

Ⅱ 調 査 研 究 報 告

資 料

富山県における新生児マススクリーニングの成果について (2024年度)

九曜 雅子 神吉 絹子 高岡 美紗 高田 真衣
新保 孝治 板鼻 広美¹

Neonatal Mass Screening Results in Toyama Prefecture (Apr. 2024-Mar. 2025)

Masako KUYO, Kinuko KAMIYOSHI, Misuzu TAKAOKA, Mai TAKATA,
Koji SHINBO, and Hiromi ITAHANA

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

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

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

本報では、2024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3疾患、尿素サイクル異常症2疾患、有機酸代謝異常症7疾患、脂肪酸代謝異常症5疾患、ガラクトース血症、先天性甲状腺機能低下症および先天性副腎過形成症の計20疾患（表1）を対象とした。

2. 対象者

県内で出生した新生児（里帰り児含む）のうち、保護者が「先天性代謝異常等検査申込書兼同意書」を提出した者を対象とした。

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

3. 検査期間

2024年4月から2025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（3疾患）、尿素サイクル異常症（2疾患）、有機酸代謝異常症（7疾患）、脂肪酸代謝異常症（5疾患）

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

2) ガラクトース血症

マイクロプレート・酵素法（シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス社製キット「エ

1. 富山県厚生部こども家庭室子育て支援課

ンザプレート GAL」使用)により、ろ紙血液中のガラクトースを測定した。ガラクトースの抽出には、トランスファープレートを使用する改良法 [6] を用いた。

また、全検体について、自家調製試薬 [7] によるボイトラー法で、Galactose-1-phosphate uridyl transferase (UT) 活性の有無を検査した。なお、判定用のろ紙は、Whatman DE81 [8] および ADVANTEC No.50 [9] 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 [10] 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

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	
				(nmol/mL)	アミノ酸(mg/dL)	(nmol/mL)	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	340 250	4.4 2.9	600	7.9
	ホモシスチン尿症(HCU)		Met	67	1.0	340	5.0
尿素サイクル異常症	シトルリン血症1型(CTLN1)		Cit	100		250	
	アルギニンコハク酸尿症(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	1.0		2.0	
	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 & C14/C3	0.37 0.42		0.37 0.42	

	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
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 ボイトラー法	Gal Gal-1-P Gal-1-P Uridyltransferase	3 mg/dL or 15 mg/dL 蛍光が微弱または無	Gal 3 mg/dL以上 & ボイトラー法で蛍光無
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 10 ng/mL or 抽出法 4 ng/mL	直接法 10 ng/mL以上で有症状 & 抽出法 10 ng/mL以上

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 [4]。

(6) データ処理

システムケイ社製『新生児マススクリーニング

システム』により、検査検体の受付事務処理、検査結果の判定、結果報告、月報集計、年度集計を行った。

結果：

1. 検査実施状況

(1) 検査件数と検査結果の概要

今年度の受付総数は、5,994 件で、県内 25 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 5,280 人 [11] であり、初回検体数 5,611 件（人）から計算すると受検率は 106.3% となった。100%を超えているのは、県外

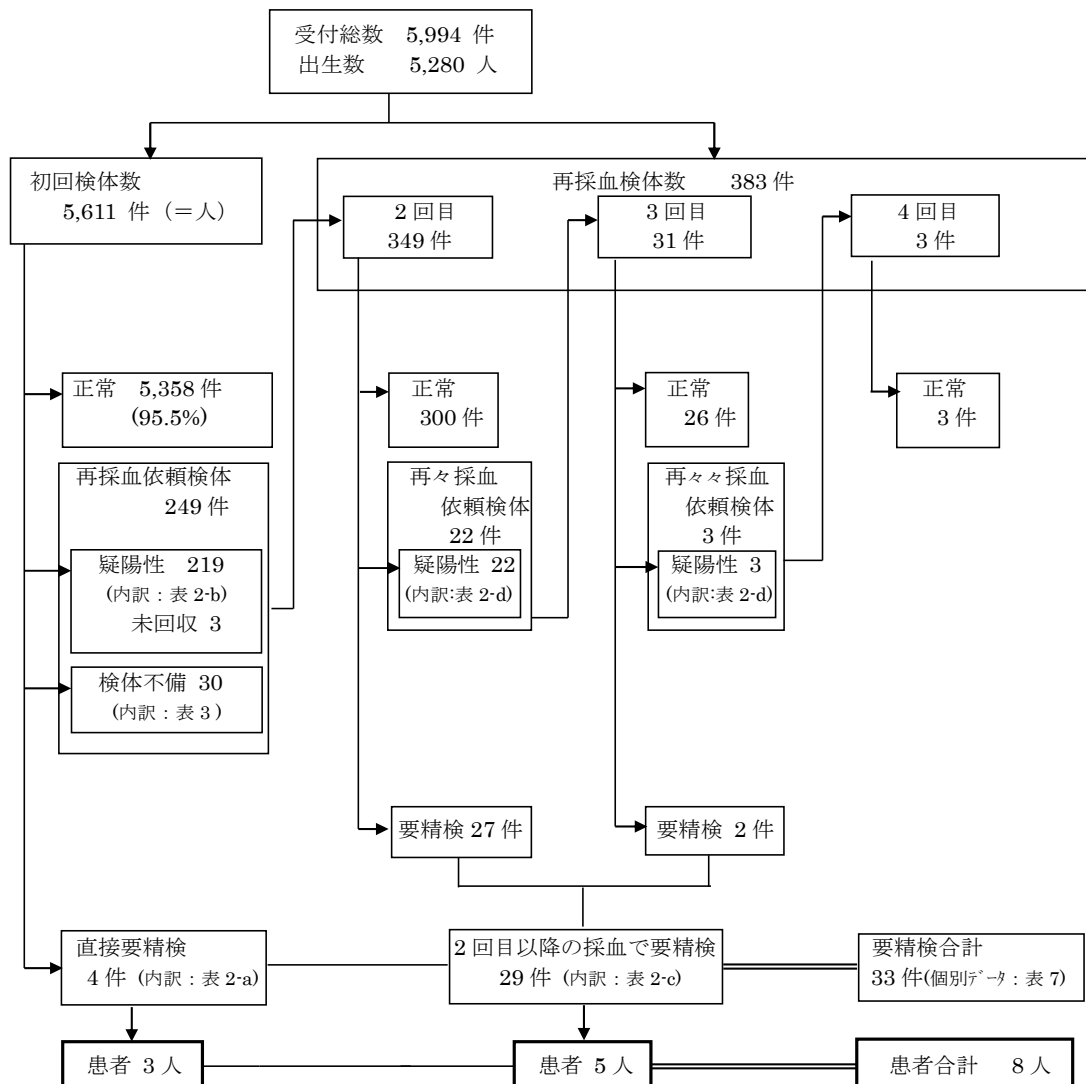


図 1. 検査の流れおよび検査数の概要

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5,358件(人)(95.5%)は正常と判定されたが、219件(人)(3.9%)は疑陽性のため、30件(人)(0.5%)は血液が古い等の検体不備の理由で、再採血を依頼した。また、4件(人)(0.1%)は初回検査で直ちに精密検査が必要(直接要精検)と判定された。

再採血検体として受付した383件のうちでは、29件(人)(7.6%)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4件(人)と合わせて33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、尿素サイクル異常症、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0.35%であった。ガラクトース血症も合わせた代謝異常症の再採血率は0.70%となった。先天性甲状腺機能

低下症は2.22%、先天性副腎過形成症は1.30%となり、すべての対象疾患の合計は4.22%であった。再採血率の目安は、タンデムマス法17疾患では0.1～0.6%[12]、先天性甲状腺機能低下症は0.5～1.0%、先天性副腎過形成症は0.3～0.5%[13]とされている。タンデムマス法の再採血率は適正であったが、先天性甲状腺機能低下症と先天性副腎過形成症の再採血率は高かった。

先天性甲状腺機能低下症については、再採血依頼数(133件)のうち89件(66.9%)は初回検体でのTSH値が判定基準値(カットオフ値)をわずかに超える程度(8～9μU/mL)の検体であった。また、再採血を依頼した例の中にはカットオフ値の前後で測定値がばらついた検体が50件(37.6%)あった。このような例の中には、再採血時にTSH値が上昇し、患者と診断された例もある。通常、再採血率が高い場合には、カットオフ値を高く設定し直す等の検討が必要となるが、その際には、このような患者例についても考慮する必要があると考えられる。

先天性副腎過形成症では、再採血依頼数の約40%が低体重児(出生体重2,000g未満の児)であった。低体重児は副腎機能が未熟であり、さら

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

2024年4月～2025年3月	初回検体 5,611件			再採血検体 383件		総受付検体 5,994件		
	直接要精検数	疑陽性による再採血依頼数	再採血率	要精検数	疑陽性による再採血依頼数	要精検数合計	疑陽性による再採血依頼合計	再採血率
疾患名	a	b		c	d	a+c	b+d	
アミノ酸代謝異常症	1 [1]	7	0.12%	0	0	1 [1]	7	0.12%
尿素サイクル異常症	0	0	0.00%	0	0	0	0	0.00%
有機酸代謝異常症	0	6	0.11%	0	0	0	6	0.10%
脂肪酸代謝異常症	1	4	0.07%	0	4	1	8	0.13%
ガラクトース血症	0	18	0.32%	2	3	2	21	0.35%
先天性甲状腺機能低下症	2 [2]	127	2.26%	22 [5]	6	24 [7]	133	2.22%
先天性副腎過形成症 (内 出生体重 2,000 g未満児の数)	0 (0)	65 (23)	1.16%	5 (1)	13 (8)	5 (1)	78 (31)	1.30%
2024年度総計	4 [3]	227	4.05%	29 [5]	26	33 [8]	253	4.22%
《内 疑陽性が重複している件数》		《8》*1)			《1》*2)		《9》	

《重複している疑陽性疾患の内訳》

*1)

- ・フェニルケトン尿症＋メーブルシロップ尿症 1件
- ・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＋先天性甲状腺機能低下症 1件
- ・イソ吉草酸血症＋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 2件

*2)

- ・先天性甲状腺機能低下症＋先天性副腎過形成症 1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		30
内 訳	血液が古い	3
	ろ紙が汚染している	9
	哺乳不良	18
低体重		81

に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、他の検査施設での導入が進んでいるLC-MSMS 法を当所でも二次検査法として導入し、副腎ホルモンプロファイルを確認することが必要であると考えられる。

また、2 疾患以上で疑陽性となった例が7 人あり、これらの内訳を表2 の注記に示した。表2、表4、表5 では、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244 件（人）で、そのうち、2025 年5 月20 日現在239 件（人）の再採血検体を回収した。回収率は98.0%であった。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、今年度回収できなかった5 件はいずれもNICU から届いた検体であった。そのうちの2 例はスクリーニン

グ対象疾患以外の理由で亡くなった例であった。

(3) 疑陽性以外の理由による再採血

表3 に疑陽性以外の理由による再採血依頼数を示した。

医療機関で採血後検体受付までに7 日間以上経過していたため血液が古いと判断した検体が3 件、ろ紙が汚染しているとして再採血を依頼した検体は9 件であった。ろ紙の汚染については、タンデムマス法の測定結果から採血医療機関での採血ろ紙の乾燥時やろ紙の保管時でのワックスがけの影響 [14] が確認できたため、再採血を依頼したものである。また、哺乳不良のための再採血依頼検体は18 件であった。

このような検体不備のために再採血を依頼した30 件については、すべて再採血検体が届き、回収率は100%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 [15]。2024 年度の初回検体5,611 件（人）のうち、低体重児は81 人（1.4%）であった。このうち24 人は疑陽性として再採血を依頼した。この他に3 人が哺乳不良例であり、低体重児のみを理由として再採血を依頼したのは54 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 [16] との比較をそれぞれ表4、表5 および表6 に示した。

表 4. 月別検査実施状況

年			2024年								2025年			計	
月			4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2		3
受付検体総数 (件)			477	496	492	572	524	519	542	451	499	492	464	466	5,994
内 訳	初回検査数 (件)		449	466	455	544	498	479	510	421	460	458	436	435	5,611
	再採血総数 (件)		28	30	37	28	26	40	32	30	39	34	28	31	383
	採 血 回 数	2回目	25	27	35	27	22	36	27	24	39	29	28	30	349
		3回目	3	3	2	1	2	4	4	6	0	5	0	1	31
		4回目以上	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	3
疑 陽 性 数 (カ ツ コ 内 は 要 精 検 数)	アミノ酸代謝異常症		1	1	0	3	0	0	0 (1)	2	0	0	0	0	7 (1)
	尿素サイクル異常症		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 (0)
	有機酸代謝異常症		2	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	2	6 (0)
	脂肪酸代謝異常症		0	1	0	0	2	0	2	0	1	1	0 (1)	1	8 (1)
	ガラクトース血症		0	3	4	2	1	1	2	2	1	2 (2)	3	0	21 (2)
	先天性甲状腺機能低下症		15 (4)	7 (1)	4	12 (1)	7 (2)	13 (2)	6	9 (1)	20 (3)	10 (5)	18 (1)	12 (4)	133 (24)
	先天性副腎過形成症		6	11 (2)	7 (1)	7	8	9 (1)	9	3	2	5	8 (1)	3	78 (5)
計			24 (4)	23 (3)	15 (1)	24 (1)	19 (2)	23 (3)	20 (1)	16 (1)	24 (3)	18 (7)	29 (3)	18 (4)	253 (33)

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18人（ヒスチジン血症除く）であり、発見率は1/26,500となった。先天性甲状腺機能低下症は1/1,800先天性副腎過形成症は1/16,700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

2024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42件、先天性甲状腺機能低下症が133件、先天性副腎過形成症が78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4人、先天性甲状腺機能低下症24人、先天性副腎過形成症5人であった（表5）。このうち患者と診断されたのは、フェニルケトン尿症1人、先天性甲状腺機能低下症7人であった。

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。

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～2021年度	73,129	69,399	63,786	108.8%	650	892	1,143	72 (7)	137 (64)	69 (6)
2022年度	6,899	6,500	6,088	106.8%	62	118	103	6 (1)	21 (11)	10 (0)
2023年度	6,213	5,852	5,498	106.4%	50	107	79	5 (2)	18 (5)	6 (0)
2024年度	5,994	5,611	5,280	106.3%	42	133	78	4 (1)	24 (7)	5 (0)
計	505,491	476,986	467,317	—	5,497 ^{*2)}	5,460	4,019	364 ^{*2)} (51 ^{*3)})	916 (243)	457 (20)

*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3疾患＋尿素サイクル異常症2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3疾患＋尿素サイクル異常症2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25人あり（高フェニルアラニン血症19人、チロジン血症2人、G6PD異常症2人、シトリン欠乏症2人）

表 6. マス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 期 間	富山県				全 国			
	2024年度		1977年度～2024年度		2023年度		1977年度～2023年度	
受検者数	5,611人		476,986人		741,558人		54,290,411人	
患者数、発見率	患者数 (人)	発見率	患者数 (人)	発見率	患者数 (人)	発見率	患者数 (人)	発見率
疾患名								
アミノ酸代謝異常症	1	1/ 5,600	7 ²⁾	1/ 68,100	32	1/ 23,200	1,172	1/ 46,300
尿素サイクル異常症 ¹⁾	0	—	1 ³⁾	1/ 79,500 ⁶⁾	5	1/ 148,300	61	1/ 177,900 ⁹⁾
有機酸代謝異常症	0	—	3 ⁴⁾	1/ 26,500 ⁶⁾	25	1/ 29,700	423	1/ 25,700 ⁹⁾
脂肪酸代謝異常症	0	—	4 ⁵⁾	1/ 19,900 ⁶⁾	18	1/ 41,200	285	1/ 38,000 ⁹⁾
ガラクトース血症	0	—	3	1/ 159,000	30	1/ 24,700	1,462	1/ 37,100
先天性甲状腺機能低下症	7	1/ 800	243	1/ 1,800 ⁷⁾	507	1/ 1,500	20,533	1/ 2,500 ¹⁰⁾
先天性副腎過形成症	0	—	20	1/ 16,700 ⁸⁾	67	1/ 11,100	2,355	1/ 16,200 ¹¹⁾

1) シトルリン血症Ⅰ型、アルギノコハク酸尿症
2) 患者内訳：フェニルケトン尿症 6人、メープルシロップ尿症 1人
3) 患者内訳：シトルリン血症Ⅰ型 1人
4) 患者内訳：プロピオン酸血症 3人
5) 患者内訳：極長鎖アシルCoA脱水素酵素欠損症 4人
6) 2013年度（2014年3月）～2024年度 タンデムマス法受検者数 79,498人
7) 1980年度～2024年度 受検者数 448,536人
8) 1989年度～2024年度 受検者数 333,101人
9) 2011年度～2023年度 タンデムマス法受検者数 10,852,062人
10) 1979年度～2023年度 受検者数 50,947,470人
11) 1988年度～2023年度 受検者数 38,205,870人

表 7. 要精密検査者の検査状況と結果(1)

疑病名	症 例	患 者	性 別	日 齢	検査成績	診断名
アミノ酸・有機酸・脂肪酸代謝異常症	1	○	男	4	Phe 631.2 nmol/mL	古典型フェニルケトン尿症
	2		男	3	C14:1 0.4 nmol/mL C14:1/ C2 0.0165	異常なし
ガラクトース血症	1		女	4	Gal 3.19 mg/dL Gal-1-P 2.09 mg/dL ポイトラー法 正常	門脈体循環シャントによる二次の高ガラクトース血症疑い
				11	Gal 10.37 mg/dL Gal-1-P 3.59 mg/dL ポイトラー法 正常	
	2		男	5	Gal 4.39 mg/dL Gal-1-P 5.47 mg/dL ポイトラー法 正常	門脈体循環シャントによる二次の高ガラクトース血症疑い
				16	Gal 8.14 mg/dL Gal-1-P 4.28 mg/dL ポイトラー法 正常	
先天性甲状腺機能低下症	1		男	4	TSH 10.52 μ U/mL	先天性甲状腺機能低下症疑い
				9	TSH 8.68 μ U/mL	
	2		男	4	TSH 11.53 μ U/mL	異常なし
				7	TSH 13.12 μ U/mL	
	3		女	4	TSH 8.71 μ U/mL	先天性甲状腺機能低下症疑い
				9	TSH 8.97 μ U/mL	
	4		男	4	TSH 22.56 μ U/mL	異常なし
				9	TSH 19.56 μ U/mL	
	5	○	女	4	TSH 183.68 μ U/mL	先天性甲状腺機能低下症
	6	○	女	4	TSH 9.30 μ U/mL	先天性甲状腺機能低下症
				13	TSH 21.76 μ U/mL	
	7		女	4	TSH 15.55 μ U/mL	異常なし
				12	TSH 11.54 μ U/mL	
	8	○	男	4	TSH 280 μ U/mL以上	先天性甲状腺機能低下症
	9		男	4	TSH 10.84 μ U/mL	一過性甲状腺機能低下症疑い
				9	TSH 8.61 μ U/mL	
	10		女	4	TSH 8.71 μ U/mL	一過性甲状腺機能低下症疑い
				12	TSH 8.63 μ U/mL	
	11	○	女	4	TSH 9.24 μ U/mL	先天性甲状腺機能低下症
				10	TSH 15.18 μ U/mL	
	12		男	4	TSH 9.47 μ U/mL	異常なし
				10	TSH 9.50 μ U/mL	
	13		男	4	TSH 12.65 μ U/mL	異常なし
				8	TSH 11.71 μ U/mL	
	14		男	4	TSH 11.17 μ U/mL	一過性甲状腺機能低下症疑い
				8	TSH 14.47 μ U/mL	
	15	○	男	4	TSH 13.34 μ U/mL	先天性甲状腺機能低下症
				14	TSH 13.81 μ U/mL	

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	16	○	男	4	TSH	14.03 μ U/mL	先天性甲状腺機能低下症
				11	TSH	25.17 μ U/mL	
	17		女	4	TSH	12.10 μ U/mL	一過性甲状腺機能低下症疑い
				9	TSH	10.47 μ U/mL	
	18	○	男	4	TSH	3.07 μ U/mL	先天性甲状腺機能低下症
					17-OHP 直接法 抽出法	9.03 ng/mL 7.32 ng/mL	
				22	TSH	10.70 μ U/mL	
					17-OHP 直接法 抽出法	4.53 ng/mL 4.02 ng/mL	
				28	TSH	21.40 μ U/mL	
					17-OHP 直接法 抽出法	3.07 ng/mL 1.94 ng/mL	
	19		女	4	TSH	8.52 μ U/mL	一過性甲状腺機能低下症
				8	TSH	15.05 μ U/mL	
	20		男	4	TSH	8.62 μ U/mL	一過性甲状腺機能低下症疑い
				11	TSH	8.37 μ U/mL	
	21		女	4	TSH	9.28 μ U/mL	異常なし
				13	TSH	10.42 μ U/mL	
	22		男	4	TSH	9.34 μ U/mL	先天性甲状腺機能低下症疑い
				11	TSH	8.44 μ U/mL	
				21	TSH	12.27 μ U/mL	
	23		女	5	TSH	8.85 μ U/mL	異常なし
				10	TSH	9.58 μ U/mL	
	24		女	4	TSH	9.18 μ U/mL	経過観察中
				14	TSH	8.82 μ U/mL	
先天性副腎過形成症	1		男	4	17-OHP 直接法 抽出法	4.24 ng/mL 4.23 ng/mL	異常なし
				11	17-OHP 直接法 抽出法	5.87 ng/mL 4.05 ng/mL	出生体重 2,952 g
	2		男	6	17-OHP 直接法 抽出法	22.26 ng/mL 17.93 ng/mL	異常なし
				31	17-OHP 直接法 抽出法	30.72 ng/mL 28.72 ng/mL	出生体重 1,782 g
	3		男	4	17-OHP 直接法 抽出法	15.04 ng/mL 3.89 ng/mL	異常なし
				7	17-OHP 直接法 抽出法	12.10 ng/mL 4.28 ng/mL	出生体重 2,414 g
	4		男	5	17-OHP 直接法 抽出法	4.97 ng/mL 4.15 ng/mL	高17-OHP血症疑い
				15	17-OHP 直接法 抽出法	7.68 ng/mL 5.83 ng/mL	出生体重 2,455 g
	5		男	4	17-OHP 直接法 抽出法	7.24 ng/mL 4.25 ng/mL	異常なし
				7	17-OHP 直接法 抽出法	9.22 ng/mL 6.83 ng/mL	出生体重 3,210 g

