、16機関間の室間変動係数は3.4%であった。

Xbar-R管理図を図2に示す。A及びPの測定値が平均値±2標準偏差の範囲(0.1444～0.1656 mg/L)から外れた。範囲の上方管理限界値(UCL)は0.0082 mg/Lであった。

表 1. 塩素酸 結果

検査機関	測定値 X (mg/L)	変動係数 CV%	誤差率 E%
A	0.1438	0.8	-8.9
B	0.1504	0.4	-2.6
C	0.1504	1.4	-2.6
D	0.1516	0.9	-1.8
E	0.1524	0.4	-1.3
F	0.1528	3.8	-1.2
G	0.1532	0.5	-0.8
H	0.1544	1.7	0.0
I	0.1544	1.1	0.0
J	0.1558	1.4	0.9
K	0.1570	0.0	1.7
L	0.1578	0.5	2.2
M	0.1578	1.5	2.2
N	0.1598	0.5	3.5
O	0.1610	1.3	4.3
P	0.1668	0.3	8.0
機関数	16		
平均値 $\bar{X}_2$ (mg/L)	0.1550		
標準偏差 σ (mg/L)	0.0053		
変動係数 (%)	3.4		

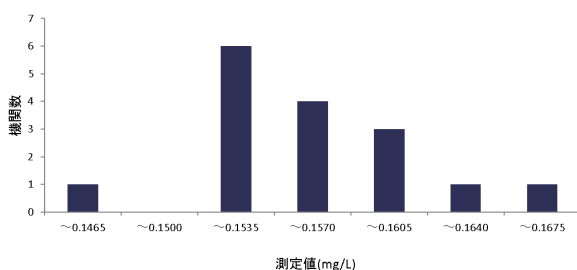


図 1. 塩素酸 ヒストグラム

Zスコアの順位を図3に示す。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。A及びPが「疑わしい」と評価された。「不満足」と評価される機関はなかった。

検査方法は、参加したすべての機関がイオンクロマトグラフ法（サブプレッサ型）で測定し、検出器として電気伝導度検出器を使用していた。検体の保存及び試験開始までの期間について、すべての機関が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]に準じ、適切に行っていた。

標準原液は、すべての機関が市販の塩素酸イオン標準液（1,000 mg/L）を使用し、検査方法告示で規定される濃度範囲を超えない4点以上の濃度点を設定し、検量線を作成していた。ただし、1機関（A）は原点を強制的に通過した検量線を作成し、1機関（F）は濃度点の公比（隣り合う2つの濃度点の濃度比）が4を超える区間があった。それぞれ誤差の原因となるため、是正されることが望ましい。

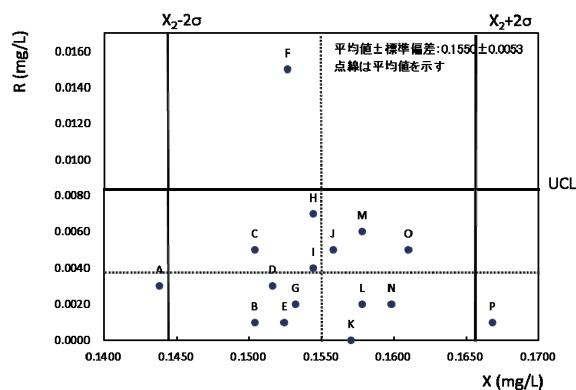


図 2. 塩素酸 Xbar-R 管理図

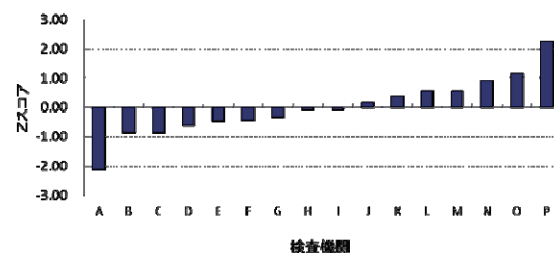


図 3. 塩素酸 Zスコアの順位

(2) 硬度

硬度の精度管理には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2に、またその度数分布を図4に示す。誤差率が中央値 $\pm 10\%$ の範囲から外れる機関はなかった。19機関の測定値の平均値 $\pm$ 標準偏差は 114.2 ± 1.8 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0.0 $\sim$ 2.8%、19機関間の室間変動係数は1.6%であった。