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 [3] 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。なお、精密検査結果報告書は、診断や治療方針がつき次第、また経過を診ている場合は概ね半年くらいを目途に精密検査実施医療機関から当所に送付することになっている。今年度は要精密検査者すべての例について精密検査結果報告書が届き、回収率は100%であった。

なお、2024年度に当所に届いたフォローアップ検体 [17] は、34人分で延べ70件であった。そのうち、今年度に要精密検査となった例については、18人分延べ43件のフォローアップ検査を行った。

表7の診断名等の欄には、精密検査結果報告書に記載されていた診断名を記した。

要精密検査者の主な症例について経過を報告する。

(1) 代謝異常症

アミノ酸代謝異常症の疑いで1人、脂肪酸代謝異常症の疑いで1人の計2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1は、フェニルケトン尿症患者の同胞例である。日齢4で採血された初回検体での検査の結果で異常高値であり、古典型フェニルケトン尿症と診断された。

症例2は、代謝性アシドーシス、高乳酸血症等の症状があったため日齢3で緊急検査となった例であり、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。血清アシルカルニチン分析の結果では異常を認めず正常と診断された。

ガラクトース血症欄の症例1と症例2は、いずれもガラクトースが高値で要精密検査となったが、両症例とも門脈体循環シャントによる二次的高ガラクトース血症の疑いで治療なしで経過観察中である。

(2) 先天性甲状腺機能低下症

要精密検査となった24人のうち、患者と診断されたのは症例5、6、8、11、15、16、18の7人であった。このうち症例5および症例8は、初回検査で異常高値（スケールオーバー）であり即精密検査となった例である。また、症例18は、初

回検査ではTSHは正常値であったが17-OHPがカットオフ値以上であったため再採血となった例である。再採血時（日齢22）には17-OHP値は低下したがまだカットオフ値以上であり、さらにTSH値が高くなっていたことから、3回目の採血となった。日齢28の3回目採血時にさらにTSHが高値となっており、精密検査の結果患者と診断された。

また、TSH 8～9 $\mu\text{U/mL}$ で比較的低値またはカットオフ値（8 $\mu\text{U/mL}$ ）前後でばらついた例が要精密検査となったケースが13例あった。これらのうち2例（症例6および11）が患者と診断され、8例は疾患疑いで治療なしでフォローされている。

(3) 先天性副腎過形成症

要精密検査となった5人のうち、出生時体重が2,000 g未満の低出生体重児は1例であった。

2024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が、今年度はそのような患者はいなかった。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19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、シトリン欠損症2人である。

3. 精度管理

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

2014年度より、精度試験 (Quality Control :QC) 用検体と技能試験 (Proficiency Test : PT) 用検体の2種類による精度管理 [18] 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」 [19] 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。

2024年度は、PT検体による精度管理が3回（5月、7月、1月）、QC検体による精度管理が1回（10月）実施された。外部精度管理の結果については、検査精度は適正であり、正常・異常の判定も適切で、記入の誤りもなかったとの評価であった。また、QC検体の測定精度にも問題はないと判定された。

考察：今年度は、スクリーニング検査で発見された患者の同胞例が患者と診断された。この例は、フォローアップ検体 [17] として当所に届いている県外で発見された患者の同胞例であり、ハイリスク例として早期に検査を行うことで、早期に医療介入することができた。

また、患者発見率が高い先天性甲状腺機能低下症については、精密検査結果報告の時点では、まだ疾患疑いとして経過を診ている例が多く、今後患者数はさらに増える可能性がある。新生児期に全く症状がないサブクリニカル先天性甲状腺機能低下症 [20] は、乳児期以降に甲状腺機能低下が顕在化することがあり、3か月程度は慎重に経過を診ることとされている。また、甲状腺機能の再評価や病型診断は3歳以降で行うことが推奨 [20] されていることから、要精密検査となった例については、あらためて追跡調査が必要と考えられた。

新生児マススクリーニングの目的は、異常を早期に発見し、その後の治療・生活指導等につなげるにより生涯にわたって障害などの発生を予防すること [21] である。そこで、より多くの患者を早期に発見し、確実にその後のフォローアップにつなげるため、検査対象疾患の拡大についての検討が進められてきた。本県でも富山大学を中心に検討が行われ、2024年4月から費用は保護者負担で新規の拡大スクリーニングを開始した。検査は外部検査機関に委託している。さらに、これらの新たな対象疾患の公費化の実現に向けた国の実証事業も開始され、重症複合免疫不全症と脊髄性筋萎縮症の2疾患については検査費用が国と自治体が負担することになった。富山県も2024年11月からこの実証事業に参画し、新たな対象疾患の検査費用は一部公費負担となった。

新生児マススクリーニングは、このような対象疾患の拡大や検査体制の充実により、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. 富山県先天性代謝異常等検査事業マニュアル

（第5版）<https://www.pref.toyama.jp/120101/kurashi/kenkou/kenkou/sententaisya/kj00018894.html>

（2025年5月20日時点アクセス可能）

4. 九曜雅子, 米田 豊, 高森亮輔, 他. (2014). 富山衛研年報, 37, 25-37
5. 重松陽介, 畑 郁江, 稲岡一考. (2011). 日本マス・スクリーニング学会誌, 21 (3), 13-18
6. 藤本昭栄, 大浦敏明, 長谷 豊. (1991). 日本マス・スクリーニング学会誌, 1(1), 211-212
7. 九曜雅子, 米田 豊, 加藤丈士, 他. (2005). 富山衛研年報, 28, 23-32
8. 美澄博雄, 高坂陸年, 和田 洋, 他. (1980). 代謝異常スクリーニング研究会会報, 5, 46-47
9. 間下充子, 渡辺和宏, 世良保美, 他. (2014). 日本マス・スクリーニング学会誌, 24 (2), 70
10. 九曜雅子, 米田 豊, 前多隆志, 他. (2010). 富山衛研年報, 33, 27-39
11. とやま統計ワールド「富山県の人口と世帯」, https://www.pref.toyama.jp/sections/1015/lib/jinko/_news/jinko250401/jinko250401.pdf (2025年5月20日時点アクセス可能)
12. 山口清次. (2012). 新しい新生児マススクリーニング タンデムマス Q & A 2012, 厚生労働科学研究（成育疾患克服等次世代育成基盤研究事業）p14
13. 市原 侃, 鈴木 健, 青木菊麿. (1998). 日本マス・スクリーニング学会誌, 8 (Supplement 2), 73-81
14. 石川貴雄, 手塚美智子, 吉永美和, 他. (2020). 日本マススクリーニング学会誌, 30 (3), 31-43
15. 猪股弘明, 楠田 聡, 大関武彦, 他. (2006). 日本マス・スクリーニング学会誌, 16 (3), 6-7
16. 先天性代謝異常検査等検査状況（令和5年度）こども家庭庁成育局母子保健課. 事務連絡（令和7年2月14日）
17. 九曜雅子, 米田 豊, 五十嵐 登, 他. (2009). 日本マス・スクリーニング学会誌, 19 (3), 53-62
18. 九曜雅子, 米田 豊, 西永真理, 他. (2015). 富山衛研年報, 38, 25-36

19. 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
 20. 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 年改訂版)
 21. 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)
- https://www.jsms.gr.jp/download/CH_Guideline_2021_revised_%2010-27.pdf
(2025 年 5 月 20 日時点アクセス可能)

ポリオ流行予測調査(2024年度)

板持 雅恵	佐賀由美子	矢澤 俊輔	吉田 琴羽
谷口 咲羅	鳶田 嵩久	福山 圭	高林小百合 ¹
吉浦 祐舞 ²	鍋嶋 郁弥 ³	川上 利恵 ⁴	橋本 尚人 ⁵
	扇 のぞみ ⁶	谷 英樹	

Epidemiological Surveillance of Poliovirus in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2024

Masae ITAMOCHI, Yumiko SAGA, Shunsuke YAZAWA, Kotoha YOSHIDA,
Sara TANIGUCHI, Takahisa SHIMADA, Kei FUKUYAMA,
Sayuri TAKABAYASHI, Yui YOSHIURA, Ikumi NABESHIMA, Rie KAWAKAMI,
Naoto HASHIMOTO, Nozomi OGI, 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の麻痺症例数は、当初125か国で35万例と推計されていたが、2023年には2か国（アフガニスタン、パキスタン）からの11例の報告となり、99%以下まで減少した[1]。2型野生株は1999年以降、3型野生株は2012年11月以降報告されていない。世界ポリオ根絶認定委員会は、2015年9月、2型野生株の根絶を宣言した。

一方、ワクチン株が変異し、地域伝播することにより複数の患者に麻痺を発症させる伝播型ワクチン由来ポリオウイルス（cVDPV）による症例は2023年にはアフリカ地域や中東地域、東南アジア地域の19か国で報告されている[1]。このような流行地からの野生株やcVDPVの侵入を阻止するためには、ポリオウイルスに対する高い集団免疫と、高感度のサーベイランスを維持していくことが重要であると考えられる。一方、国内では生ワクチン関連麻痺を防ぐために、2012年9月からポリオワクチンは不活化ワクチンに変更された。不活化ワクチンへの移行により集団免疫保有状況がどのように変化したかを評価することは重要である。

富山県におけるポリオ流行予測調査は、国内のポリオウイルスの動向を監視するために、厚生労働省感染症流行予測事業の一つとして毎年実施されている。2024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あわせて報告する。

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：2024年4月から2025年3月まで、富山県内の1下水処理場（分流式）において、月1回下水流入水を約2L採取した。下水流入水は4℃で3,000 rpm、30分間遠心し上清を回収後、「フィルター吸着溶出法」[2, 3]により濃縮した。すなわち、下水流入水遠心上清1Lに、最終濃度0.05 Mとなるように塩化マグネシウムを添加し、0.5 Nの塩酸を用いてpH 3.5に調整した。この液を陰電荷膜に加圧濾過して吸着させた後、陰電荷膜を細切し、3% Beef Extract 溶液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、4℃で10,000 rpm、30分間遠心した。遠心上清を回収し、ボアサイズ0.45

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. 富山県厚生部感染症・疾病対策課

表 1. 下水流入水からのウイルス分離株数

分離ウイルス		2024 年								2025 年					計
		4 月	5 月	6 月	7 月	8 月	9 月	10 月	11 月	12 月	1 月	2 月	3 月		
ポリオ	1 型														
	2 型														
	3 型														
コクサッキーB	2 型							1						1	
	3 型								7	4	5			16	
	5 型			16		4	2			1				23	
エコー	11 型		4			3	6	7	9	10	4			43	
アデノ	1 型	1				1								2	
	2 型				3									3	
レオ	1 型	2	3			1		5	4		2	3		20	
計		3	7	16	3	9	8	13	20	15	11	3	0		

μm 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, LLCMK2, RD-A, HEp-2, L20B, VeroE6/TMPRSS2）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 μL/ 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）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、コクサッキーウイルス B2 型、B3 型、B5 型、エコーウイルス 11 型、アデノウイルス 1 型、2 型、およびレオウイルス 1 型が分離された。富山県内の感染症発生動向調査では、急性弛緩性麻痺患者は報告されなかった [4]。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 [5-7]。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、および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：2024 年5 月から10 月にかけて、県内住民0～93 歳の合計247 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」[8] 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 [9] 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℃ 30 分間非働化した後、その25 μL を96 穴マイクロプレート上で2 段階希釈した。希釈血清それぞれに、100 TCID₅₀/25 μL 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 μL を加えてよく混和し、35℃、3 時間の中和反応を行った。中和後、Vero 細胞浮遊液（1～2×10⁵ 細胞/mL）を100 μL ずつ加え、35℃、5%二酸化炭素の条件下で培養した。細胞変性効果を1 週間観察し、ウイルス増殖を抑制した最大血清希釈倍数を中和抗体価とした。各検体は同時に2 穴ずつ測定した。ポリオウイルスは、国立感染症研究所から分与され、当研究所においてVeroE6 細胞で1 代継代後、さらにVero 細胞で1 代継代したものを使用した。統計解析は、SPSS Statistics 27.0 (IBM) を用いた。

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													
年齢区分 検体数		各中和抗体価の保有者数										抗体価4倍以上	
(歳)	(人)	<4	4	8	16	32	64	128	256	≥512	保有者数	保有率(%)	平均抗体価
0～1	19	0	1	0	4	3	1	5	1	4	19	(100)	74.1
2～3	16	0	0	2	0	3	4	1	2	4	16	(100)	90.5
4～9	23	1	1	1	6	4	1	6	2	1	22	(95.7)	46.7
10～14	24	0	1	4	1	3	3	5	4	3	24	(100)	65.9
15～19	13	0	1	1	1	3	2	2	1	2	13	(100)	57.5
20～24	23	1	1	1	2	3	2	8	4	1	22	(95.7)	74.9
25～29	23	1	0	0	4	3	4	6	3	2	22	(95.7)	79.8
30～39	34	2	2	1	2	2	5	12	5	3	32	(94.1)	86.7
40～49	23	5	2	2	2	5	2	2	3	0	18	(78.3)	35.9
50～59	24	4	1	1	0	10	1	4	2	1	20	(83.3)	52.0
60～	25	1	2	2	4	5	5	1	2	3	24	(96.0)	44.0
合計	247	15	12	15	26	44	30	52	29	24	232	(93.9)	62.7
(%)		(6.1)	(4.9)	(6.1)	(10.5)	(17.8)	(12.1)	(21.1)	(11.7)	(9.7)	(93.9)		

2型													
年齢区分 検体数		各中和抗体価の保有者数										抗体価4倍以上	
(歳)	(人)	<4	4	8	16	32	64	128	256	≥512	保有者数	保有率(%)	平均抗体価
0～1	19	0	0	0	0	1	4	3	5	6	19	(100)	191.2
2～3	16	0	0	0	0	0	0	2	3	11	16	(100)	378.1
4～9	23	0	0	0	0	2	0	8	7	6	23	(100)	201.2
10～14	24	0	0	0	0	5	4	7	3	5	24	(100)	124.4
15～19	13	0	0	2	0	4	0	2	1	4	13	(100)	88.1
20～24	23	0	0	3	2	5	5	4	2	2	23	(100)	56.7
25～29	23	0	0	5	2	6	6	2	1	1	23	(100)	37.2
30～39	34	0	1	3	4	10	10	5	0	1	34	(100)	40.0
40～49	23	0	0	0	3	3	3	9	4	1	23	(100)	89.2
50～59	24	1	0	0	2	5	2	2	5	7	23	(95.8)	131.9
60～	25	1	2	2	4	4	4	4	2	2	24	(100)	45.3
合計	247	2	3	15	17	45	38	48	33	46	245	(99.2)	88.9
(%)		(0.8)	(1.2)	(6.1)	(6.9)	(18.2)	(15.4)	(19.4)	(13.4)	(18.6)	(99.2)		

3型													
年齢区分 検体数		各中和抗体価の保有者数										抗体価4倍以上	
(歳)	(人)	<4	4	8	16	32	64	128	256	≥512	保有者数	保有率(%)	平均抗体価
0～1	19	0	0	0	2	0	3	4	3	7	19	(100)	171.4
2～3	16	0	0	0	1	3	2	0	2	8	16	(100)	173.3
4～9	23	1	0	1	2	1	4	3	6	5	22	(95.7)	128.0
10～14	24	3	2	1	4	4	5	3	0	2	21	(87.5)	40.3
15～19	13	7	1	2	2	1	0	0	0	0	6	(46.2)	11.3
20～24	23	5	2	2	4	5	1	3	1	0	18	(78.3)	27.4
25～29	23	10	4	1	5	1	1	1	0	0	13	(56.5)	13.6
30～39	34	10	4	4	7	3	5	1	0	0	24	(70.6)	18.0
40～49	23	1	6	3	5	5	1	2	0	0	22	(95.7)	15.0
50～59	24	5	3	3	2	5	2	2	0	2	19	(79.2)	28.7
60～	25	2	1	3	4	5	5	3	0	2	23	(92.0)	38.3
合計	247	44	23	20	38	33	29	22	12	26	203	(82.2)	40.1
(%)		(17.8)	(9.3)	(8.1)	(15.4)	(13.4)	(11.7)	(8.9)	(4.9)	(10.5)	(82.2)		

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												接種歴不明	
年齢区分 (歳)	検体数 (人)	生2回以上		生1回		不活化4回以上		不活化3回		不活化2回		回数不明			
		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(%)
0～1	19					4 / 4	(100)	14 / 14	(100)	1 / 1	(100)				
2～3	16					11 / 11	(100)	3 / 3	(100)			2 / 2	(100)		
4～9	23					20 / 21	95.238					1 / 1	(100)	1 / 1 (100)	
10～14	24	10 / 10	(100)			13 / 13	(100)					1 / 1	(100)		
15～19	13	13 / 13	(100)												
20～24	23	8 / 9	(88.9)											14 / 14 (100)	
25～29	23	2 / 2	(100)											20 / 21 (95.2)	
30～39	34													32 / 34 (94.1)	
40～49	23													18 / 23 (78.3)	
50～59	24				1 / 1 (100)									19 / 23 (82.6)	
60～	25	1 / 1 (100)												23 / 24 (95.8)	
合計	247	34 / 35 (97.1)		1 / 1 (100)		48 / 49 (98.0)		17 / 17 (100)		1 / 1 (100)		4 / 4 (100)		127 / 140 (90.7)	
						105 / 107 (98.1)									

2型		ワクチン接種歴あり												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4回以上		不活化3回		不活化2回		回数不明			
		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(%)
0～1	19					4 / 4 (100)		14 / 14 (100)		1 / 1 (100)					
2～3	16					11 / 11 (100)		3 / 3 (100)				2 / 2 (100)			
4～9	23					21 / 21 (100)						1 / 1 (100)		1 / 1 (100)	
10～14	24	10 / 10 (100)				13 / 13 (100)						1 / 1 (100)			
15～19	13	13 / 13 (100)													
20～24	23	9 / 9 (100)												14 / 14 (100)	
25～29	23	2 / 2 (100)												21 / 21 (100)	
30～39	34													34 / 34 (100)	
40～49	23													23 / 23 (100)	
50～59	24				1 / 1 (100)									22 / 23 (95.7)	
60～	25	1 / 1 (100)												23 / 24 (95.8)	
合計	247	35 / 35 (100)		1 / 1 (100)		49 / 49 (100)		17 / 17 (100)		1 / 1 (100)		4 / 4 (100)		138 / 140 (98.6)	
						107 / 107 (100)									

3型		ワクチン接種歴あり												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4回以上		不活化3回		不活化2回		回数不明			
		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(%)
0～1	19					4 / 4 (100)		14 / 14 (100)		1 / 1 (100)					
2～3	16					11 / 11 (100)		3 / 3 (100)				2 / 2 (100)			
4～9	23					20 / 21 (95.2)						1 / 1 (100)		1 / 1 (100)	
10～14	24	7 / 10 (70.0)				13 / 13 (100)						1 / 1 (100)			
15～19	13	6 / 13 (46.2)													
20～24	23	7 / 9 (77.8)												11 / 14 (78.6)	
25～29	23	1 / 2 (50.0)												12 / 21 (57.1)	
30～39	34													24 / 34 (70.6)	
40～49	23													22 / 23 (95.7)	
50～59	24				1 / 1 (100)									18 / 23 (78.3)	
60～	25	1 / 1 (100)												22 / 24 (91.7)	
合計	247	22 / 35 (62.9)		1 / 1 (100)		48 / 49 (98.0)		17 / 17 (100)		1 / 1 (100)		4 / 4 (100)		110 / 140 (78.6)	
						93 / 107 (86.9)									

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99.2% (245/247) で最も高く、次いで1型が93.9% (232/247)、3型が82.2% (203/247) 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78.3%、50～59歳が83.3%、それ以外の年齢区分は90%以上の抗体保有率であった。2型ではすべての年齢区分で95%以上の抗体保有率であった。

一方、3型は15～19歳が46.2%、25～29歳が56.5%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 [6]。

一方、抗体保有者の幾何平均抗体価は、全体では1型62.7倍、2型88.9倍、3型40.1倍であった。年齢区分別では、1型では40～49歳の35.9倍から2～3歳の90.5倍までを示した。2型では25～29歳の37.2倍から2～3歳の378.1倍までを示した。3型では15～19歳の11.3倍から2～3歳の

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						1,2,3型(%)
			1型	2型	3型	1,2型	2,3型	1,3型	
0～1	19								19 (100)
2～3	16								16 (100)
4～9	23					1	1		21 (91.3)
10～14	24					3			21 (87.5)
15～19	13					7			6 (46.2)
20～24	23			1		4			18 (78.3)
25～29	23			1		9			13 (56.5)
30～39	34			1		9	1		23 (67.6)
40～49	23			1			4		18 (78.3)
50～59	24	1		2		2	1		18 (75.0)
60～	25					2	1	1	21 (84.0)
合計 (%)	247 (100)	1 (0.4)	0 (0)	6 (2.4)	0 (0)	37 (15.0)	8 (3.2)	1 (0.4)	194 (78.5)

173.3 倍までを示した。

表 3 にワクチン接種回数別にみた抗体保有状況を示した。不活化ワクチン 4 回以上接種者における抗体保有率は、1 型 98.0% (48/49)、2 型 100% (49/49)、3 型 98.0% (48/49) であった。一方、生ワクチン 2 回以上接種者では、1 型 97.1% (34/35)、2 型 100% (35/35) と高い抗体保有率を示したが、3 型は 62.9% (22/35) と低値を示した。

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 78.5% (194/247) であった。年齢区分別では、0～3 歳が 100% と高かった。15～19 歳が 46.2%、25～29 歳が 56.5% と比較的低い値を示したが、これらは、3 型に対する低い中和抗体保有率を反映しているものと考えられた。

わが国では、ポリオワクチンは 1961 年に乳幼児を対象に一斉に生ワクチンの接種が開始され、1963 年からは 2 回接種が定期的に行われてきた [10]。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 [6]。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 [11]。

生ワクチンから不活化ワクチンへの移行が集団免疫へ及ぼした影響をみるために、移行前後の年 (2011～2024 年) における小児 (0～12 歳) のワクチン接種歴および抗体保有状況 [12] を比較し

た (図 1)。検体数は、計 1,090 件であり、このうち、生ワクチン 2 回以上接種者は 397 名 (36.4%)、不活化ワクチン 4 回以上接種者は 337 名 (30.9%) であった。不活化ワクチン移行前の 2011 年では、未接種者以外のすべてが生ワクチンを接種していた。不活化ワクチン移行後は、低年齢層から不活化ワクチンの接種にかわり、2024 年では 0～12 歳のすべてが不活化ワクチンを接種していた。生ワクチンから不活化ワクチンへの切り替えにより、特に 3 型の抗体保有率がほぼ 100% と高くなり改善した。

図 2 に、不活化ワクチン 4 回以上接種者における中和抗体価を、最終接種日からの経過月数別に示した。不活化ワクチン 4 回以上接種者では、1 型、2 型、3 型ともに、経過月数が増えるごとに中和抗体価が低くなる傾向がみられた (Spearman の相関係数、1 型 $r=-0.500$ 、2 型 $r=-0.503$ 、3 型 $r=-0.547$ 、すべて $p<0.001$)。

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 [13, 14]。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 [15-18]。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。

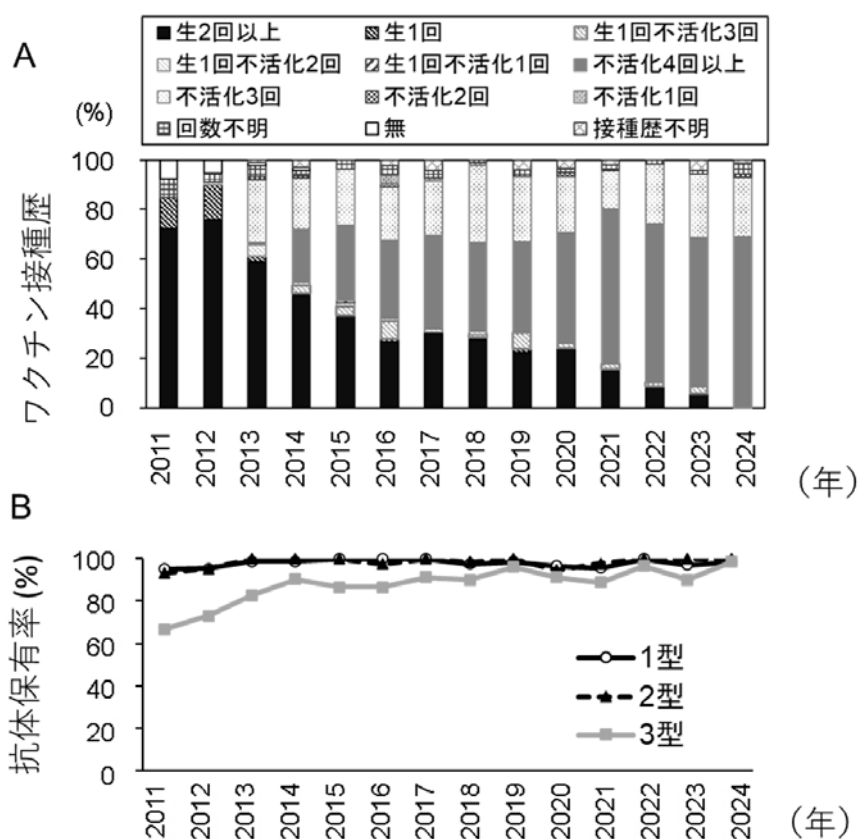


図 1. 0 ～ 12 歳の小児におけるポリオワクチン接種歴と抗体保有状況 (2011 ～ 2024 年) .

A: ワクチン接種歴, B: 抗体保有率

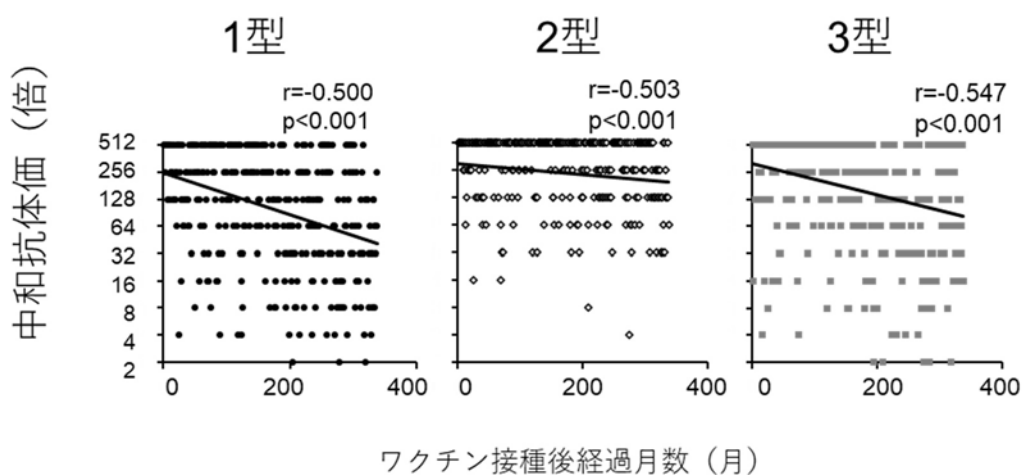


図 2. 不活化ワクチン 4 回以上接種後の経過期間別の中和抗体価 .

図中の●, ◇, ■は各被験者の検体を, 線は回帰曲線を示す.

* 抗体価 512 倍以上を 512 倍とし, 4 倍未満を 2 倍とした.

Spearman の相関係数, 1 型 $n = 337$, 2 型 $n = 322$, 3 型 $n = 337$.

本調査では、県内においてポリオウイルスに対する高い抗体保有率が維持されていた。しかしながら、世界で野生株の伝播が止まり、生ワクチンが使用されなくなるまでは、ウイルスの侵入や地域伝播を防ぐために、今後も高い集団免疫を保ち、適切な調査体制を維持していくことが重要である。

まとめ

感染源調査：2024年4月～2025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：2024年5月から10月に採取された0歳から93歳までの247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93.9%、2型99.2%、3型82.2%であった。また、抗体保有者の幾何平均抗体価は1型62.7倍、2型88.9倍、3型40.1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 (2024). Weekly epidemiological record, 99, 168-178
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. 富山県感染症情報センター, 感染症発生動向調査報告数一覧. 2024. <https://www.pref.toyama.jp/1279/kansen/index.html> (2025年5月30日アクセス可能)
5. 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
6. 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
7. 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
8. 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所流行予測調査事業委員会 (2019). 感染症流行予測調査事業検査術式, 4-21
9. 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
10. 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
11. 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
12. 板持雅恵, 佐賀由美子, 矢澤俊輔, 他. (2024). 富山県衛生研究所年報 (令和4年度), 47, 47-53
13. Maladonado YA, Pema-Cruz V, Sanchez M et al. (1997). J Infect Dis, 175, 545-553
14. 土居穰, 鎗水宏, 山本浩, 他. (1993). 臨床とウイルス, 21, 123-131
15. Modlin JF, Halsey NA, Thoms ML (1997). J Infect Dis, 175, S228-234
16. 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
17. 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
18. Satoh H, Tanaka-Taya K, Shimizu H, et al. (2019). Vaccine, 37, 1964-1971

新型コロナウイルス感染症流行予測調査における感受性調査(2024年度)

佐賀由美子 吉田 琴羽 谷口 咲羅 板持 雅恵
 矢澤 俊輔 高田 嵩久 福山 圭 高林小百合¹
 吉浦 祐舞² 鍋島 郁弥³ 川上 利恵⁴ 橋本 尚人⁵
 扇 のぞみ⁶ 谷 英樹

Serological Investigation of COVID-19 in Toyama Prefecture
in the Fiscal Year 2024

Yumiko SAGA, Kotoha YOSHIDA, Sara TANIGUCHI, Masae ITAMOCHI,
 Shunsuke YAZAWA, Takahisa SHIMADA, Kei FUKUYAMA, Sayuri TAKABAYASHI,
 Yui YOSHIURA, Ikumi NABESHIMA, Rie KAWAKAMI, Naoto HASHIMOTO,
 Nozomi OGI, and Hideki TANI

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

調査および検査方法：2024年5月から9月に、県内住民0～93歳の合計247名について採血と予防接種歴、罹患歴の調査を行った。

中和抗体価の測定は、「感染症流行予測調査事業検査術式」[1] に準じて行った。被験血清をDMEM培養液で2.5倍希釈し、56℃ 30分間非働化した後、その50 μLを96穴マイクロプレート上で2段階希釈した。希釈血清それぞれに、100 TCID₅₀/50 μLとなるように調製したSARS-CoV-2 Omicron株（XBB.1.5系統）50 μLを加えてよく混和し、37℃、1時間の中和反応を行った。中和後、VeroE6/TMPRSS2細胞浮遊液（1×10⁵細胞/mL）を100 μLずつ加え、37℃、5% CO₂の条件下で5～6日間培養した。細胞を固定後、クリスタルバイオレットで染色・観察し、ウイルス増殖を抑制した最大血清希釈倍数を中和抗体価とした。各検体は同時に2穴ずつ測定した。SARS-CoV-2は、国立感染症研究所から分与され、当所においてVeroE6/TMPRSS2細胞で2代継代したものを使用した。

結果および考察：SARS-CoV-2に対する抗体保有率は81%（201 / 247）であり、2023年度[2]の

85%（205 / 241）から減少した。図1に年齢群別および抗体価別の抗体保有率を示した。抗体陽性とされる抗体価5倍以上の抗体保有率を年齢群別に見ると、5歳以上では78%以上と高く、0～4歳では63%と比較的高かった（図1、表1）。一方で、抗体価160倍以上の抗体保有率は、どの年齢群においても低く、抗体価5倍以上の抗体保有率との差が大きく隔たっていた（図1）。対照的に、2023年度調査では抗体価のバラつきは比較的小さかった[2]。この違いは、2024年度より測定に使用するSARS-CoV-2の株を祖先株からOmicron株に変更したことが大きく影響している可能性が高い。すなわち、既報[3]のとおり、祖先株のワクチン接種により得られた抗体はOmicron株に対する中和活性が低い傾向にあったと考えられた。

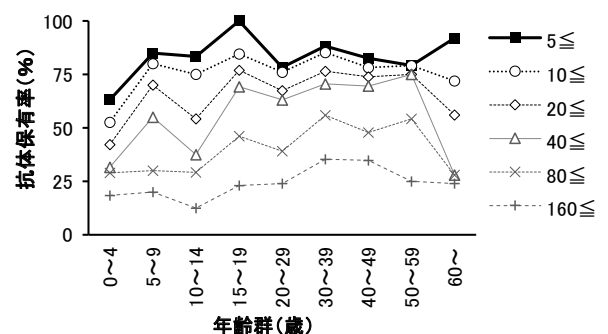


図1. 年齢群別および抗体価別のOmicron株に対する中和抗体保有率(2024年度)

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. 富山県厚生部感染症・疾病対策課

表 1. 年齢群別、ワクチン接種歴別および罹患歴別の抗体保有状況 (2024 年度)

接種歴	罹患歴	年齢群別の抗体保有者数 / 検査対象者数										抗体保有率
		0～4	5～9	10～14	15～19	20～29	30～39	40～49	50～59	60～	合計	
なし	なし	10/20	1/2	4/5	1/1	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	17/29	59%
	有	8/11	12/13	13/13	3/3	1/2	0/0	2/2	0/0	0/0	40/45	89%
	不明	2/3	4/5	1/3	0/0	1/1	0/0	0/0	0/1	0/0	8/13	62%
	小計	20/34	17/20	18/21	4/4	2/3	0/0	2/2	0/1	2/2	65/87	75%
有	なし	0/0	0/0	1/1	3/3	8/13	7/9	3/5	4/5	9/10	35/46	76%
	有	0/0	0/0	0/0	6/6	23/25	19/19	9/9	7/7	4/4	67/69	97%
	不明	0/0	0/0	0/0	0/0	1/1	3/3	1/2	4/6	3/3	12/15	80%
	小計	0/0	0/0	1/1	9/9	32/39	29/31	13/16	15/18	15/16	114/130	88%
不明	なし	0/0	0/0	0/0	0/0	0/1	0/0	1/1	0/0	0/0	1/2	50%
	有	2/2	0/0	1/1	0/0	1/1	0/0	1/2	0/0	0/0	5/6	83%
	不明	2/2	0/0	0/1	0/0	1/2	1/3	2/2	4/5	6/7	16/22	73%
	小計	4/4	0/0	1/2	0/0	2/4	1/3	4/5	4/5	6/7	22/30	73%
合計	なし	10/20	1/2	5/6	4/4	8/14	7/9	4/6	4/5	10/11	53/77	69%
	有	10/13	12/13	14/14	9/9	25/28	19/19	12/13	7/7	4/4	112/120	93%
	不明	4/5	4/5	1/4	0/0	3/4	4/6	3/4	8/12	9/10	36/50	72%
	小計	24/38	17/20	20/24	13/13	36/46	30/34	19/23	19/24	23/25	201/247	81%
抗体保有率		63%	85%	83%	100%	78%	88%	83%	79%	92%	81%	
接種率 ^{*1}		0%	0%	5%	69%	93%	100%	89%	95%	89%	60%	
罹患率 ^{*2}		39%	87%	70%	69%	67%	68%	68%	58%	27%	61%	

* 1: 接種率は接種歴不明の者を除いて算出

* 2: 罹患率は罹患歴不明の者を除いて算出

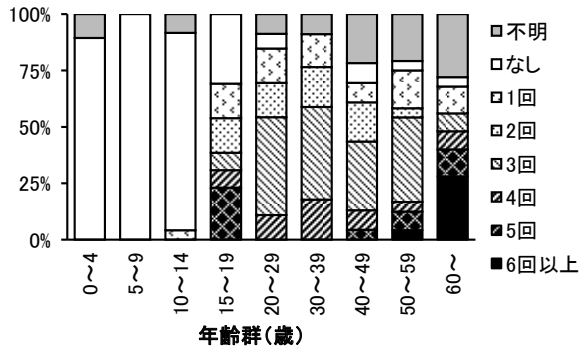


図 2. 年齢群別のワクチン接種歴 (2024 年度)

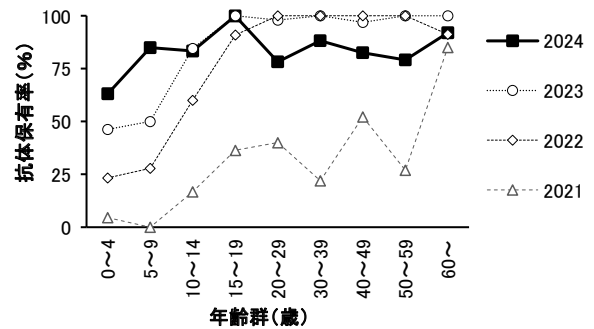


図 3. 年齢群別の中和抗体保有率 (2021～2024 年度)
* 2021～2023 年度は祖先株, 2024 年度は Omicron 株で測定

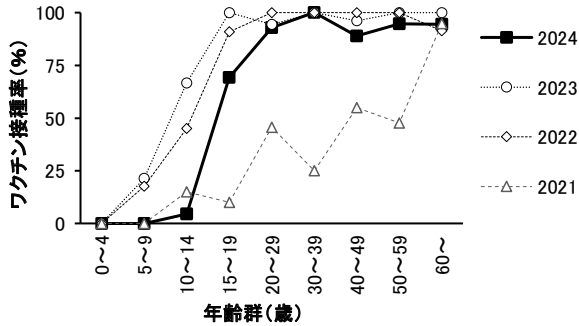


図 4. 年齢群別のワクチン接種率 (2021～2024 年度)
* 接種歴不明の者を除いて算出

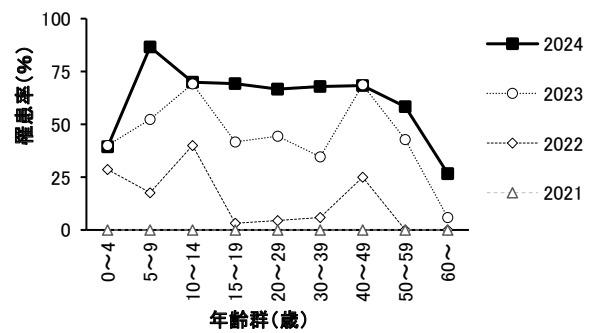


図 5. 年齢群別の罹患率 (2021～2024 年度)
* 罹患歴不明の者を除いて算出

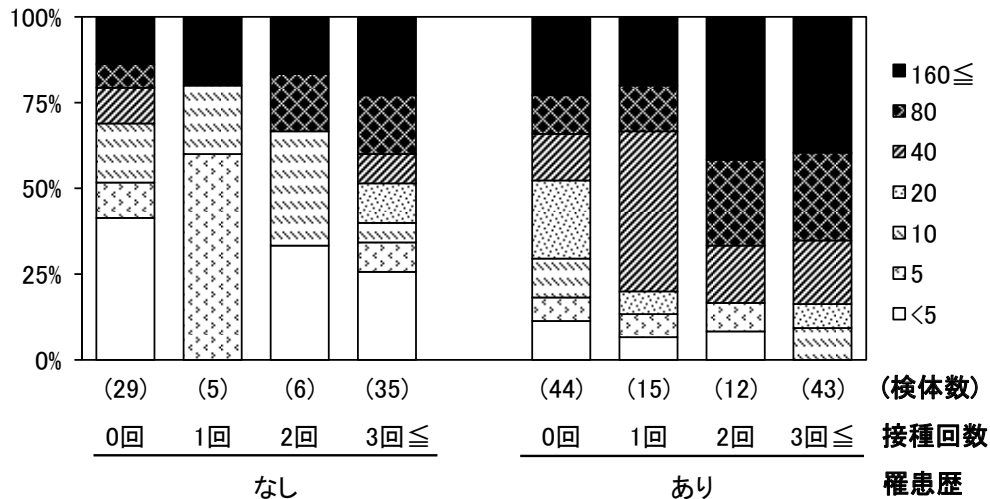


図 6. ワクチン接種歴別および罹患歴別の中和抗体価（2024 年度）

年齢群別のワクチン接種率（接種歴不明を除いて算出）は、9歳以下が0%、10～14歳が5%と低いのに対し、15～19歳では69%と比較的高く、20歳以上では89%以上と高かった（図2、表1）。ワクチンを5回以上接種している者の割合が多かったのは、15～19歳と60歳以上の年齢群であった（図2）。これらの年齢群は、抗体保有率も100%と92%と高く維持されており（図1、表1）、追加接種の重要性が示唆された。

2024年度の年齢群の抗体保有率（抗体価5倍以上）を2023年度と比較すると、10～19歳および60歳以上では同程度、9歳以下では増加、20～59歳では減少した（図3）。2024年度の接種歴の調査では、接種率（接種歴不明を除いて算出）は、19歳以下の年齢群では前年度より減少傾向で、全体としては60%（130 / 217）と、2023年度の73%（150 / 206）から減少した（図4、表1）。それに対し、2024年度の罹患率（罹患歴不明を除いて算出）は、全年齢群で前年度より増加傾向で、全体としては61%（120 / 197）と、2023年度の43%（84 / 196）から顕著に増加した（図5、表1）。したがって、今年度の9歳以下の抗体保有率が昨年度よりも上昇したのは、罹患率の上昇が影響したからであると考えられた。一方で、20～59歳の年齢群では、2023年度と比較して接種率には差がなく、罹患率は増加したにも関わらず、抗体保有率が低下していた（図3～5）。この年齢群のワクチン接種回数は2～4回が大半を占めるが（図2）、前年度調査[2]でも同様の傾向であったこ

とから、主に祖先株によるワクチン接種を受け、かつ最終接種から時間が経過している者が多いと推定された。ワクチン接種後時間が経過すると抗体価は減衰する傾向にあること、祖先株のワクチン接種で得られた抗体はOmicron株に対する中和活性が低いことが報告されている[3]。これらのことを考慮すると、20～59歳の年齢群で抗体保有率が前年度より低下したのは、ワクチン接種後の時間経過による抗体価の減衰や、測定に用いるSARS-CoV-2をOmicron株（XBB.1.5系統）に変更したこと等が影響したと考えられた。

図6に、2024年度のワクチン接種歴別および罹患歴別の抗体価を示した。「接種歴なし・罹患歴なし」の抗体保有者も59%存在し、不顕性感染により抗体を獲得した者も一定数存在すると考えられた。40倍以上の比較的高い抗体価を持つ者の割合は、「3回以上接種・罹患歴なし」では49%、「2回接種・罹患歴あり」では83%であった。一方、2023年度の調査では、40倍以上の比較的高い抗体価を持つ者の割合は、「3回以上接種」または「2回接種・罹患歴あり」の場合には98%以上であった[2]。前述のとおり、2024年度の調査対象者のうち、ワクチン接種回数が2～4回と回答した者は祖先株のワクチンを接種してから時間が経過したものが多いと推定される。これらのことから、2回接種後、追加免疫されることなく時間が経過すると抗体価は低下することが示唆された。したがって、高齢者など重症化リスクの高い者は、定期的にワクチンを接種することが

望まれる。

SARS-CoV-2 に対するワクチンは、国内では2021年2月から予防接種法の特例臨時接種として全額公費負担による接種が開始された。ただし、接種が開始された2021年は、最初は医療従事者から、次いで4月以降は重症化リスクの高い65歳以上の高齢者に対するワクチン接種を先行して行った後、順次接種対象を拡大していった。そのため、2021年の富山県の調査 [5] では、59歳以下の年齢群ではワクチン接種率が低く、15～59歳の抗体保有率も22～52%と低かった (図3, 4)。一方、2022年、2023年の調査 [2, 4] では、15歳以上の年齢群でワクチン接種率が高くなり、抗体保有率も91～100%と高かった (図3, 4)。それに対し、2024年は20～59歳の抗体保有率が78～88%と低下した。過去4年間の調査において、14歳以下の年齢群ではワクチン未接種者の割合が多いが、年々罹患率が上昇しており、それに伴い、これらの年齢群の抗体保有率は増加した (図3～5)。

なお、新型コロナワクチンの標準的な接種年齢は、接種が開始された当初は16歳以上であり、2021年8月に12歳以上、2022年5月に5歳以上、2022年10月に生後6か月以上と、順次引き下げられた [6]。

さらに、当初は、祖先株を対象としたワクチンが接種されていたが、流行株の変遷に伴い、2022年9月からOmicron株BA.1系統を、2022年10月からOmicron株BA.4/5系統を、2023年9月からOmicron株XBB.1.5系統を、2024年10月からOmicron株JN.1系統を対象としたワクチンの接種が開始された [6]。なお、本調査において中和抗体価の測定には、2021～2023年度は祖先株を用いていたが、2024年度より前年度秋の定期接種に用いられたワクチン株を用いることとなり、Omicron株に変更された (2024年度はXBB.1.5系統)。