表 2. 硬度 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	111.0	0.0	-2.6	IC
b	112.0	0.0	-1.8	滴定法
c	112.4	0.5	-1.4	滴定法
d	112.6	1.3	-1.2	ICP-MS
e	113.0	0.9	-0.9	ICP-MS
f	113.2	0.4	-0.7	滴定法
g	114.0	0.0	0.0	滴定法
h	114.0	0.0	0.0	滴定法
i	114.0	0.0	0.0	滴定法
j	114.0	0.0	0.0	IC
k	114.0	0.0	0.0	IC
l	114.2	0.7	0.2	ICP-OES
m	114.6	0.5	0.5	滴定法
n	114.8	2.8	0.7	IC
o	115.4	0.8	1.2	滴定法
p	115.4	0.5	1.2	ICP-MS
q	115.4	0.5	1.2	ICP-MS
r	118.0	0.8	3.5	IC
s	118.0	0.6	3.5	ICP-MS
機関数	19			
平均値 $\bar{X}_2$ (mg/L)	114.2			
標準偏差 σ (mg/L)	1.8			
変動係数 (%)	1.6			

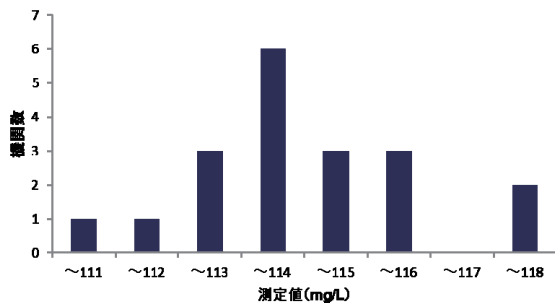


図 4. 硬度 ヒストグラム

Xbar-R 管理図を図 5 に示す。r 及び s の測定値が平均値 ± 2 標準偏差の範囲 (110.6 ~ 117.8 mg/L) から外れた。範囲の UCL は 2.9 mg/L であった。

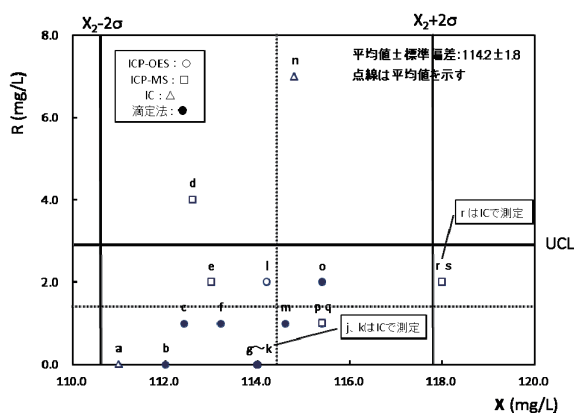


図 5. 硬度 Xbar-R 管理図

Z スコアの順位を図 6 に示す。r 及び s が $2 < |Z| < 3$ となり、「疑わしい」と評価された。 $3 \leq |Z|$ となる機関はなかった。

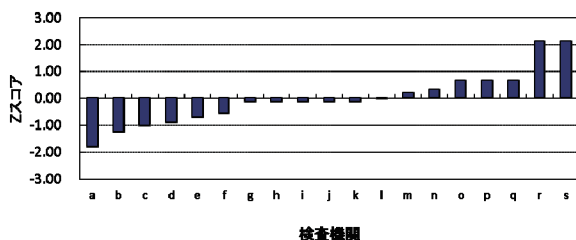


図 6. 硬度 Z スコアの順位

参加した 19 機関が使用した検査方法は、誘導結合プラズマ発光分光分析法 (ICP-OES) が 1 機関、誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) が 5 機関、イオンクロマトグラフ法 (IC) が 5 機関、滴定法が 8 機関であった。IC で測定した 5 機関のうち、1 機関 (n) はノンサプレッサ型を使用していた。測定方法間で測定値に有意差は確認されなかったが、測定値が平均値 ± 2 標準偏差から外れた 2 機関及び R が UCL を超えた 2 機関 (d 及び n) は、いずれも ICP-MS 等の機器分析法で測定していた。今回の精度管理検体は、カルシウム、マグネシウムともに比較的濃度が高く、機器分析法では検体を希釈して測定する機関が多くみられたことから、滴定法に比べて誤差が生じやすかったと考えられた。

検体の保存及び試験開始までの期間について、すべての機関が検査方法告示に準じ、適切に行っていた。

標準原液は、機器分析法で測定したすべての機関が市販のカルシウム及びマグネシウム標準液 (各 1,000 mg/L) を使用し、それぞれ検査方法告示で規定される濃度範囲を超えない 4 点以上の濃度点を設定し、検量線を作成していた。1 機関 (n) は、濃度点の公比が 4 を超える区間があり、是正の必要があった。

試験操作について、すべての機関が検査方法告示に準じた適切な方法で実施していた。機器分析法で測定した 11 機関のうち 6 機関 (a, d, l, n, q 及び r) が、検体を 5 ~ 10 倍希釈し測定していた。

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 138 号