なお、ワクチン接種可能な全年齢の接種費用を全額公費で負担する特例臨時接種は2024年3月で終了し、2024年4月以降は、改正された予防接種法で定期接種対象者が「65歳以上」および「60～64歳で重症化リスクの高い者」と定められ、接種費用も原則有料となった [7]。なお、2023年度の調査 [2] ではワクチン接種者は全員2回以上接種していたが、2024年度の調査では1回のみ接種した者が一定数みられ (図2)、これらの者は前回調査後の2023年10月から特例臨時接種の

終了する2024年3月の間にワクチン接種を受けたものと考えられた。

今後、流行株やワクチン接種状況が変化していくとともに、集団免疫の状態も変化していくことが予想される。したがって、今後も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：今回の調査では、県民の抗体保有率は81%であった。14歳以下の年齢群では、ワクチン接種率が低い傾向は昨年と同様だが、昨年の調査よりも罹患率が上昇したことを受け、9歳以下の抗体保有率は昨年度よりも上昇した。一方、ワクチン接種率が高い20～59歳の年齢群では抗体保有率が2023年度よりも低下したことが確認された。SARS-CoV-2に感染するリスクの高い抗体保有率の低い年代や重症化しやすい年代に対して、引き続き注意喚起が必要である。

謝 辞

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

文 献

1. 厚生労働省健康局結核感染症課, 国立感染症研究所流行予測調査事業委員会. 令和3年度感染症流行予測調査事業検査術式, 60-67
2. 佐賀由美子, 川上利恵, 板持雅恵, 他. (2024). 富山衛研年報, 47, 57-60
3. Itamochi M, Yazawa S, Inasaki N, et al. (2022). Vaccine, 41(13), 2234-2242
4. 佐賀由美子, 板持雅恵, 稲崎倫子, 他. (2023). 富山衛研年報, 46, 61-63
5. 佐賀由美子, 五十嵐笑子, 板持雅恵, 他. (2022). 富山衛研年報, 45, 67-69
6. 厚生労働省. 新型コロナワクチンに関する自治体向け通知・事務連絡等【令和6年3月31日まで】. https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/vaccine_notifications.html (2025年5月30日アクセス可能)
7. 厚生労働省. 新型コロナワクチンについて. https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/vaccine_00184.html (2025年5月30日アクセス可能)

日本脳炎流行予測調査における感受性調査(2024年度)

矢澤 俊輔 福山 圭 板持 雅恵 佐賀由美子
 高田 嵩久 吉田 琴羽 谷口 咲羅 高林小百合¹
 吉浦 祐舞² 鍋島 郁弥³ 川上 利恵⁴ 橋本 尚人⁵
 扇 のぞみ⁶ 谷 英樹

Serological Investigation of Japanese Encephalitis in Toyama Prefecture
in the Fiscal Year 2024

Shunsuke YAZAWA, Kei FUKUYAMA, Masae ITAMOCHI, Yumiko SAGA,
 Takahisa SHIMADA, Kotoha YOSHIDA, Sara TANIGUCHI, Sayuri TAKABAYASHI,
 Yui YOSHIURA, Ikumi NABESHIMA, Rie KAWAKAMI, Naoto HASHIMOTO,
 Nozomi OGI, 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：2024年7月から9月に、県内住民247名について採血と予防接種歴、罹患歴の調査を行った。

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

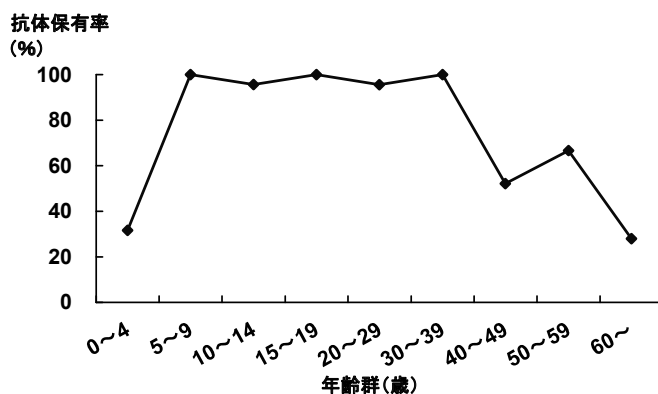


図1. 年齢群別の中和抗体保有率 (2024年度)

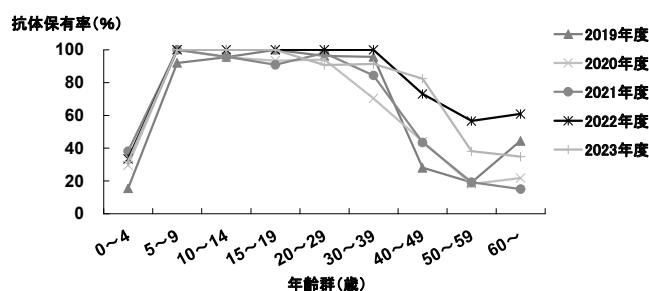


図2. 年齢群別の中和抗体保有率 (2019～2023年度)

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. 富山県厚生部感染症・疾病対策課

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	8 / 8	100%	4 / 28	14.3%	0 / 2	0%	12 / 38	31.6%
0～2	0 / 0		4 / 25	16.0%	0 / 2	0%	4 / 27	14.8%
3	4 / 4	100%	0 / 3	0%	0 / 0		4 / 7	57.1%
4	4 / 4	100%	0 / 0		0 / 0		4 / 4	100.0%
5～9	19 / 19	100%	0 / 0		1 / 1	100%	20 / 20	100%
10～14	21 / 21	100%	0 / 1	0%	1 / 1	100%	22 / 23	95.7%
15～19	14 / 14	100%	0 / 0		0 / 0		14 / 14	100%
20～29	16 / 16	100%	0 / 0		27 / 29	93.1%	43 / 45	95.6%
30～39	7 / 7	100%	0 / 0		28 / 28	100%	35 / 35	100%
40～49	5 / 7	71.4%	0 / 0		7 / 16	43.8%	12 / 23	52.2%
50～59	4 / 7	57.1%	2 / 2	100%	10 / 15	66.7%	16 / 24	66.7%
60～	1 / 4	25.0%	1 / 2	50.0%	5 / 19	26.3%	7 / 25	28.0%
計	95 / 103	92.2%	7 / 33	21.2%	79 / 111	71.2%	181 / 247	73.3%

結果および考察：247名のうち、日本脳炎ウイルスに対する抗体陽性者は181名（73.3%）であった（表1）。図1に年齢群別の抗体保有率を示した。年齢群別に見ると、5～39歳では97.8%と高い抗体保有率を示した。これに対し、0～4歳では31.6%、40～49歳では52.2%、50～59歳では66.7%、60歳以上では28.0%と低い保有率を示す年齢群が存在した。この0～4歳の年齢群と40歳以上の年齢群で抗体保有率が低くなる傾向は、近年の富山県の結果 [1-5]（図2）や全国の結果 [6] とほぼ同様であった。

0～4歳の乳幼児における抗体保有率が低い原因は、0～4歳の年齢群においてワクチン未接種者の割合が多いことが原因としてあげられる。日本脳炎ワクチンの標準的な接種年齢は3歳で2回（第1期）、4歳で1回（第1期追加）、9歳で1回追加（第2期）の計4回である [7]。図3に年齢

群別のワクチン接種歴を、表1に年齢群別およびワクチン接種歴別の抗体保有率を示す。今回調査の0～4歳の年齢群におけるワクチン未接種者の割合は77.8%（28/36）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14.3%（4/28）であり、「ワクチン接種歴あり」の抗体保有率は100.0%（8/8）であった（表1）。このことから、0～4歳の年齢群においては、ワクチン未接種者がこの年齢群の抗体保有率を引き下げているといえる。

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

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7名（21.2%）存在した。いずれも日本脳炎の罹患歴なしであり、不顕性感染していた可能性がある。この値は、全国平均（20.8%） [6] と同程度である。

富山県では1997年を最後に日本脳炎患者は発生していないが [8]、全国においては、日本脳炎ワクチン未接種の小児や高齢者からの患者発生が報告されている [6, 7]。特に、2020年には隣県の石川県においても患者が発生している [9]。また、豚の抗体保有調査やウイルス分離調査において、近年も県内に日本脳炎ウイルスが存在していることが確認されている [8, 10-13]。これらのことから、県内においても日本脳炎ウイルスに感染するリスクがあると推定されるため、日本脳炎の感染

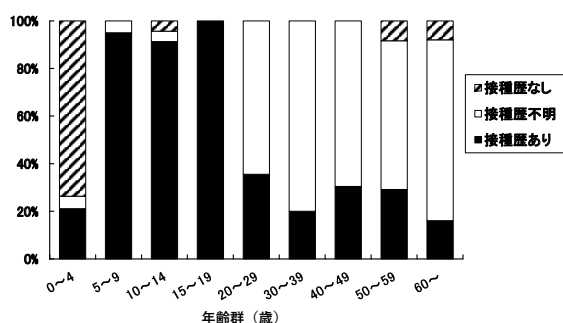


図 3. 年齢群別のワクチン接種歴 (2024 年度)

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73.3%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。不顕性な自然感染の可能性に関して、引き続き今後の動向に注視していく必要がある。富山県では1997年を最後に日本脳炎患者は発生していないものの [8]、近年においても県内に日本脳炎ウイルスが存在していることが確認されている [8, 10-13]。

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

謝 辞

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

文 献

1. 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
2. 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
3. 矢澤俊輔, 長谷川澄代, 佐賀由美子, 他. (2022). 富山衛研年報, 45, 64-66
4. 矢澤俊輔, 畠田嵩久, 佐賀由美子, 他. (2023). 富山衛研年報, 46, 58-60
5. 矢澤俊輔, 福山圭, 畠田嵩久, 他. (2024). 富山衛研年報, 47, 54-56
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(2024). 令和4年度感染症流行予測調査報告書, 109-132
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://idinfo.jihs.go.jp/niid/ja/idwr/rapid/2020.html> (2025年6月12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, 長谷川 澄代, 他. (2021). 富山衛研年報, 44, 66-69

新型コロナウイルス感染症流行予測調査における感染源調査 (環境水からの新型コロナウイルス検出) (2024年度)

谷口 咲羅 板持 雅恵 吉田 琴羽 矢澤 俊輔
 瀧田 嵩久 佐賀由美子 福山 圭 谷 英樹

Environmental Surveillance for SARS-CoV-2 in Raw Sewage in the Fiscal Year 2024

Sara TANIGUCHI, Masae ITAMOCHI, Kotoha YOSHIDA,
Shunsuke YAZAWA, Takahisa SHIMADA, Yumiko SAGA, Kei FUKUYAMA,
and Hideki TANI

下水流入水中のウイルスは、地域住民由来のウイルスの性状や流行状況を反映することが知られている。2019年から世界的に流行している新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) は、呼吸器のみならず、腸管へも感染し、糞便中にもウイルスが排出される [1-2]。そこで、下水流入水から SARS-CoV-2 を検出し、地域におけるウイルス流行を把握することを目的として、2024 年 4 月から、厚生労働省流行予測調査事業の一環として全国の自治体で調査が実施されることとなった [3]。富山県においても、下水流入水の SARS-CoV-2 調査を実施したので、報告する。

材料と方法：

(1) 調査期間および調査地点

富山県内の 1 下水処理場 (流域人口約 19 万人) において、2024 年 4 月から 2025 年 3 月まで週 1 回下水流入水を採取した。

(2) 下水流入水中の SARS-CoV-2 の濃縮及び遺伝子抽出

下水流入水からの SARS-CoV-2 の検出は、「感染症流行予測調査事業検査術式」[4] に準じて行った。40 mL の下水流入水から、2024 年 11 月 6 日採水分までは Wizard Enviro TNA Kit (Promega) で、2024 年 11 月 13 日採水分からは Maxwell RSC Enviro Total Nucleic Acid Kit (Promega) を用いて濃縮し、60 μ L ~ 80 μ L のウイルス遺伝子を抽出した。使用方法是キットの添付文書に従った。濃縮・抽出方法から推定される SARS-CoV-2 の検出下限値は、2024 年 4 月 ~ 2024 年 11 月第 1 週が 300 copies/L、2024 年 11 月第 2 週 ~ 2025 年 3 月が 400 copies/L であった。

(3) リアルタイム PCR

抽出した下水流入水の RNA サンプルについて、SARS-CoV-2 および対照としてトウガラシ微斑ウイルス遺伝子の定量を、SARS-CoV-2 Detection RT-qPCR Kit for Wastewater (タカラバイオ) を用いてリアルタイム PCR 法により実施した。

(4) 新型コロナウイルス感染症患者報告数

下水処理場流域の新規 COVID-19 患者報告数は、富山県感染症対策課および富山県感染症情報センターにおける公表数 [5] を集計した。定点あたり患者数は、下水処理場流域の 20 定点医療機関からの COVID-19 患者報告数の平均とした。

結果および考察：図に富山県内 1 下水処理場の下水流入水からの SARS-CoV-2 検出状況と流域の COVID-19 感染者数の推移を示す。調査期間中の下水流入水中の SARS-CoV-2 遺伝子量の平均値は 2.7×10^4 copies/L であり、最も少なかったのは 2024 年 10 月下旬の 7.7×10^2 copies/L であり、最も多かったのは、2025 年 3 月下旬の 6.0×10^6 copies/L であった。

我々はこれまでに下水中の SARS-CoV-2 は地域における COVID-19 流行の把握に活用できることを報告してきた [6, 7]。一方、SARS-CoV-2 の感染者における糞便中へのウイルス排出量は $3 \log_{10}$ copies/mL から $5 \log_{10}$ copies/mL 程度と少なく [8]、尿中への SARS-CoV-2 の排出量も少ないため [9]、流域の感染者数が一定数を超えないと下水流入水から SARS-CoV-2 が検出されないことも推測される。

なお、本調査結果は、ウェブサイトで公開されており (下水中の新型コロナウイルス調査プロジェクト。 <https://www.niid.jihs.go.jp/content2/>

research_department/vir2/nijis.html), 各地域の流行状況の目安になることが期待される。

謝 辞

本調査を実施するにあたり、検体採取等にご協力いただいた富山県内下水処理施設、富山県都市計画課および感染症対策課、その他関係各位に深謝いたします。本研究の一部は、厚生労働行政推進調査事業費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）「新型コロナウイルス感染症等の感染症サーベイランス体制の抜本的拡充に向けた人材育成と感染症疫学的手法の開発研究」（代表：鈴木基）（課題番号：20HA2007）の助成を得て実施した。

文 献

1. Lamers M M, Beumer J, van der Vaart J, et al. (2020). Science, 369, 50-54
2. Xiao F, Sun J, Xu Y, et al. (2020). Emerg Infect Dis, 26, 1920-1922
3. 厚生労働省健康・生活衛生局感染症対策部. 令和6年5月8日付け感発0508第1号. 令和6年度感染症流行予測調査の実施について
4. 厚生労働省健康・生活衛生局感染症対策部感染症対策課. 令和6年度感染症流行予測調査実施要領. 参考資料20. 感染症流行予測調査検査術式_下水中の新型コロナウイルス(COVID-19)ゲノム検出
5. 富山県感染症情報センター. 新型コロナウイルス感染症(COVID-19)2024. <https://www.pref.toyama.jp/1279/kansen/topics/covid19/index.html> (2025年5月30日アクセス可能)
6. 板持雅恵, 稲崎倫子, 佐賀由美子, 他. (2022). 臨床とウイルス, 50, 177-182
7. 板持雅恵, 川上利恵, 矢澤俊輔, 他 (2024). 富山県衛生研究所年報(令和5年度), 47, 61-66
8. Cheung KS, Hung IFN, Chan PPY, et al. (2020). Gastroenterology, 159, 81-95
9. Sun J, Zhu A, Li H, et al. (2020). Emerg Microbes Infect, 9, 991-993

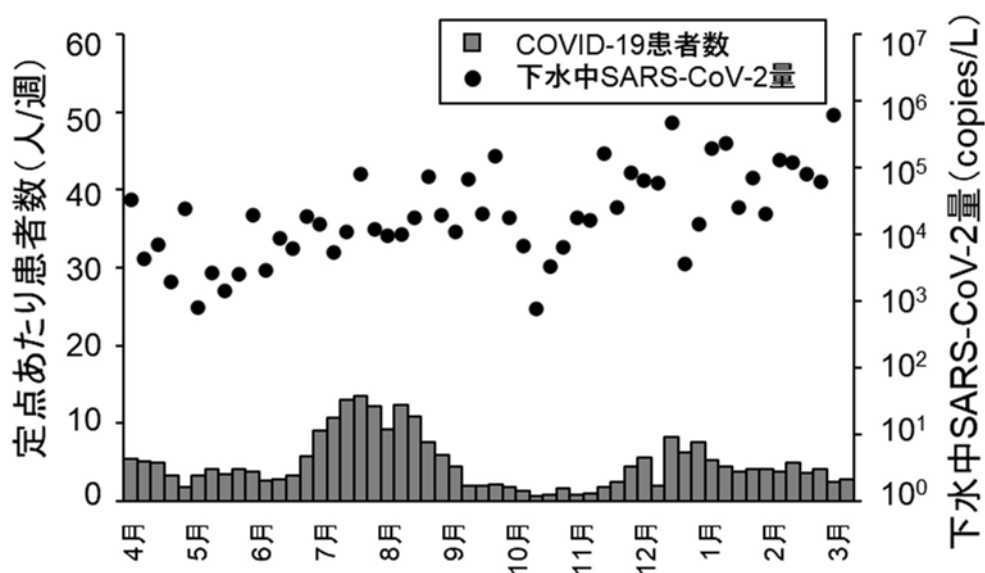


図. 下水流入水 SARS-CoV-2 量と処理場流域における COVID-19 患者数との推移 (2024 年度)

感染症媒介蚊の生息状況調査(2024年度)

矢澤 俊輔 吉田 琴羽 佐賀由美子 鳶田 嵩久
谷口 咲羅 福山 圭 板持 雅恵 谷 英樹

Distribution of Mosquitoes in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2024

Shunsuke YAZAWA, Kotoha Yoshida, Yumiko SAGA, Takahisa SHIMADA,
Sara Taniguchi, Kei FUKUYAMA, Masae ITAMOCHI, 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。

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、蚊の発生活消長を調査した。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：2024 年5～10 月に月3 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1～1.5m の高さに設置し、一晩作動させて行った。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。

結果：太閤山ランドにおける種別捕集数を表1 に示した。388 匹の蚊が捕集され、4 属5 種（種未同定のイエカ属 *Culex. spp.* を含む）に分類された。過去の調査では過半数を占めていたヒトスジシマカは、今年度の捕集割合は29.1 % であり、2020 年以前より少なく、昨年と同程度であった。太閤山ランドにおける2024 年のヒトスジシマカの発生は5 月中旬から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 月中旬であった（表2、図2）。

太閤山ランドにおける2018～2024 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、2024 年の捕集数が多くなる時期は9 月中旬であり過去の調査と同程度の時期であった。ピーク時の捕集数は、昨年同様、2020 年以前の調査と比較



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

種	捕集数(匹)			捕集割合(%)
	♀	♂	小計	
ヒトスジシマカ	113	0	113	29.1
ヤマトヤブカ	4	0	4	1.0
イエカ類	259	0	259	66.8
キンパナガハシカ	1	0	1	0.3
オオクロヤブカ	11	0	11	2.8
計	388	0	388	

して最も少なかった（図2）。
ピーク時の捕集数は過去4年間と比較して最も少なかった（図2）。

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時期別捕集数

調査時期 月 旬	採集数(匹) 地点1 地点2		計
5月	中	1 2	3
	下	0 0	0
6月	上	1 0	1
	中	1 0	1
	下	1 2	3
7月	上	10 6	16
	中	2 3	5
	下	4 0	4
8月	上	2 0	2
	中	3 0	3
	下	7 10	17
9月	上	14 4	18
	中	10 14	24
	下	11 2	13
10月	上	0 1	1
	中	0 0	0
	下	0 2	2
計		67 46	113

考察：県内におけるヒトスジシマカの2024年の発生は、5月中旬から10月中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、これまでの調査結果[48]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、蚊媒介性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、かつ多くの人が日常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

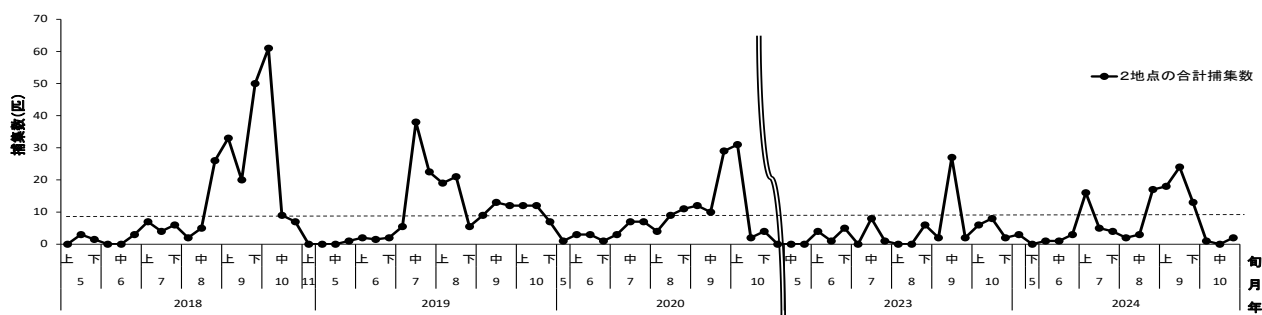


図2. 太閤山ランドにおけるヒトスジシマカ雌成虫の年次別季節消長（2018～2024年）

地点1,2ともにCDCトラップを用いて調査し、合計値をグラフにした。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。2021～2022年は調査未実施。

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り, そういった場合観光地における調査も考える必要がある.

文 献

1. 国立感染症研究所. (2020). IASR, 41, 94-96
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, 89-93
4. 矢澤俊輔, 佐賀由美子, 寫田嵩久, 他. (2024). 富山県衛生研究所年報, 47, 69-71
5. 佐賀由美子, 寫田嵩久, 稲崎倫子, 他. (2021). 富山県衛生研究所年報, 44, 80-82
6. 佐賀由美子, 寫田嵩久, 稲崎倫子, 他. (2020). 富山県衛生研究所年報, 43, 101-103
7. 佐賀由美子, 寫田嵩久, 名古屋真弓, 他. (2019). 富山県衛生研究所年報, 42, 107-109
8. 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
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

富山県における2024年度のウイルスおよびリケッチア検出状況

矢澤 俊輔 板持 雅恵 福山 圭 佐賀由美子
 高田 嵩久 吉田 琴羽 谷口 咲羅 谷 英樹

Viruses and Rickettsiae Detected from Specimens of Patients
 in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2024

Shunsuke YAZAWA, Masae ITAMOCHI, Kei FUKUYAMA, Yumiko SAGA,
 Takahisa SHIMADA, Kotoha YOSHIDA, Sara TANIGUCHI,
 and Hideki TANI

目的：富山県衛生研究所ウイルス部では、感染症発生動向調査や行政依頼検査、一般依頼検査など、種々の目的によって検査を行っている。ここでは、2024年度に検出されたウイルスおよびリケッチアの検査の概要を報告する。

材料と方法：検査は、検体の種類や状態に応じて、常法に従い実施した。

2024年4月から2025年3月までに受け付けた被検者（食品・拭き取り検体を含む）は延べ893例、検体別では鼻咽頭・鼻腔拭い液・気管吸引液712、食品・拭き取り検体88、糞便（直腸拭い液を含む）65、血液（全血、血漿、血清、末梢血単核球、パフィーコートなど）52、結膜拭い液12、尿10、髄液8、痂皮・皮膚・水疱内容物6、の計953件であった。

結果および考察：被検者893例中735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、月別に表1に示し、若干の解説を加えた。月別検出数は、検体採取日をもとに集計した。

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86症例について検査を行ったところ、39症例からAH1型インフルエンザウイルスが、7症例からAH3型インフルエンザウイルスが、16症例からB型インフルエンザウイルスがそれぞれ検出された。その他、インフルエンザウイルス以外では、ボカウイルス4例、パラインフルエンザウイルス3型3例、RSウイルス3例が検出された。

新型コロナウイルス感染症（COVID-19）ゲノム解析：SARS-CoV-2陽性例のうち、次世代シー

クエンサーを用いたゲノム解析を行い、618症例について解析した。オミクロン株JN.1系統（BA.2.86、KP系統を除く）が4～8月に、KP系統（KP.1、KP.2、KP3系統を含む）が毎月みられた。これらの結果は、随時富山県衛生研究所のホームページ上でも公開している¹⁾。

脳炎・脳症：1症例の検査を行ったところ、糞便および咽頭拭い液からアデノウイルス3型が検出された。

無菌性髄膜炎：7症例の検査を行ったところ、1症例の鼻咽頭拭い液からエンテロウイルス71型が検出された。

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8事例（糞便57検体、拭き取り30検体、食品58検体）について検査を行ったところ、6事例（糞便15検体、食品4検体）からノロウイルスGIIが検出された。

麻疹：麻疹疑い例として検査依頼を受けた2症例の検査を行ったが、麻疹ウイルスおよび風疹ウイルスは検出されなかった。

手足口病：15症例の検査を行ったところ、1症例からコクサッキーウイルス6型が、7症例からコクサッキーウイルス16型が、4症例からエンテロウイルス（型別不明）が検出された。

ダニ媒介感染症〔つつが虫病、重症熱性血小板減少症候群（SFTS）、日本紅斑熱疑いを含む〕：8症例の検査を行ったところ、1症例の血液からつつが虫病リケッチアが検出された。また、2症例から紅斑熱群リケッチア（*Rickettsia asiatica*）が検出された。

エムボックス：2症例の検査を行ったところ、エムボックスウイルスは検出されず、1症例から水痘・帯状疱疹ウイルスが検出された。

表 1. 2024 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	2024年					2025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)	4	8		4	10	2	2	2	12	21	9	12	86	
インフルエンザ様疾患	AH1型インフルエンザ		1				1	1	2	12	15	6	1	39	
	AH3型インフルエンザ						1						6	7	
	B型インフルエンザ	4	3								1	3	5	16	
	ボカウイルス		4											4	
	パラインフルエンザ3型					3								3	
	RSウイルス				3									3	
COVID-19ゲノム解析	(被検者数)	37	60	70	76	97	72	56	11	31	46	31	31	618	
	BA.2.86系統 (JN, KP系統を除く)	2												2	
	JN.1系統 (BA.2.86, KP系統を除く)	7	3	2	2	1								15	
	KP系統 (KP.1, KP.2, KP.3系統除く)	4	26	32	37	48	36	27	4	13	11	7	8	253	
	KP.1系統			1	1				1		1			4	
	KP.2系統	1	2	2	2									7	
	KP.3系統	3	24	29	34	48	36	27	3	13	10	7	8	242	
	EG.5系統	3												3	
	XDQ系統	17	5	4										26	
	XEC系統							2	3	5	19	17	12	58	
	その他組換株 (XDQ, XEC系統除く)										5		3	8	
脳炎・脳症	(被検者数)	1												1	
	Ad3	1												1	
無菌性髄膜炎	(被検者数)	1		1		2	1	1				1		7	
	エンテロウイルス71型							1						1	
感染性胃腸炎(集団)	(被検者数) ^b	11	13				3				54	46	18	145	
	ノロGII ^a	4									3	5	7	19	
手足口病	(被検者数)				3	2	3	4	3					15	
	CA6					1								1	
	CA16							4	3					7	
	エンテロ型別不明				1	1	2							4	
ダニ媒介感染症	(被検者数)	1	1	1			1	2	1			1		8	
(つつが虫病, SFTS ^c , 日本紅斑熱疑い)	つつが虫病リケッチア								1					1	
	紅斑熱群リケッチア							1				1		2	
エムボックス疑い	(被検者数)								1				1	2	
	水痘・带状疱疹												1	1	
水痘	(被検者数)			5	1						1			7	
	水痘・带状疱疹			4	1						1			6	
その他 ^d	(被検者数)		2			1	1							4	
	HHV-6		2											2	
症例合計	(被検者数)	55	84	77	84	112	83	65	18	43	122	88	62	893	
	病原体検出者数	46	70	74	81	102	76	63	17	43	66	46	51	735	

a. ノロGII: ノロウイルスGenogroup II.

b. 拭き取り検体・食品検体を含む

c. SFTS: 重症熱性血小板減少症候群

d. その他: 5月の2症例は、けいれん重責・上気道炎。8月と9月にデング熱疑いの2症例を検査したがいずれも検出されなかった。

水痘・带状疱疹：7 症例の検査を行ったところ、6 症例から水痘带状疱疹ウイルスが検出された。

その他：けいれん重積および上気道炎症例からヒトヘルペスウイルス 6 型が、2 症例検出された。デング熱疑い 2 症例について検査を行ったが、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りますが、感染症の発生動向を知るうえで貴重な資料となります。ご多忙の中でご理解、ご協力

をいただいた多くの医療機関および防疫機関の関係各位に深くお礼申し上げます。

文 献

1. 富山県衛生研究所. 新型コロナウイルスゲノム解析検査状況. 2025. <https://www.pref.toyama.jp/1279/kurashi/kenkou/kenkou/1279/department/department2/genomukaiseki.html> (2025 年 5 月 30 日アクセス可能)

伴侶動物の重症熱性血小板減少症候群ウイルス感染状況調査(2024年度)

佐賀由美子 矢澤 俊輔 嵩田 嵩久 谷口 咲羅
吉田 琴羽 福山 圭 板持 雅恵 谷 英樹

Survey of Severe Fever with Thrombocytopenia Syndrome Virus Infection in Companion Animals in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2024

Yumiko SAGA, Shunsuke YAZAWA, Takahisa SHIMADA, Sara TANIGUCHI,
Kotoha YOSHIDA, Kei FUKUYAMA, Masae ITAMOCHI, and Hideki TANI

重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) は、2011年に中国の研究者より報告されたフェニユウイルス科バンダウイルス属に属するSFTSウイルス (SFTSV) によるマダニ媒介性感染症である [1]。国内では2013年に初めて発症者が確認 [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。北陸地域では、2015年に石川県で、2017年に福井県でヒトのSFTS症例が報告されている [3]。一方、富山県では、2021年までヒトおよび動物のSFTS症例は報告されていなかったが、2022年5月にイヌの、同年11月にヒトのSFTS症例が初めて確認された [4-6]。SFTSの国内における致死率は27%と高く [7]、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 [7-11]。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を発症した伴侶動物を介した感染も考慮する必要がある。

そこで、本県の伴侶動物のSFTSV感染状況を把握することを目的として、県内動物病院を受診した伴侶動物のSFTSV抗体保有状況およびSFTS疑い症例のSFTSV保有状況について調査した。なお、2023年度より、SFTS疑い症例の調査において検体として全血が提出された場合には、鑑別診断としてリケッチアの検査も併せて実施することにした。その結果も併せて報告する。

材料と方法：

1. SFTSV抗体保有状況調査

2024年1月～2024年10月に県内動物病院2施設を受診したイヌ101頭およびネコ13頭の血

(1) 抗原のコーティング

SFTSV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100 μ l/wellずつ分注し、4℃で1晩反応させる。

↓ 0.05% Tween20 in PBS (PBST) で1回洗浄

(2) ブロッッキング

20% Blocking-One in DDWを100 μ l/wellずつ分注し、室温で1時間反応させる。

↓ PBSTで1回洗浄

(3) 1次抗体 (血清) の反応

20% Blocking-One in PBST (diluent) を用いて100倍希釈した血清を100 μ l/wellずつ分注し、37℃で1時間反応させる。

↓ PBST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Protin A/Gを100 μ l/wellずつ分注し、37℃で1時間反応させる。

↓ PBSTで3回洗浄

(5) 基質の反応

ABTS基質液を100 μ l/wellずつ分注し、室温で1時間反応させる。

(6) OD値の測定

405nmのOD値を測定し、(SFTS抗原のOD値) - (Mock抗原のOD値) $\geq$ 0.3を陽性と判定する。

図 1. SFTSV に対するIgG 抗体検出用 ELISA のプロトコル

清を材料とした（表1）。SFTSV に対するIgG 抗体検出スクリーニングとして、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）を実施した（図1）。スクリーニング陽性の検体については、間接蛍光抗体法（IF 法）によりSFTSV 特異的IgG 抗体価およびIgM 抗体価の判定を行った。IF 法の抗原は、SFTSV YG-1 株感染 VeroE6 細胞を用い、抗体価 40 倍以上を陽性とした。

2. SFTS 疑い症例のSFTSV 保有状況調査

2024 年7 月～10 月に県内動物病院を受診し、SFTS を疑う症状を呈したイヌ2 頭およびネコ4 頭から採取した全血、血清を材料とした（表2）。リアルタイム RT-PCR 法 [12] によりSFTSV 遺伝子検出を行った。検体が全血の場合は、リアルタイム RT-PCR 法 [13-14] により、紅斑熱群リケッチア（Spotted fever group *Rickettsia*; SFGR）およびつつが虫病リケッチア（*Orientia tsutsugamushi*; Ot）の遺伝子検出も行った。IF 法によりSFTSV 特異的IgG 抗体価およびIgM 抗体価の判定を行った。IF 法の抗原は、SFTSV YG-1 株感染 VeroE6 細胞を用い、抗体価 40 倍以上を陽性とした。

結果：

1. SFTSV 抗体保有状況調査

イヌ101 検体およびネコ13 検体について、SFTSV に対するIgG 抗体検出のスクリーニング検査としてELISA を実施したところ、イヌ1 検体でスクリーニング陽性となった。この1 検体について、IF 法を実施したが、SFTSV 特異的IgG 抗体およびIgM 抗体は検出されなかった。

2. SFTS 疑い症例のSFTSV 保有状況調査

SFTS を疑う症状を呈したイヌ2 頭およびネコ

表 1. SFTSV 抗体保有状況調査において血清を採取した伴侶動物の概要

動物種	イヌ	ネコ	合計
検体数	101	13	114
動物病院 A(高岡市)	69	9	78
	32	4	36
(所在地) B(射水市)	0	1	1
	1～5	22	24
年齢	6～10	32	37
	11～	43	48
	不明	3	4
性別	♀	11	12
	♀(避妊)	47	53
	♂	7	7
	♂(去勢)	36	42
飼育地	氷見市	8	8
	高岡市	52	62
	射水市	25	25
	砺波市	6	6
	南砺市	2	2
	富山市	7	10
	上市町	1	1
マダニ 予防薬	有	45	49
	なし	56	65
屋外行動	有	99	107
	なし	1	6
	不明	1	1

4 頭について検査したが、いずれの個体からもSFTSV 遺伝子およびSFTSV 特異的抗体は検出されなかった（表2）。

6 頭全てで検体として全血が提出されたため、鑑別診断としてOt およびSFGR の遺伝子検出を行ったところ、Ot 遺伝子は6 頭とも検出されなかったが、ネコ1 頭からSFGR 遺伝子が検出された（表2）。

表 2. SFTS 発生状況調査において検体を採取した伴侶動物の概要

症例 No.	動物種	年齢	性別	飼育市町村	マダニ 予防薬	屋外 行動	備考	発症日	検体 採取日	検体の 種類	リアルタイムPCR 検査結果*			SFTSV特異的 IF抗体価	
											SFTSV	Ot	SFGR	IgM	IgG
1	ネコ	5	♀(避妊)	高岡市	なし	有		2024/6/25頃	2024/7/9	全血	-	-	-	<40	<40
2	ネコ	18	♀(避妊)	氷見市	なし	なし	過去に脱走したことあり。2024/6/30頃に外から自宅へ侵入した猫に咬まれ、外傷治療中。	2024/7/12	2024/7/12	全血	-	-	+	<40	<40
									2024/8/2	血清	NT	NT	NT	<40	<40
3	イヌ	9	♂(去勢)	富山市	不明	有	マダニの寄生あり。	2024/7/30	2024/7/28	全血	-	-	-	<40	<40
4	イヌ	9	♂(去勢)	射水市	不明	なし		2024/8/17	2024/8/19	全血	-	-	-	<40	<40
5	ネコ	5	♀(避妊)	射水市	なし	有		2024/10/17	2024/10/21	全血	-	-	-	<40	<40
6	ネコ	16	♂(去勢)	不明	不明	不明		2024/10/20	2024/10/21	全血	-	-	-	<40	<40

* +:陽性、-:陰性、NT:検査未実施

考察：抗体保有状況調査においては、過去の調査分と合わせるとイヌ372頭、ネコ96頭について検査したが、SFTSV特異的IgG抗体を保有している動物はみつからなかった。また、今年度の発生状況調査で検査したイヌおよびネコからSFTSVは検出されなかった。しかしながら、2022年に県内でイヌおよびヒトのSFTS症例が確認されたことから [4-6]、県内にSFTSVを保有するマダニが分布している可能性が考えられる。

今年度も昨年度の調査と同様、SFTSVと同じくマダニによって媒介されるSFGRがネコから検出され、伴侶動物にマダニ媒介性病原体が感染するリスクがあらためて示された。伴侶動物はヒトの生活と密接に関わることから、そのSFTSV感染状況を把握することは、ヒトへのSFTSV感染防止対策を実施する上で重要である。したがって、SFTSを疑う症状を呈した伴侶動物の調査は、今後も継続して実施したいと考えている。

一方、県内のSFTSV浸淫状況を把握するための抗体調査は、今後は、伴侶動物よりもマダニに刺咬される機会の多いイノシシを対象に実施することを検討している。検体としては、県農林水産部が豚熱の検査のために収集している2019年以降のイノシシ血清を用いる予定である。

なお、昨年度から今年度にかけてネコから検出されたSFGRはいずれも遺伝子量が少なくシーケンス出来なかったため、リケッチア種は不明であった。当所の過去の調査では、ネコに付着する外部寄生虫の大半はネコノミで、マダニ類は少なかった [15]。ノミは、移行群リケッチア (transitional group *Rickettsiae*; TSGR) に属する *Rickettsia felis* や *R. asembonensis* の保有率が高いと報告されている [16-19]。我々が使用しているリアルタイム RT-PCR 法ではSFGR以外のリケッチア属菌も非特異的に検出することがあるとされているため、ネコから検出されたリケッチアがTSGRであった可能性もあると考えられた。今後、SFTS疑いの伴侶動物やダニ媒介感染症疑いのヒトからリケッチアが検出された際に鑑別診断できるように、*R. felis* 等のSFGR以外のリケッチアの検出方法も検討しておく必要があると考えられた。

謝 辞

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

文 献

1. Yu XJ, Liang MF, Zhang SY, et al. (2011). N Engl J Med, 364, 1523-1532
2. Takahashi T, Maeda K, Suzuki T, et al. (2014). J Infect Dis, 209(6), 816-827
3. 国立感染症研究所. 重症熱性血小板減少症候群 (SFTS) . <https://id-info.jihs.go.jp/diseases/sa/sfts/010/sfts.html> (2025年5月30日アクセス可能)
4. Saga Y, Yoshida T, Yoshida R, et al. (2023). Viruses, 15(11), 2228.
5. 佐賀由美子, 矢澤俊輔, 寫田嵩久, 他. (2022). IASR, 43, 218-219
6. 坂東彬人, 村田久仁男, 村井祐至, 他. (2023). IASR, 44, 42-43
7. Kobayashi Y, Kato H, Yamagishi T, et al. (2020). Emerg Infect Dis, 26(4), 692-699
8. Yamanaka A, Kirino Y, Fujimoto S, et al. (2020). Emerg Infect Dis, 26(12), 2994-2998
9. Kida K, Matsuoka Y, Shimoda T, et al. (2019). Jpn J Infect Dis, 72, 356-358
10. Oshima H, Okumura H, Maeda K, et al. (2022). Jpn J Infect Dis, 75, 423-426
11. 石嶋慧多, 平良雅克, 松嶋 彩, 他. (2023). IASR, 44, 31-32
12. Yoshikawa T, Fukushima S, Tani H, et al. (2014). J Clin Microbiol, 52, 3325-3333
13. Kawamori F, Shimazu Y, Sato H, et al. (2018). Jpn J Infect Dis, 71(4), 267-273
14. 国立感染症研究所. リケッチア感染症診断マニュアル (令和元年度6月版) . <https://id-info.jihs.go.jp/relevant/manual/010/Rickettsia20190628.pdf> (2025年5月30日アクセス可能)
15. 山内健生, 名古屋 (小原) 真弓, 渡辺 護, 他. (2014). ペストロジー, 29 (1), 7-12
16. Moore C, Breitschwerdt EB, Kim L, et al. (2023). Front Microbiol. 14, 1137059
17. Hawley JR, Shaw SE, Lappin MR. (2007). J Feline Med Surg, 9(3), 258-62
18. Mullins KE, Maina AN, Krueger L, et al. (2018). Am J Trop Med Hyg, 99(2), 291-296
19. Minahan NT, Wu W, Tsai K. (2023), J Microbiol Immunol Infect. 56(1), 10-19

感染症流行予測調査における日本脳炎感受性試験の 検査系の代替法の検討について

矢澤 俊輔 佐賀由美子 松田 麻未¹ 鈴木 亮介¹
林 昌宏¹ 田島 茂¹ 谷 英樹

Examination of alternative methods for Japanese encephalitis susceptibility testing in
national epidemiological surveillance program of vaccine-preventable diseases in Japan

Shunsuke YAZAWA, Yumiko SAGA, Mami MATSUDA, Ryosuke SUZUKI,
Chang-Kweng LIM, Shigeru TAJIMA, and Hideki TANI

目的：当所では、「感染症流行予測調査」の一環として毎年日本脳炎ウイルス（JEV）の感受性調査を行っており、全年齢を対象としたヒトのJEV抗体価並びに抗体保有率の調査を実施している。現在、抗体価の算出方法は、ウイルスを細胞に接種してフォーカスを形成させ、抗体染色法によりその数をカウントする「フォーカス法」が公定法となっている [1, 2]。しかし、この方法は、手順が煩雑で時間がかかることに加え、判定を目視でフォーカスを数えることによって行うため主観が入りやすい欠点がある。また、染色してフォーカスを作製する際には染色ムラが発生し、フォーカスのカウントができないこともある。ゆえに、簡便かつ正確なデータを出すためには、フォーカス法に変わる代替法が必要である。

近年、JEVのいくつかの構成遺伝子を欠損させて増殖できなくしたsingle-round infectious particles (SRIPs) の作製が試みられている [3, 4]。SRIPsには、リポーター遺伝子としてナノルシフェラーゼ遺伝子が自身のゲノムに挿入されているため、ルシフェラーゼの活性を感染の指標にすることで、簡便且つ低コストで大規模に評価を実施することが可能となる。

さらに、流行予測調査の新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) のヒトの中和抗体価の測定ですでに用いられている、細胞変性効果 (CPE) を使った評価系を検討する。この評価系ではVeroE6/TMPRSS2細胞を用い、CPEを指標にして行っている。JEVのCPE評価系はまだ行われていない。

本研究では、これらの方法がJEVの抗体価測定でも使用可能かどうか確認するため、感染症流行

予測調査事業での評価系として現行の評価系であるフォーカス法と、SRIPs法およびCPE法が同等であるかどうか検討した。

材料および方法

1. 検体

様々な年齢のヒト血清 360 検体 (2019, 2021, 2023 年度, 各 120 検体) を用いた。これらの血清は、56℃, 30 分間で非働化处理し、被検血清とした。

2. 抗体測定法

(1). フォーカス法

検査術式 [2] に準じて実施した (一部試薬を変更)。すなわち、被検血清を、10% ウシ胎児血清 (FBS) および 1% Penicillin-Streptomycin 添加 Minimum Essential Medium Eagle (MEM; Nacalai Tesque, Inc., Kyoto, Japan) にて、5 倍～160 倍に 2 倍階段希釈した。1 × 10² FFU/50μl に調整した JEV-Beijing-1 株を希釈済み血清に等量混合し、37℃, 1 時間で中和反応 (最終血清希釈倍率 10 倍～320 倍) を行った。反応液 50μl を、96 ウェルプレートに単層培養した Vero Osaka 細胞 (国立感染症研究所より入手) に接種し、37℃, 2 日間培養した。培養後、培地を除去し、10% ホルマリン溶液で、20 分間室温で反応させて固定した後、PBS で洗い、乾燥させた。さらに、1 次抗体として抗 JEV ウサギ血清 (× 500, 国立感染症研究所より入手) を、2 次抗体として抗ウサギ抗ヤギ血清 (× 200), その後、標識抗体 (× 50, 共に VECTASTAIN Elite ABC Kit, Funakoshi,

Japan) を順次 40 μ l 添加し、各 37 $^{\circ}$ C、30 分間反応させた。最後にペルオキシダーゼ反応 (Peroxidase Stain DAB Kit, Nacalai Tesque, Inc., Kyoto, Japan) にて染色した。染色してできたフォーカスを目視もしくはルーペ下でカウントし、ウイルスコントロール (VC) のフォーカス数の半分以下になる最大血清希釈倍率を抗体価とした (図 1, 表)。

(2). SRIPs 法

JEV-SRIPs は、既報の通り (5)、3 種類のプラスミド (pCMV-JEV-Beijing-1-prME, pCAG-YF-C, pCMV-YF-nluc-rep) から作製した。1 dish あたり、pCMV-JEV-Beijing-1-prME 1.25 μ g, pCAG-YF-C 1.25 μ g, pCMV-YF-nluc-rep 2.5 μ g, ポリエチレンイミン (Thermo Fisher Scientific Inc., Massachusetts, America) 25 μ l, Opti MEM (Thermo Fisher Scientific Inc., Massachusetts, America) 250 μ l を混ぜ、室温で 30 分静置した。静置後、単層培養した 293T 細胞 (JCRB 細胞バンクより入手) に全量接種してトランスフェクションし、37 $^{\circ}$ C、3 日間培養した。その後、上清を回収し、JEV-SRIPs とした。

被検血清と最終濃度が 800 倍になるように希釈した JEV-SRIPs と混合し 37 $^{\circ}$ C、1 時間中和反応を行った (最終血清希釈倍率 10 倍～640 倍)。96 ウェルプレートに単層培養した Vero Osaka 細胞に反応液 40 μ l 接種した。その後、非働化済み 10%FBS および 1%Penicillin-Streptomycin 添加 MEM 培地 60 μ l を追加し、37 $^{\circ}$ C、1 日間培養した。培養後、培地を除去し PBS200 μ l で 1 回洗浄後、ルシフェラーゼ基質液 (Nano-Glo Luciferase Assay, Promega, Wisconsin, USA) 40 μ l を添加し、振とうした。反応液 20 μ l をホワイトハーフプレート (Corning, New York, USA) に移し、GloMax[®]Navigator マイクロプレートルミノメーター (#G2000, Promega Corporation) を用いて、ルシフェラーゼ活性を測定した (図 2)。それぞれの希釈倍率ごとの測定値を JEV-SRIPs コントロール値で除し、回帰直線を引くことで IC50 を求め抗体価とした。抗体価が 640 倍を超えるものは「640 倍 $\leq$ 」、10 倍未満のものは「<10 倍」と定義した。ただし、相関係数を求めるときには、抗体価が 320 倍を超えるものは「320 倍<」と定義した (表)。

(3). CPE 法

SARS-CoV-2 感受性調査のプロトコルに準じて実施した [6]。すなわち被検血清を、2%FBS お

よび 1%Penicillin-Streptomycin 添加 Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM; Nacalai Tesque, Inc., Kyoto, Japan) にて、2 倍階段希釈した (2.5 倍～320 倍)。被検血清に、100TCID₅₀/25 μ l に調整した JEV-Beijing-1 株を等量加え、37 $^{\circ}$ C、1 時間で中和反応を行った (最終血清希釈倍率 5 倍～640 倍)。反応液と 1.0 $\times$ 10⁵/ml に調整した VeroE6/TMPRSS2 細胞 (JCRB 細胞バンクより入手) を等量混合し、96 ウェルプレートに播種し、37 $^{\circ}$ C、5 日間培養した。培養後、顕微鏡観察にて CPE を確認し、CPE が確認されなかった最大血清希釈倍率を抗体価とした (図 3, 表)。

3. 倫理審査

本研究は富山県衛生研究所倫理審査委員会の承認を得て実施した (R5-1)。

結果：フォーカス法で求めた抗体価と SRIPs 法で求めた抗体価との間で相関関係を調べた。まず、フォーカス法で求めた抗体価と SRIPs 法で求めた IC50 は、相関係数 $r = 0.935$ となり非常に強い相関が認められた。また、フォーカス法で求めた抗体価と CPE 法で求めた抗体価は、相関係数 $r = 0.800$ となり強い相関が認められた。

考察：今回、JEV の抗体価測定におけるフォーカス法 (現行法) に代わる新たな 2 つの方法に関して、代替法として用いることが可能か検証したが、いずれの方法もフォーカス法と強い相関が認められた。2 つの代替法にはそれぞれ利点がある。まず、SRIPs 法の利点は大きく 3 つある。第 1 に、フォーカス法と比べ非常に簡便な点である。フォーカス法では、中和試験と培養に 4 日かかるのに加えて、染色して目視でカウントにも時間がかかる。流行予測調査では検体数も 200 件以上あり多いため、さらに時間がかかる。また、フォーカスのカウントは、フォーカスがとても小さいため非常に労力がかかる。さらに、染色ムラが発生し再試験になることもある。しかし SRIPs 法では、染色の工程はなく、さらに試薬を入れて測定機器で測定するだけであり、時間も労力もかからない。また、反応液接種後の培養時間は既報 [3,4] では 2 日～3 日間であったが、1 日でも傾向は変わらないことが分かったため今回のプロトコルに採用した (データ示さず)。

第 2 に検査精度の向上が期待できる点である。



図1. フォーカス法の写真

(A) フォーカスの染色像. 96 ウェルプレートの1ウェルを拡大した写真. 褐色に染まる点一つ一つがフォーカスであり, この数を数える. (B) フォーカスカウントの様子. 下から光の当たる台の上に96 ウェルプレートを載せ, ルーベ越しにカウントする.

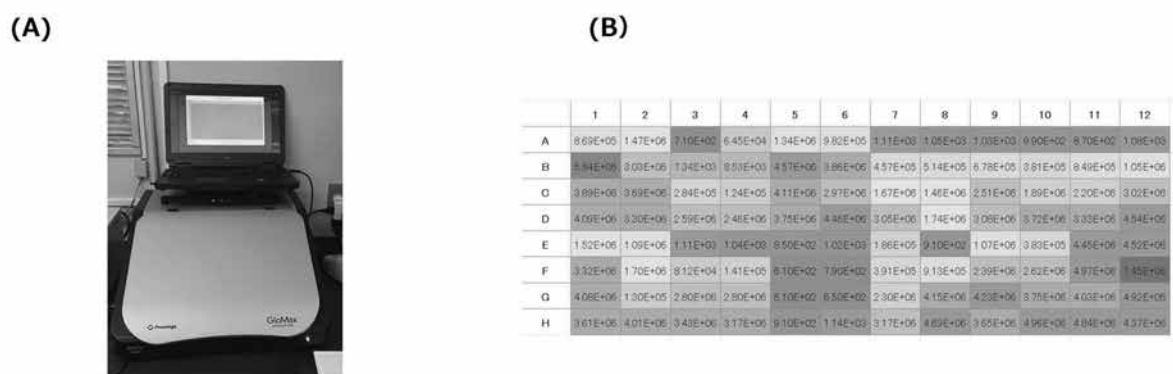


図2. SRIPs 法の写真

(A) GloMax®Navigator マイクロプレートルミノメーター. 96 ウェルプレートを入れて発光強度を測定する. (B) 測定後, 写真のように各ウェルの発光強度がエクセルの形式で表示される.

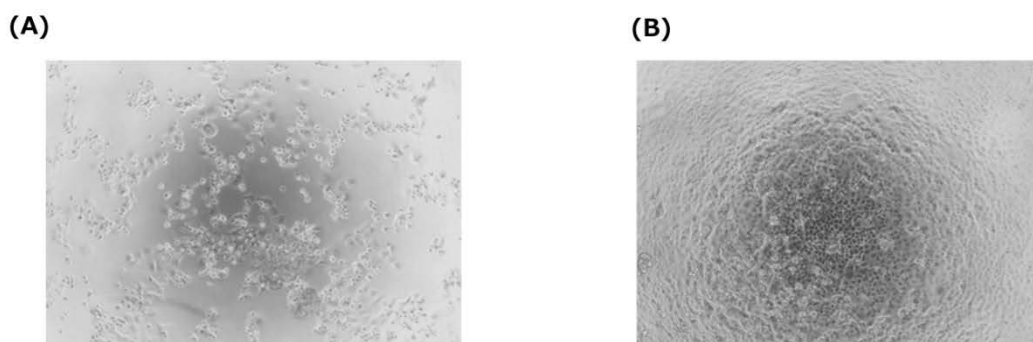


図3. CPE 法の写真

(A) CPE(+), (B) CPE(-)

表. 実際に測定した抗体価の例

(A) フォーカス法

Sample No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
10	30	100<	0	0	0	0	0	0	0	0
20	100<	100<	0	7	0	0	0	0	0	0
40	100<	100<	9	13	0	0	7	0	0	0
80	100<	100<	23	46	14	6	11	0	0	0
160	100<	100<	100<	100<	64	17	20	3	2	0
320	100<	100<	100<	100<	100<	22	55	5	16	5
抗体価	10	<10	80	40	80	320<	160	320<	320<	320<

VCのフォーカス数に対する割合 (%)

(B) SRIPs法

Sample No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
10	100<	100<	2	1	1	2	1	3	1	1
40	100<	100<	100<	72	19	7	3	8	2	1
160	100<	100<	100<	100<	100<	61	38	13	4	3
640	100<	100<	100<	100<	100<	100<	99	59	50	31
IC ₅₀	0	0	20	31	75	134	305	546	648	1011

VCのルシフェラーゼ活性に対する割合 (%)

(C) CPE法

Sample No.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
20	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
40	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
80	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-
160	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
320	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
640	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
抗体価	5	10	40	80	40	160	160	160	320	160

+ : CPE陽性、- : CPE陰性

(A) フォーカス法. ウイルスコントロールのフォーカス数を100%としたときの割合を表す. 50% 以下になる最大血清希釈倍率を抗体価とする. (B) SRIPs 法. ウイルスコントロールのルシフェラーゼ活性を100%としたときの割合を表す. 回帰直線を引くことで, IC₅₀ を求め抗体価とする. (C) CPE 法. CPE (+) となる最大血清希釈倍率を抗体価とする.

フォーカス形成法はフォーカス自体が極めて小さく, 測定者が変わると抗体価が異なってしまう可能性がある. 一方, SRIPs 法ではルシフェラーゼ活性を機械が測定し数値として出すので, 主観は入らない. 今回, SRIPs 法の抗体価をIC₅₀ で出したが, フォーカス法では10 倍未満~ 320 倍以上までしか測定できなかったことに合わせるために, IC₅₀ が320 以上の検体もすべて320 <と定義した. しかし実際には, IC₅₀ だとフォーカス形成法以上

の範囲を測定することが可能であり, 今まで以上に正確な値を求めることができる.

第3に術者に対して病原性が著しく低いことである. フォーカス形成法では生ウイルスを使うのに対しSRIPs 法では使用しない. そのため, 術者は最小限の防護着で操作を行うことができる.

本研究におけるもう一つの代替法であるCPE 法にも利点はある. まず, 操作が簡便であることに加えて, 特別な試薬や機械が不要である点である.

フォーカス形成法では、抗体染色でフォーカスを染色するため、複数の試薬が必要である。また SRIPs 法では、JEV-SRIPs は現在のところ販売されておらず、自分で作製する必要があることに加え、測定機器を調達しなければならない。対して CPE 法では、JEV と細胞だけで試験することができる。また、CPE の判定も簡単である。しかし、SRIPs 法とは逆に生ウイルスを使うため必ずしも安全ではないこと、判定までに5日かかってしまい、時間がかかることが欠点である。

また、今回 SRIPs 法で求めた測定値の中には、1 万倍希釈 (IC_{50}) 以上となる検体が複数あった。しかし、実際これらの検体をより広範囲の希釈倍率で中和試験を行った結果、大きく下方修正された (データ示さず)。範囲を大きく超えた値のデータの解釈には注意が必要である。

さらに今回の研究では行わなかったが、SRIPs 法が JEV の診断や既感染者の推定に役立つ可能性がある。Maeki らの報告によると、JEV 患者のプラークアッセイを使った中和試験では、1,280 倍～20,480 倍以上の抗体価を示し [8]、今回の SRIPs 法での IC_{50} の一部検体はこの範囲に該当する。これらの検体は、直近に JEV に感染した可能性がある。フラビウイルス属に含まれたウイルスは互いに交差反応性があるため血清学的検査から診断するのが難しいが、Matsuda らは、複数のフラビウイルスの SRIPs を使ったそれぞれの中和試験によって他のウイルスの交差反応を否定できることを報告している [4]。この報告と合わせて、本研究の測定系が診断も可能であるか検証していく必要がある。

結論：SRIPs 法、CPE 法ともに日本脳炎感受性試験における現行法に代わる方法として使用可能であり、それぞれの利点と欠点を理解したうえで選択する必要がある。

出 典

本報告は、以下の論文に基づき、内容を日本語で要約・再構成したものである：Yazawa S, et al., *Journal of Virological Methods*, 2025 Apr 8: 115163

謝 辞

本研究の実施にあたり、技術面および事務面でのご支援をいただいた川口泉氏にお礼申し上げます。また、有益な議論をしてくださった高崎智彦氏にも心より感謝申し上げます。

本研究は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) の科学研究費補助金 (課題番号：JP23fk0108656, JP24fk0108656) の助成を受けて実施されました。

文 献

1. 令和6年度感染症流行予測調査実施要領
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流行予測調査事業委員会. (2019). 感染症流行予測調査事業検査術式令和元年度改訂版
3. R. Suzuki et al. (2014). *Gen Virol. Jan*;95 (Pt 1):60-65.
4. Matsuda et al. (2018). *Sci Rep. Nov* 9;8(1)
5. A. Yamanaka et al. (2021). *mSphere. Aug* 25 ;6(4)
6. Tuberculosis and Infectious Diseases Division, Health Bureau, Ministry of Health, Labor and Welfare, and National Institute of Infectious Diseases (2021), Infectious Disease Epidemic Forecasting Survey Committee, 2021 National Epidemiological Surveillance of Vaccine-Preventable Diseases Project Testing Method, 2021.
7. Tuberculosis and Infectious Diseases Control Division, Health Service Bureau, Ministry of Health, Labour and Welfare, Government of Japan Infectious Disease Surveillance Center, National Institute of Infectious Diseases, Japan (2023). Annual Report 2021 National Epidemiological Surveillance of Vaccine-Preventable Diseases. <https://www.niid.go.jp/niid/images/epi/yosoku/AnnReport/2021/00.pdf>.
8. T. Maeki et al. (2021). *mSphere. Aug* 25;6(4)

富山県における病原微生物検出情報(2024年)

齋藤 和輝 清水 ひな 池田 佳歩 大島 萌愛
木全 恵子 金谷 潤一 大石 和徳

Pathogenic Bacteria Isolated in Toyama Prefecture in 2024

Kazuki SAITO, Hina SHIMIZU, Kaho IKEDA, Moe OSHIMA
Keiko KIMATA, Jun-ichi KANATANI, and Kazunori OISHI

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

方法：2024 年 1 月から 12 月までの検出情報を菌種別（図 1）および材料別（表 1，2）に集計した。医療機関で分離された *Staphylococcus aureus* については，Methicillin-Resistant *S. aureus* (MRSA)

の検出率（表 3）を算出した。

結果：医療機関における分離数 18,466 株は，昨年の 18,028 株と比較して 2.4%増加した（表 1）。菌種別では *Escherichia coli* が分離数 5,248 株（28.4%）と最も多かった（図 1）。次いで，*S. aureus*（MRSA を含む）4,606 株（24.9%），コアグラールゼ陰性 *S. aureus* 1,715 株（9.3%），*Pseudomonas aeruginosa* 1,439 株（7.8%），*Enterococcus spp.*

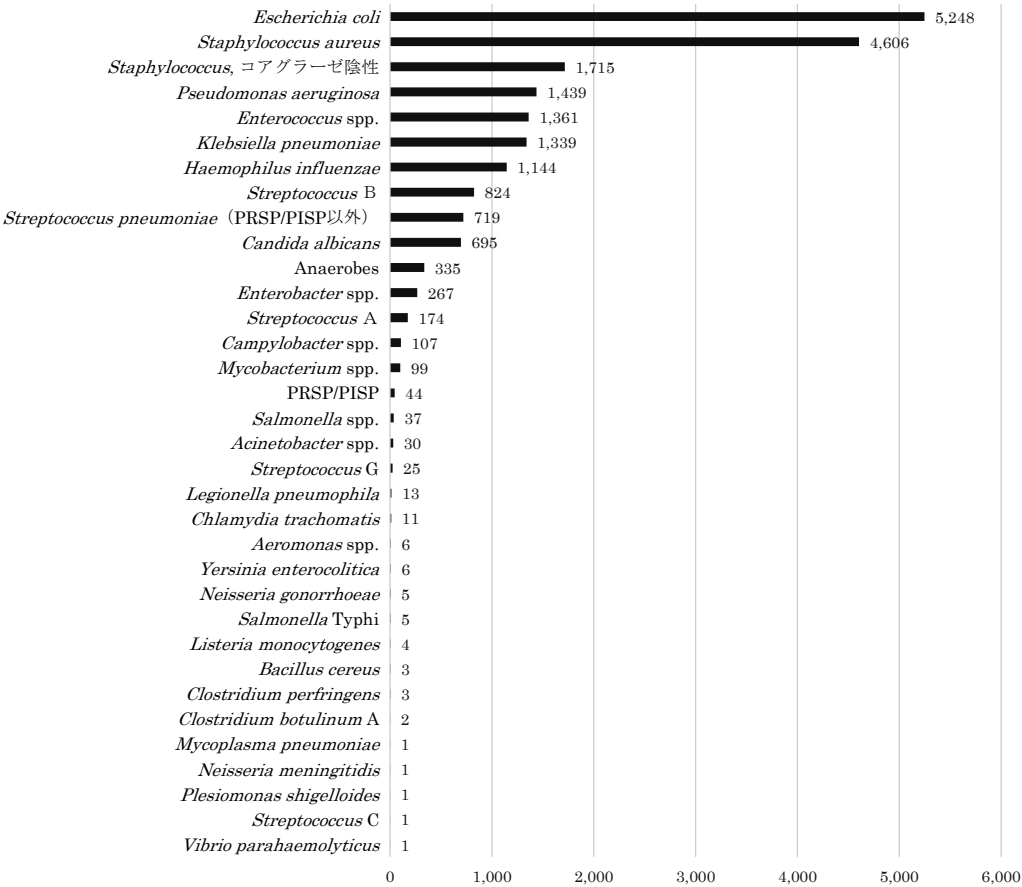


図 1. 2024 年における菌種別病原細菌分離状況（医療機関，保健所および地衛研を含む）

表 1. 材料別病原細菌分離状況 (医療機関のみ)

分離材料	分離数	割合 (%)
糞便	427	2
穿刺液 (胸水, 腹水, 関節液など)	420	2
髄液	4	0
咽頭および鼻咽喉からの材料	1,365	7
尿	8,376	45
血液	2,767	15
喀痰, 気管吸引液および下気道からの材料	4,184	23
陰部尿道頸管擦過 (分泌物)	923	5
合計	18,466	100

1,361 株 (7.4%) と, 上位 4 菌種は昨年と同様であった。昨年 5 番目に分離数が多かった *Klebsiella pneumoniae* は, 今年は 6 番目の分離数であった。

検出材料別 (表 1) では, 尿からが 8,376 株 (45.4%) 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 4,184 株 (22.7%), 血液から 2,767 株 (15.0%) の順であった。これらの材料からの分離菌で全体の 83.1% を占め, この傾向は昨年と同様であった。

以下に材料別の分離状況について報告する。

糞便: 分離菌株数は, 医療機関からの報告が 427 株 (前年比 72.1%) であった (表 2-1) ①)。最も多かったのは MRSA 100 株を含む *S. aureus* 171 株 (前年比 72.8%) であった。次に多かったのは *E. coli* (EPEC) 102 株 (前年比 59.0%) であった。*E. coli* 腸管出血性 (EHEC/VTEC) は保健所・地衛研から 11 株が分離された (表 2-2))。 *Campylobacter* は, 医療機関から 106 株 (前年比 88.3%), 保健所・地衛研から 1 株が分離された。

穿刺液: 分離菌数は 420 株 (前年比 106.3%) であった (表 2-1) ②)。嫌気性菌, *E. coli*, コアグラウゼ陰性 *S. aureus* および *S. aureus* (MRSA 以外) などが多く分離された。

髄液: 分離菌数は 4 株であり, *E. coli* が 2 株, MRSA および *Streptococcus B* がそれぞれ 1 株ずつ分離された (表 2-1) ③)。

血液: 分離菌数は 2,767 株 (前年比 110.0%) であった (表 2-1) ④)。 *E. coli* 1,188 株, コアグラウゼ陰性 *S. aureus* 857 株, *S. aureus* (MRSA 以外) 252 株, MRSA 133 株で 87.8% を占めた。

咽頭および鼻咽頭: 分離菌数は 1,365 株 (前年比 103.9%) であった (表 2-1) ⑤)。 *S. pneumoniae* 487 株 (前年比 139.9%), *H. influenzae* 725 株 (前年比 86.4%) で全体の 88.8% を占めた。

喀痰, 気管吸引液および下気道: 分離菌数は 4,184 株 (前年比 100.0%) であった (表 2-1) ⑥)。 *S. aureus* (MRSA 以外) 969 株がもっとも多く, 次いで MRSA, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* が多く分離された。

尿: 分離菌数は 8,376 株 (前年比 104.6%) であった (表 2-1) ⑦)。 *E. coli* 3,860 株がもっとも多く, 尿からの分離菌のおよそ半数を占めた。次いで *Enterococcus spp.*, コアグラウゼ陰性 *Staphylococcus*, *K. pneumoniae* などが多く分離された。

陰部尿道頸管擦過 (分泌物): 分離菌数は 923 株 (前年比 91.0%) であった (表 2-1) ⑧)。昨年同様 *Streptococcus B*, *Candida albicans* が多く分離された。

材料別 MRSA 分離率: 集計結果を表 3 に示す。年間を通した MRSA 分離率は 28.0% であった。特に, 糞便から 58.5%, 喀痰, 気管吸引液および下気道からの材料から 46.5% と, それぞれ高い分離率を示した。その他に穿刺液, 尿および血液からは 10 ~ 15% 程度の分離率であり, 髄液, 咽頭および鼻咽喉からの材料, および陰部尿道頸管擦過 (分泌物) からは分離されなかった。

謝 辞

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

表 2. 月別・菌種別病原体微生物検出状況

1) 医療機関からの分離菌

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	検出数	輸入例
<i>Escherichia coli</i> 病原大腸菌血清型(EPEC)	7	9	14	9	8	6	6	3	6	15	9	10	102	0
<i>Salmonella</i> O4	0	0	1	1	0	0	2	2	0	1	0	0	7	0
<i>Salmonella</i> O7	1	1	0	1	0	0	1	1	3	2	2	0	12	0
<i>Salmonella</i> O8	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	3	0	6	0
<i>Salmonella</i> O9	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	5	0
<i>Salmonella</i> 群不明	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	1	2	1	1	6	0
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2	0
<i>Aeromonas sobria</i>	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0
<i>Aeromonas hydrophila/sobria</i> 種別せず	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	2	0
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
<i>Campylobacter jejuni</i>	2	5	2	3	4	2	2	1	4	4	2	9	40	0
<i>Campylobacter coli</i>	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	2	0
<i>Campylobacter jejuni/coli</i> 種別せず	3	7	4	1	6	9	7	7	4	3	6	7	64	0
MRSA	12	12	7	8	8	6	6	10	7	8	13	3	100	0
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA以外)	8	9	9	10	12	3	3	4	4	4	1	1	71	0
<i>Clostridium perfringens</i>	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	3	0
合計	37	43	39	35	40	28	30	29	32	41	42	31	427	0

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	検出数	輸入例
<i>Escherichia coli</i>	7	7	7	9	4	8	8	10	6	8	4	7	85	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	2	0	3	0	1	2	3	7	3	2	4	29	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	2	6	2	3	2	4	3	5	3	2	2	35	0
<i>Mycobacterium</i> spp.	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
MRSA	3	4	1	1	2	3	0	2	3	2	0	2	23	0
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA以外)	6	4	5	5	1	8	4	3	2	4	2	2	46	0
<i>Staphylococcus</i> , コアグラールゼ陰性	1	7	3	3	10	4	3	7	6	11	1	5	61	0
PRSP/PISP	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
Anaerobes	16	11	16	8	20	17	8	12	9	9	5	8	139	0
合計	36	37	39	31	40	43	30	40	38	40	16	30	420	0

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	検出数	輸入例
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	2	0
MRSA	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0
<i>Streptococcus</i> B	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
合計	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	4	0

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	検出数	輸入例
<i>Escherichia coli</i>	118	100	96	84	108	100	97	117	84	84	96	104	1,188	0
<i>Salmonella</i> Typhi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	1	3	2
<i>Salmonella</i> spp.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	2	0
<i>Haemophilus influenzae</i>	2	0	1	1	0	1	0	2	0	0	4	2	13	0
<i>Neisseria meningitidis</i>	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Listeria monocytogenes</i>	0	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	4	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	12	7	2	6	8	8	5	7	9	19	9	103	0
MRSA	14	9	15	9	9	4	11	12	5	20	9	16	133	0
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA以外)	28	31	40	23	15	17	15	19	16	7	20	21	252	0
<i>Staphylococcus</i> , コアグラールゼ陰性	69	66	62	65	60	78	82	95	81	65	54	80	857	0
<i>Streptococcus</i> B	9	5	7	3	1	5	7	7	5	5	6	1	61	0
PRSP/PISP	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	3	0
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (PRSP/PISP以外)	2	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	4	9	0
Anaerobes	20	8	8	16	7	16	12	15	13	6	9	8	138	0
合計	274	232	238	205	207	230	232	272	212	197	221	247	2,767	2

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	検出数	輸入例
<i>Haemophilus influenzae</i>	48	40	51	53	82	83	61	56	42	35	59	115	725	0
<i>Streptococcus</i> A 型別せず	21	19	18	12	11	8	6	2	10	2	6	7	122	0
PRSP/PISP	0	0	3	2	5	3	3	2	2	4	3	4	31	0
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (PRSP/PISP以外)	19	13	20	32	68	61	50	63	40	34	39	48	487	0
合計	88	72	92	99	166	155	120	123	94	75	107	174	1,365	0

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	検出数	輸入例
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	4	1	0	3	1	1	1	6	3	2	1	1	24	0
<i>Mycobacterium avium</i> ・intracellular complex	4	2	8	5	5	2	6	13	9	6	10	4	74	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	51	39	41	30	42	38	57	64	71	41	58	49	581	0
<i>Haemophilus influenzae</i>	55	24	34	31	42	23	30	33	26	22	42	44	406	0
<i>Legionella pneumophila</i>	0	0	1	0	2	1	0	0	0	0	1	0	5	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	61	61	57	43	52	43	63	69	70	69	66	75	729	0
MRSA	104	88	91	71	71	60	61	67	49	51	60	68	841	0
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA以外)	114	101	73	70	77	74	65	89	71	76	72	87	969	0
<i>Streptococcus</i> A 型別せず	4	1	3	3	3	0	2	1	1	3	2	2	25	0
<i>Streptococcus</i> B	26	23	30	19	18	18	15	18	14	19	22	17	239	0
PRSP/PISP	0	0	1	1	1	1	0	0	0	2	2	1	9	0
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (PRSP/PISP以外)	11	20	13	16	29	15	20	23	16	16	20	24	223	0
Anaerobes	5	0	10	7	2	3	3	6	3	7	3	9	58	0
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0
合計	439	360	362	299	345	279	323	390	333	314	359	381	4,184	0

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	検出数	輸入例
<i>Escherichia coli</i>	362	332	345	273	305	319	304	342	329	312	302	335	3,860	0
<i>Enterobacter</i> spp.	22	17	26	16	18	25	13	27	20	31	36	16	267	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	79	61	55	49	50	41	65	63	67	70	66	63	729	0
<i>Acinetobacter</i> spp.	5	3	2	0	2	1	1	5	2	4	3	2	30	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	51	49	40	35	41	41	46	54	42	58	55	60	572	0
MRSA	23	12	17	19	13	17	22	18	10	12	16	11	190	0
<i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA以外)	23	25	22	33	20	24	21	23	14	24	19	17	265	0
<i>Staphylococcus</i> 、コアグラールゼ陰性	64	71	63	56	56	70	59	80	67	85	58	68	797	0
<i>Enterococcus</i> spp.	120	128	114	115	110	107	119	123	106	103	111	105	1,361	0
<i>Candida albicans</i>	20	54	23	15	25	20	17	21	29	22	33	26	305	0
合計	769	752	707	611	640	665	667	756	686	721	699	703	8,376	0

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	検出数	輸入例
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1	1	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	5	0
<i>Streptococcus</i> B	47	26	37	39	50	50	45	48	48	43	38	46	517	0
<i>Chlamydia trachomatis</i>	1	1	0	2	1	0	1	0	0	1	2	2	11	0
<i>Candida albicans</i>	32	31	28	26	33	31	25	45	46	35	26	32	390	0
合計	81	59	65	67	84	83	71	94	94	79	66	80	923	0

2) 保健所・地衛研からの分離菌

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	検出数	輸入例
<i>Escherichia coli</i> 腸管出血性(EHEC/VTEC)	1	1	0	2	0	0	1	1	2	3	0	0	11	2
<i>Salmonella</i> Typhi	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	2
<i>Salmonella</i> O4 Not typed	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Salmonella</i> O7 Not typed	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Salmonella</i> O7 Infantis	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
<i>Salmonella</i> O9 Enteritidis	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Campylobacter jejuni</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	2	0
<i>Clostridium botulinum</i> A	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0
<i>Bacillus cereus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	3	0
<i>Streptococcus</i> A 型別せず	0	0	0	0	0	0	0	10	4	4	5	4	27	0
<i>Streptococcus</i> 上記以外 B	0	0	0	0	0	0	0	0	4	2	0	0	6	0
<i>Streptococcus</i> 上記以外 C	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
<i>Streptococcus</i> 上記以外 G	0	0	0	0	0	0	0	1	0	11	13	0	25	0
<i>Legionella pneumophila</i>	1	1	0	0	1	0	1	2	0	1	1	0	8	0
合計	2	2	1	2	2	1	2	16	12	24	23	5	92	4

表 3. 材料別および月別のMRSA 分離率 *

	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	60.0	57.1	43.8	44.4	40.0	66.7	66.7	71.4	63.6	66.7	76.5	75.0	5
穿刺液(胸水、腹水、関節液など)	30.0	26.7	11.1	11.1	15.4	20.0	0.0	16.7	27.3	11.8	0.0	22.2	1
髄液	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
咽頭および鼻咽喉からの材料	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	
尿	20.9	11.1	16.7	17.6	14.6	15.3	21.6	14.9	11.0	9.9	17.2	11.5	1
血液	12.6	8.5	12.8	9.3	10.7	4.0	10.2	9.5	4.9	21.7	10.8	13.7	1
喀痰、気管吸引液および下気道からの材料	47.7	46.6	55.5	50.4	48.0	44.8	48.4	42.9	40.8	40.2	45.5	43.9	4
陰部尿道頸管擦過(分泌)物	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	

*分離率(%):(MRSA 分離数/*S. aureus* 分離数)×100

富山県内の腸管出血性大腸菌感染症発生状況(2024年)

木全 恵子 金谷 潤一 齋藤 和輝 池田 佳歩
大島 萌愛 清水 ひな 林 寛子¹ 大石 和徳

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Infectious Diseases Detected in Toyama Prefecture in 2024

Keiko KIMATA, Jun-ichi KANATANI, Kazuki SAITO, Kaho IKEDA,
Moe OSHIMA, Hina SHIMIZU, Hiroko HAYASHI, and Kazunori OISHI

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

当所では県内で発生したEHEC 感染症について分離株の収集・解析を行っている。2024年1月から12月までに富山県において発生したEHEC 感染事例は25件、感染者は26名であった。以下に2024年の富山県におけるEHEC 感染症の発生状況について、概要、疫学的解析結果を報告する。

材料と方法：2024年1月から12月までに富山県で発生したEHEC 感染事例25件の届出について、感染者の年齢層、性別および症状の有無の3つの項目について集計した。

また、分離株の細菌学的解析は、菌株を入手できなかった県外発生事例（表1 事例 No.20）1件を除いた24件について行った。

分離株のO血清群およびH血清型は市販抗血清（デンカ）を用いて型別した。市販抗血清で型別できない場合は既報の遺伝子型別を行った [1, 2, 3]。遺伝子型別により決定したO血清群およびH血清型はそれぞれOg, Hgと記載した。

薬剤感受性試験は、13薬剤（ノルフロキサシン、ナリジクス酸、カナマイシン、ゲンタマイシン、ホスホマイシン、アンピシリン、SXT 合剤、

テトラサイクリン、ストレプトマイシン、セファゾリン、クロラムフェニコール、セフトジジム、セフォタキシム）について行った。CLSI のプロトコールに準拠し、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。また、阻害剤を用いたβ-ラクタマーゼ産生性の確認およびβ-ラクタマーゼ遺伝子のPCR による検出は既報に従い行った [4, 5]。

表 1. 富山県腸管出血性大腸菌感染症発生状況 (2024)

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}	β ₂ 毒素 遺伝子型
1	2024.1	1	散発	O157:Hg7	str1str2
2	2024.2	1	散発	O157:H7	str2
3	2024.4	1	散発	Og156:Hg25	str1
4	2024.4	1	散発	Og174:Hg34	str2
5	2024.5	1	散発	Og126:Hg27	str1
6	2024.6	1	散発	O157:Hg7	str2
7	2024.7	2	集団	O157:Hg7	str1str2
8	2024.7	1	散発	Og174:Hg8	str1
9	2024.7	1	散発	O157:Hg7	str1str2
10	2024.7	1	散発	O157:H7	str1str2
11	2024.8	1	散発	O157:Hg7	str2
12	2024.8	1	散発	O157:Hg7	str2
13	2024.8	1	散発	O146:Hg21	str2
14	2024.9	1	散発	O26:H11	str1
15	2024.9	1	散発	O157:H7	str2
16	2024.9	1	散発	OgSB18:Hg7	str2
17	2024.9	1	散発	O157:Hg7	str1str2
18	2024.9	1	散発	O157:Hg7	str2
19	2024.10	1	散発	O157:H7	str2
20	2024.10	1	散発	O157:HNT	str1str2
21	2024.10	1	散発	OgGp3:Hg16	str1
22	2024.10	1	散発	O91:Hg14	str1
23	2024.11	1	散発	O103:Hg2	str1
24	2024.12	1	散発	O157:Hg7	str1str2
25	2024.12	1	散発	Og48va:Hg45	str2

O157: 14件(15名), Og174: 2件(2名), Og126: 1件(1名), O146: 1件(1名), O26: 1件(1名), OgSB18: 1件(1名), OgGp3: 1件(1名), O91: 1件(1名), O103: 1件(1名), Og156: 1件(1名), Og48va: 1件(1名) 計25件(26名)

^{※1} 遺伝子型別により決定したO血清群、H血清型はそれぞれOg、Hgと表記した

1. 富山市保健所

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

O157, O26, O111 の multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) は当所で、O103 および O91 の MLVA は国立感染症研究所で行った [6]。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。得られた MLVA の各標的遺伝子座の反復配列数情報に基づいて国立感染症研究所で付与された MLVA 型 (MLVA type) を示した。また、1 遺伝子座の反復配列数のみ異なる MLVA 型は遺伝的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、コンプレックス型 (MLVA comp) として標記した (表3)。また、互いに2つの遺伝子座の反復配列数が異なる MLVA 型は関連する可能性を示し、3つ以上の遺伝子座の反復配列数が異なる MLVA 型は遺伝的関連性がないと判定した [7]。

結果：

2024 年における EHEC 感染症発生状況：2024 年の富山県における EHEC 感染事例は散发事例が24件、集団事例が1件であった。これらの内訳は、EHEC O157 感染事例が14件、15名、EHEC Og174 感染事例が2件、2名、EHEC Og126, O146, O26, OgSB18, OgGp3, O91, O103, Og156, Og48va 感染事例がそれぞれ1件、1名であった (表1)。このうち健康診断で探知された感染事例は散发事例10件 (表1 事例 No. 3, 4, 6, 8, 13, 16, 21, 22, 23 および 25) であった。事例数、感染者数はそれぞれ前年比 1.0, 0.93 (25 件, 28 名) で、前年とほぼ同様であった (表1)。事例数及び感染者数の月別動向を図1に示した。2024 年は7月から10月にかけて事例数の64% (16

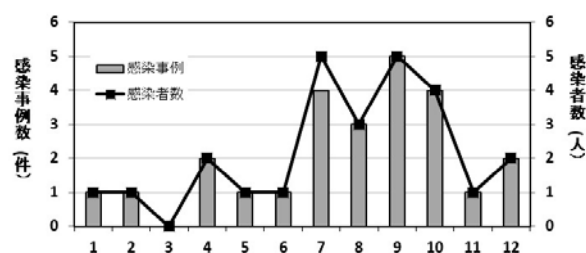


図1. 富山県における腸管出血性大腸菌感染症月別発生動向 (2024)

件/25件)とEHEC感染症が多く発生した。感染者に対する有症者の割合は65.4% (17名/26名)であった。年代別の割合は20歳代が、34.6% (9名/26名)を占めていた (図2)。男女比は男性38.5%, 女性61.5%で女性がやや多い傾向がみられた。

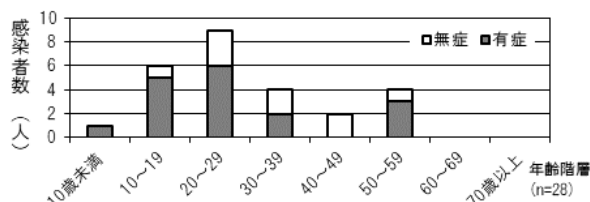


図2. 年齢別腸管出血性大腸菌感染症発生状況

分離株の薬剤感受性：表1の事例 No.20 をのぞく各事例の代表24株について、薬剤感受性試験を行った。供試菌株の45.8% (11株/24株)が、上述の13薬剤のいずれかに耐性を示した (表2)。このうち事例 No.2, 11 および15 で同一薬剤耐性パターンを示す菌株が検出された。これらの株は4剤 (SXT 合剤, クロラムフェニコール, ストレプトマイシン, テトラサイクリン) 耐性であったが、事例間の関連性は不明であった。また、5剤以上耐性株が事例 No.19, 21, 23 で検出された。

表2. 分離株の薬剤感受性

事例No	分離株血清型	ペロ毒素遺伝子型	耐性を示した抗菌剤*
2	O157:H7	<i>stx2</i>	ST CP SM TC
4	Og174:Hg34	<i>stx2</i>	CP
5	Og126:Hg27	<i>stx1</i>	ABPC CEZ
11	O157:Hg7	<i>stx2</i>	ST CP SM TC
12	O157:Hg7	<i>stx2</i>	CP
15	O157:H7	<i>stx2</i>	ST CP SM TC
19	O157:H7	<i>stx2</i>	ABPC ST CP SM TC
21	Og3p3:Hg16	<i>stx1</i>	ABPC KM ST CP SM TC
22	O91:Hg14	<i>stx1</i>	SM
23	O103:Hg2	<i>stx1</i>	ABPC GTX GM ST CP SM TC CEZ
25	Og48va:Hg45	<i>stx2</i>	SM TC

* ABPC:アンピシリン, ST:SXT合剤, CP:クロラムフェニコール, SM:ストレプトマイシン, TC:テトラサイクリン, KM:カナマイシン, GTX:セフトキシム, GM:ゲンタマイシン, CEZ:セファゾリン

分離株の病原因子：表1の事例 No.20 をのぞく各事例の代表24株のペロ毒素遺伝子型は、*stx1* *stx2* 保有型が6株、*stx2* 保有型が11株、*stx1* 保有型が7株であった。事例 No.3 および事例 No.5 の分離株 Og156 (*stx1*), Og126 (*stx1*) は *astA* を保有していた。また、供試菌株の29.2% (7株/24株)が、*eae*を保有していなかった。*eae*を保有していなかった株はすべて non-O157 の EHEC であった [事例 No.4 Og174(*stx2*), 事例 No.5 Og126 (*stx1*), 事例 No.8 Og174 (*stx1*), 事例 No.13 Og146 (*stx2*), 事例 No.16 OgSB18 (*stx2*), 事例 No.22 O91

(*str1*), 事例 No.25 Og48va (*str2*)].

O157, O26, O111 の MLVA による遺伝子型別：表 3 に 2024 年に県内で分離された O157, O26 の各事例分離株について、当所で取得した MLVA の各標的遺伝子座の反復配列数と、MLVA 型 (表 3, MLVA type) およびコンプレックス型 (表 3, MLVA comp) を示した。また、遺伝子座で 2 種類の反復配列数が検出された場合は、表 3 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。

EHEC O91 (事例 No.22) と EHEC O103 (事例 No.23) は国立感染症研究所で型別された。

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.7 および 9 (表 3, MLVA 型 24m0122, MLVA コンプレックス 24c012) であった。これらの事例は 2024 年 7 月に発生した感染事例であったが、事例間の関連性は不明であった。

国立感染症研究所の MLVA による分子疫学サーベイランスの結果、2024 年に全国 5 機関以上の地衛研等から検出された広域流行株の MLVA 型または MLVA コンプレックスは、49 種類であった [8]。このうち、本県で検出された広域流行株の MLVA 型および、MLVA コンプレックスは事例 No.10 の 20m0093, No.11 の 22m0275, No.18 の 24c049 および No.19 の 24c047 (表 3) であった。

2024 年に本県で検出された MLVA 型は、O157 が 12 タイプ、O26・O103・O91 がそれぞれ 1 タイプであった。他県の EHEC 感染事例と同じ MLVA 型または MLVA コンプレックスは、O157 で 8 種

類 (表 1, 事例 No.1, 2, 7, 10, 11, 12, 18 および 19), O103 が 1 種類 (表 1, 事例 No.23) 検出された (表 3)。このうち、事例 No.7 は県外の食中毒に関連した事例であった。事例 No.18 および事例 No.19 と県外事例との関連性について、詳細は後述のとおりである。事例 No.7, 18 および 19 を除く他の事例について、他県の同じ MLVA 型または MLVA コンプレックスが検出された感染事例との関連性は不明であった。

特記すべき事例の報告：2024 年の感染事例のうち、上述の広域流行株以外の事例について以下に詳細を報告する。

韓国渡航歴を有する複数の EHEC 感染事例について：2024 年 9 月から 10 月にかけて、韓国渡航歴を有する EHEC 感染事例が 4 件報告された (表 1 事例 No.14, 15, 18, 19)。これらの事例間で MLVA 型は異なっていたが、いずれの事例も感染を疑われる時期に韓国に渡航していた。管轄の保健所・厚生センターの調査から、1 事例をのぞき、これらの事例では現地での生肉の喫食 (牛ユッケ, 牛レバー刺しなど) が認められた。また、複数の都府県で事例 No.18 および事例 No.19 と同一 MLVA 型もしくは MLVA コンプレックスの EHEC が検出された。これらの事例には、韓国に渡航歴のある事例が複数含まれていた。当所では感染症情報センターを通じ、海外旅行における生肉の喫食について注意喚起を行った [9]。

国外の生食用食肉の提供の法規制や衛生管理等は国・地域で異なっており、加熱不十分な肉類には EHEC 感染の危険性がある。このため、渡航先での生食用食肉の喫食は避けるなど、注意が必要である [10]。

基質拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) 産生性

表 3. MLVA における各標的遺伝子座の反復配列数

事例No.	血清型	MLVAtype	MLVAcomp	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
1	O157	23m0604		2	-2	1	4	-2	5	4	2/11	-2	11	12	13	9	7	6	3	7
2	O157	24m0022		2	-2	1	8	-2	9	5	-2	-2	10	9	7	4	4	7	11	8
6	O157	18m0151		2	-2	1	1	-2	6	7	-2	-2	-2	5	10	5	3	8	6	7
7	O157	24m0122	24c012	2	-2	1	3	-2	6	4	7	-2	14	12	11	5	7	5	7	5
9	O157	24m0122	24c012	2	-2	1	3	-2	6	4	7	-2	14	12	11	5	7	5	7	5
10	O157	20m0093	25c004	2	-2	1	5	-2	7	4	-2	-2	16	13	11	7	8	6	6	7
11	O157	22m0275		2	-2	1	6	-2	7	6	-2	-2	8	9	16	5	4	7	9	5
12	O157	24m0316		2	-2	1	4	-2	6	4	3	12	9	12	13	10	7	6	3	6
15	O157	24m0490		2	-2	1	6	-2	10	5	-2	-2	7	9	14	5	4	7	11	6
17	O157	24m0489		2	-2	1	4	-2	5	4	-2	-2	14	11	16	7	6	6	3	6
18	O157	24m0393	24c049	2	-2	1	6	-2	8	5	-2	8	9	9	11	5	4	8	12	8
19	O157	24m0461	24c047	2	-2	1	6	-2	8	5	-2	-2	8	9	-2	5	4	7	3	6
24	O157	24m0696		2	-2	1	4	-2	6	4	7/10	-2	12	12	11	4	7	6	7	6
O26																				
事例No.	血清型	MLVAtype	MLVAcomp	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
14	O26	16m2155		2	1	1	2	3	11	17	-2	-2	-2	1	9	2	-2	1	-2	-2
O91・O103																				
事例No.	血清型	MLVAtype	MLVAcomp																	
22	O91	16m8011																		
23	O103	24m4039																		

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

EHEC が分離された感染事例：2024 年 11 月に EHEC O103 による散発感染が1件報告された(表1, 事例 No.23)。感染者は健康診断で探知された無症状病原体保有者であった。本事例と同一 MLVA 型の EHEC O103 は他県で1例報告されているが、関連性は不明であった。

この事例の分離株について、薬剤感受性試験を行った結果、 β -ラクタマーゼ産生株であることが推測された(表2)。このため、 β -ラクタマーゼ遺伝子および β -ラクタマーゼ産生性の解析を行った[4, 5]。その結果、本菌がCTX-M1 group 型 ESBL 産生 EHEC であることが判明した。ESBL とは、ペニシリン系抗菌薬を分解する β -ラクタマーゼ(ペニシリナーゼ)が遺伝子変異によって、本来分解できなかったセファロスポリン系抗菌薬まで分解可能となった基質拡張型 β -ラクタマーゼである。このため、ESBL 産生菌はペニシリン系抗菌薬耐性に加え、セファロスポリン系抗菌薬耐性を示し、治療に用いる抗菌薬の選択範囲が限られる。本県での ESBL 産生 EHEC による感染事例は本事例が初めてであった。

考察：2024 年の EHEC 感染事例数および EHEC 感染者数は、25 件、26 名であり、新型コロナウイルス感染症流行前の2012年から2019年の本県の感染事例数および感染者数の平均値(19.1 件、36.6 名)の131%、71.0%であった。新型コロナウイルス感染症流行期であった2021年および2022年の EHEC 感染事例数は新型コロナウイルス感染症流行前の平均値に対して約80%前後(83.8%、78.5%)であった。しかし、新型コロナウイルス感染症が5類感染症に指定され、感染症対策が緩和された2023年以降、2023年および2024年は共に131%と増加傾向がみられ、新型コロナウイルス感染症流行前の平均を上回る事例数を示した。この増加傾向の要因のひとつとして、感染症対策緩和による影響の可能性も考えられるが、原因は明確ではない。今後、EHEC の発生状況に注意する必要がある。

また、2024 年は、ESBL 産生性 EHEC による感染事例が県内で初めて報告された。

今回検出された EHEC は遺伝子型 CTX-M1 group の β -ラクタマーゼを保有していた。ESBL 産生遺伝子はプラスミド上に存在し、菌株や菌種間で伝播することから、本菌株も他の菌から

ESBL 産生遺伝子をコードするプラスミドを獲得し、第3世代セファロスポリン；セフトキシム(CTX)や、第1世代セファロスポリン；セファゾリン(CEZ)などのセファロスポリン系抗菌薬に耐性を獲得したと考えられる(表2 事例 No.23)。

このように、EHEC においても薬剤耐性を獲得する株が検出されていることから、今後も EHEC における薬剤耐性について監視する必要があると考える。

謝 辞

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

文 献

1. Iguchi A, Iyoda S, Seto K, et al. (2015). J Clin Microbiol, 53, 2427-2432
2. Iguchi A, Nishii H, Seto K, et al. (2020). J Clin Microbiol, 58, e01493-20
3. Banjo M, Iguchi A, Seto K, et al. (2018). J Clin Microbiol, 56, e00190-18
4. 国立感染症研究所 病原体検出マニュアル 薬剤耐性菌, 39-42
<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/AMR20240321.pdf>
5. Watahiki M, Kawahara R, Suzuki M, et al. (2020) Jpn J Infect Dis., 7, 166-172
6. Pei Y, Terajima J, Saito Y, et al. (2008). Jpn J Infect Dis, 61, 58-64
7. 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
8. 泉谷秀昌, 李 謙一, 伊豫田淳, 他. (2025) 病原微生物検出情報, 46, 103-104
9. 富山県感染症情報センター (2024) 感染症発生動向速報(令和6年第41週分) <https://www.pref.toyama.jp/documents/38998/kansen2441wa.pdf>
10. 村井達哉, 森 秀哉, 田才愛子, 他. (2025) 病原微生物検出情報, 46, 104-106

富山県内で分離された溶血性レンサ球菌の細菌学的解析(2024 年)

池田 佳歩 清水 ひな 齋藤 和輝 大島 萌愛
金谷 潤一 木全 恵子 柴山 直美¹ 野口 範子¹
堀江 妙子¹ 長澤 亜実¹ 池辺 忠義² 大石 和徳

Serotypes and Antibiotic Susceptibilities of Clinical Hemolytic Streptococcal Isolates in Toyama Prefecture in 2024

Kaho IKEDA, Hina SHIMIZU, Kazuki SAITO, Moe OSHIMA,
Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA, Naomi SHIBAYAMA, Noriko NOGUCHI,
Taeko HORIE, Ami NAGASAWA, Tadayoshi IKEBE, and Kazunori OISHI

目的：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起こすだけでなく、時には進行が早く、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。

2023年に全国の劇症型溶レン菌感染症の患者から分離され、レファレンスセンターで検査された溶レン菌は、A群（186株）がG群（148株）よりも多かった。

全国の劇症型溶レン菌感染症の報告数は、2024年に1,888例と過去最高となった。また、M1_{UK}株と呼ばれる病原性の高い株も検出されるようになっていく。劇症型となる要因や発生機序は未だ明らかではないため、流行株の調査を実施することは重要である。

当所では、衛生微生物技術協議会溶レン菌レファレンスセンターの東海・北陸支部センターとして、A群溶レン菌の血清型別や劇症型溶レン菌感染症由来株の収集および疫学調査を実施している。ここでは、2024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

2024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、2024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37株について、T血清型別を実施した。型別は「T型別用免疫血清」（デンカ）を用いてスライド凝集反応にて行った。

(3) 劇症型溶レン菌感染症患者分離株の病原体サーベイランス

2024年に富山県内で届出された劇症型溶レン菌感染症は22例であった。これらのうち、収集された19株について、群別、T血清型別、菌種同定、*emm*遺伝子型別、M1_{UK}株の検出、発熱毒素遺伝子検査を実施した。群別試験は、「ストレプトLA NX」（デンカ）を用いた。T血清型別は、上記の(2)A群溶レン菌の血清型別と同様に行った。菌種同定は、「API 20 STREP」（バイオメリュー）を用いた。*emm*遺伝子型別およびM1_{UK}株の検出、発熱毒素遺伝子検査は、国立感染症研究所細菌第一部にて実施した。

結果と考察：

(1) 感染症発生動向調査による患者数

富山県における2024年のA群溶レン菌咽頭炎の患者報告数は6,016人（定点あたり214.86人）で、定点報告数をこれまでと比較すると、2023年（128.38人）のおよそ1.7倍、2022年（17.76人）のおよそ12.1倍に増加した。またCOVID-19流行前の2019年（115.1人）と比較すると1.7倍であった[1]。この患者数の増加の一因として、

1. 富山市民病院, 2. 国立感染症研究所

COVID-19 が5類に位置付けられて以降、感染対策が緩やかになっていることが少なからず影響しているものと考えられる。

一方、2024年の劇症型溶レン菌感染症の患者報告数は22人で、2023年（13人）のおよそ1.7倍と増加した（図1）。感染率（対10万人感染者数）は2.16と全国（1.51）より高い状況が続いており、動向の監視が必要である。

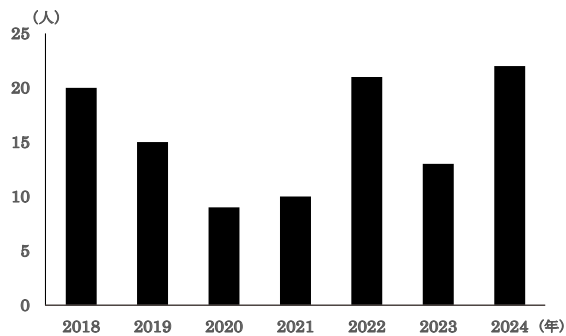


図1. 劇症型溶レン菌感染症患者報告数の推移（富山県）

(2) A群溶レン菌のT血清型別

2024年に収集されたA群溶レン菌は37株と昨年の17株に比べて2倍以上となった。T型別の内訳は、T-1が12株（32.4%）、T-12が4株（10.8%）と多く、T-4、T-13とT-14/49が各2株、T-9、T-11、T-B3264、T-5/27/44が各1株で、残る11株（29.7%）はすべて型別不能（UT）であった。2021、2022年の2年間は型別不能株数が約90%以上と高かったが、昨年47.1%と減少し、2024年も29.7%と減少傾向が続いた。（図2）この一因として、2021および2022年に分離数の少なかったT-1およびT-12が2024年に増加したことが考えられた。

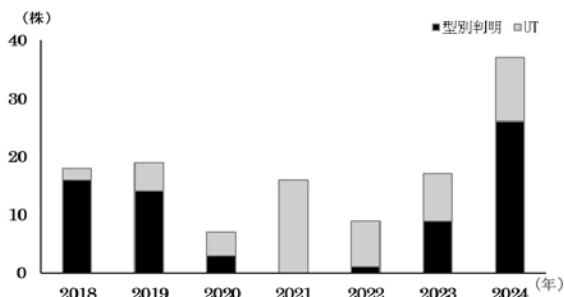


図2. A群溶レン菌のT血清型別結果（富山県）

(3) 劇症型溶レン菌感染症患者分離株の病原体サーベイランス

収集した劇症型溶レン菌感染症患者から分離された溶レン菌19株について、検査結果を表1に示した。血清群別の結果、10株（53.0%）がA群、7株（37.0%）がG群、2株がB群であった。A群はすべて*S. pyogenes*で、T型は1型が6株、T-12、T-B3264が各1株、UTが2株であった。*emm*型は、*emm1*が6株、*emm12*、*emm49*、*emm77*、*emm89*が各1株であった。*emm1*型はすべてM1_{UK} lineage株であり、従来株であるM1_{global}株はなかった。

G群はすべてが*S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*で、それらの*emm*型は*stG6792*が3株で*stG840*、*stG485*が各2株であった。

謝 辞

本調査の実施にあたり、菌株を分与いただきました県内医療機関の関係各位に深謝いたします。また、菌株の収集にご協力いただきました県内厚生センター、富山市保健所に深謝いたします。

文 献

1. 国立健康危機管理研究機構
国立感染症研究所
IDWR速報データ2024第52週
<https://id-info.jihs.go.jp/surveillance/idwr/rapid/2024/52/index.html>
(2025年3月31日アクセス可能)

表 1. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者からの分離菌の解析結果 (2024 年富山県)

No.	発症月	性別	年代	菌種	群別	血清型	emm型	M1 _{UK}	spe
1	1月	F	70	<i>S. pyogenes</i>	A	1	<i>emm1.0</i>	M1 _{UK} lineage	A,B,F
2	1月	F	90	<i>S. dysgalactiae subsp equisimilis</i>	G		<i>stG6792.3</i>		
3	1月	F	80	<i>S. agalactiae</i>	B	V			
4	1月	F	80	<i>S. pyogenes</i>	A	1	<i>emm1.0</i>	M1 _{UK} lineage	A,B,F
5	2月	M	90	<i>S. pyogenes</i>	A	1	<i>emm1.0</i>	M1 _{UK} lineage	A,B,F
6	2月	M	70	<i>S. pyogenes</i>	A	UT	<i>emm77.0</i>		B,F
7	3月	M	80	<i>S. pyogenes</i>	A	12	<i>emm12.0</i>		B,C,F
8	4月	M	50	<i>S. pyogenes</i>	A	1	<i>emm1.0</i>	M1 _{UK} lineage	A,B,F
9	5月	F	80	<i>S. dysgalactiae subsp equisimilis</i>	G		<i>stG840.0</i>		
10	6月	F	90	<i>S. pyogenes</i>	A	1	<i>emm1.0</i>	M1 _{UK} lineage	A,B,C,F
11	7月	M	80	<i>S. agalactiae</i>	B	VI			
12	8月	M	90	<i>S. dysgalactiae subsp equisimilis</i>	G		<i>stG840.0</i>		
13	9月	F	60	<i>S. dysgalactiae subsp equisimilis</i>	G		<i>stG485.0</i>		
14	10月	M	50	<i>S. pyogenes</i>	A	UT	<i>emm49.11</i>		B,F
15	10月	F	80	<i>S. dysgalactiae subsp equisimilis</i>	G		<i>stG6792.11</i>		
16	10月	M	80	<i>S. dysgalactiae subsp equisimilis</i>	G		<i>stG485.0</i>		
17	11月	F	60	<i>S. pyogenes</i>	A	1	<i>emm1.0</i>	M1 _{UK} lineage	A,B,F
18	12月	F	80	<i>S. dysgalactiae subsp equisimilis</i>	G		<i>stG6792.3</i>		
19	12月	M	70	<i>S. pyogenes</i>	A	TB3264	<i>emm89.0</i>		B,C,F

富山県内の入浴施設における水検体中の レジオネラ属菌分離状況(2024年度)

大島 萌愛 金谷 潤一 木全 恵子 齋藤 和輝
池田 佳歩 清水 ひな 大石 和徳

Isolation of *Legionella* Species from Public Bath Water in Toyama Prefecture in the
Fiscal Year 2024

Moe OSHIMA, Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA, Kazuki SAITO,
Kaho IKEDA, Hina SHIMIZU, and Kazunori OISHI

目的：レジオネラ属菌は土壌や淡水などの自然環境に生息するが、冷却塔、加湿器、循環式浴場など人工的な水環境にも広く生息する。このレジオネラ属菌が肺胞マクロファージの中で増殖し、ヒトに経気道感染（レジオネラ症）を引き起こす。レジオネラ症は、レジオネラ属菌を含むエアロゾルを吸い込むことで発症する。国内では、循環式入浴施設での集団感染事例が多く報告され、レジオネラ症と入浴施設は強く関連していることが明らかとなっている [1-4]。レジオネラ症の届出数は全国的に増加傾向を示し、2024 年度には暫定値で2,419 件報告されている [5]。富山県のレジオネラ症罹患率（人口10 万人当たりの患者数）は4.42で、全国の罹患率1.95の約2.3 倍と高い状況である。富山県では、レジオネラ症の発生予防に資することを目的として、主な感染源となる入浴施設におけるレジオネラ属菌による汚染実態調査を継続している。ここでは2024 年度の結果を報告する。

材料と方法：2024 年7 月から2025 年3 月にかけて、県内8 施設から採取した浴槽水41 検体、シャワー水8 検体、カラン水8 検体、計57 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ボ入り滅菌採水瓶に入れ、当日中または翌日（冷蔵保存）に当所へ搬入された。

検査は、令和元年9 月19 日付け薬生衛発0919 第1 号「公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法について」の「別添 公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法」を参考に実施した [6]。すなわち、検水500 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5 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 倍濃縮試料とした。レジオネラ属菌以外の細菌（夾雑菌）の発育を抑制するために、濃縮試料のうち0.5 mL はpH 2.2 の0.2 M KCl-HCl（レジオネラ検体用前処理液、極東製薬工業）を等量加え室温で5 分間静置し、酸処理試料とした。また、0.5 mL は50℃で20 分間処理し、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、濃縮試料と同様に100 μ L をGVPC 寒天培地に塗布して培養した。培地は乾燥しないよう湿潤箱に入れ、35℃で7 日間培養した。培養3 日目から実体顕微鏡を用いてレジオネラ属菌に特異的に見られるモザイク模様、カットガラス様の形態を斜光法 [7] により平板上の発育菌で観察した。

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

血清凝集試験のため、1 検体あたり1～10 個のBCYE α 寒天培地に発育した菌を用い、病原体検出マニュアルに従い、加熱抗原を作製した [8]。反応はレジオネラ免疫血清（デンカ）および *Legionella* Latex Test Kit（オキソイド）を用い

て実施した。

LAMP 法による遺伝子検査のため、未処理の100 倍濃縮試料1 mL を遠心 (4℃, 13,000 rpm, 10 分) し, 20 µL 程度残した後, Extraction Solution for *Legionella* (EX Leg) を25 µL 添加した。混合後, 95℃ で15 分間加熱処理を行い, すぐさま氷上で冷やし, 1 M Tris-HCl : pH7.0 (Tris) を4 µL 添加し, 混合した。再び遠心 (4℃, 13,000 rpm, 10 分) し, 得られた上清をDNA 溶液とした。Loopamp レジオネラ検出試薬キットE (栄研化学) を用い, 濁度装置 Loopamp EXIA で判定した。本法は定量性がないため, 定性試験として遺伝子の増幅が認められた場合, レジオネラ属菌陽性とした。

結果: レジオネラ属菌の検出状況を表1に示した。平板培養法では浴槽水の6 検体, シャワー水の3 検体, カラン水の2 検体からレジオネラ属菌が検出された。検出率は, 浴槽水は19.4%, シャワー水は33.3%, カラン水は22.2%であった。LAMP 法による検出率は, 浴槽水が51.6% (16/31 検体), シャワー水が33.3% (3/9 検体) カラン水が44.4% (4/9 検体) であり, 例年と同様, 平板培養法より高かった。

検出されたレジオネラ属菌の菌数を見ると, シャワー水全てが10 CFU/100 mL 未満あるいは10 ~ 99 CFU/100 mL であったのに対し, 浴槽水の3 検体とカラン水の1 検体では100 CFU/100 mL 以上であった (表2)。分離されたレジオネラ属菌の血清群別を実施した結果, 5/8 の施設から *L. pneumophila* 血清群1 が検出された (表3)。平板培養法とLAMP 法の相関を見ると, 全体の68% (34/50 検体) の検体では, 両方の結果が一致した (表4)。2 検体は平板培養法陽性・LAMP 法陰性であり, 14 検体は平板培養法陰性・LAMP 法陽性であった。

考察: 富山県におけるレジオネラ症患者の感染源は, 患者への聞き取り調査などからおおよそ4 割が入浴施設であると推定されるが, 感染源の特定には至らない場合がほとんどである。このような背景のなか, これら4 割の患者を減らすため, 入浴施設のレジオネラ属菌の調査を継続し, 施設の衛生管理を徹底するための資料としている。

県内の浴槽水のレジオネラ属菌検出率は, 培養法では19.4%であり, 昨年度 (9.7%) から上昇した。一方, シャワー水の33.3%, カラン水の

22.2%からもレジオネラ属菌が検出され, その値は浴槽水の検出よりも高かった。レジオネラ症は, レジオネラ属菌を含むエアロゾルを吸い込むことで発症することから, エアロゾルが多く発生するシャワーの管理は特に重要である。

遺伝子検査法 (LAMP 法) は, 全体的に平板培養法よりも陽性率が高かった。この理由として, 死菌のDNA を検出している可能性が考えられた。また, 培養法の検出下限値である10 CFU/100 mL 未満のレジオネラ属菌が存在した可能性や, 生きているが培養できない (viable but non-culturable, VNC) 状態のレジオネラ属菌を検出している可能性も考えられた。検出されたレジオネラ属菌の血清群の内訳では, レジオネラ肺炎の原因菌の90% 以上を占める *L. pneumophila* 血清群1 が浴槽水, シャワー水, カラン水から検出された。このことから, レジオネラ症発生防止のためには, 施設への指導が重要であると考えられた。

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, 入浴施設に対する行政指導を強化しているが, 患者数は減っておらず, レジオネラ症対策の難しさを示している。本調査により, 入浴施設の水系にはレジオネラ属菌がある一定の割合で生息していることが明らかとなっている。県内の入浴施設の汚染実態を明らかにするため, 継続して監視する必要がある。

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入浴施設, 厚生センターおよび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, 他. (2005). 感染症学雑誌, 79, 365-374
2. Nakamura H, Yagyu H, Kishi K, et al. (2003). Intern Med, 42, 806-811
3. 平成29 年度生活衛生関係技術担当者研修会. 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?msclkid=7f316ecbd0d011ecacef11c37956a6b8>
(2025 年 6 月 9 日アクセス可能)
4. 厚生労働省. 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>
(2025 年 6 月 9 日アクセス可能)
5. 国立感染症研究所 IDWR 速報データ 2024 年第 52 週
<https://id-info.jihs.go.jp/surveillance/idwr/rapid/2024/52/index.html>
(2025 年 6 月 9 日アクセス可能)
6. 厚生労働省. 「公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法について」の「別添公衆浴場における浴槽水等のレジオネラ属菌検査方法」. 令和元年 9 月 19 日付け薬生衛発 0919 第 1 号
7. 森本 洋. (2010). 日本環境感染学会誌, 25, 8-14
8. 国立感染症研究所, 全国地方衛生研究所. 病原体検出マニュアル レジオネラ症 2020 年 9 月版

表 1. 平板培養法および LAMP 法におけるレジオネラ属菌の検出結果

	陽性数／検体数 (%)			
	平板培養法		LAMP法	
浴槽水	6／31	(19.4)	16／31	(51.6)
シャワー水	3／9	(33.3)	3／9	(33.3)
カラン水	2／9	(22.2)	4／9	(44.4)

表 2. 平板培養法によるレジオネラ属菌数

菌数 (CFU/100mL)	検体数		
	浴槽水	シャワー水	カラン水
10未満	25	6	7
10～99	3	3	1
100以上	3	0	1
計	31	9	9

表 3. 分離菌の血清群別の検体数

	血清群	浴槽水	シャワー水	カラン水	検出された施設数
<i>L. pneumophila</i>	1	3	1	2	5
	3		1		1
	4	4			1
	5		1	1	1
	6		1	1	1
	8	2	1		2
	9	1			1
	10	1			1
		1			1
<i>L. micdadei</i>		1			1

表 4. 平板培養法と LAMP 法との相関

		平板培養 (CFU/100mL)		
		≥ 10	< 10	計
LAMP	+	8	14	22
	—	2	26	28
計		10	40	50

富山県におけるカルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症の患者発生動向と患者由来株の β -ラクタマーゼ遺伝子保有状況について(2024年)

清水 ひな 齋藤 和輝 大島 萌愛 池田 佳歩
木全 恵子 金谷 潤一 大石 和徳

Surveillance of Carbapenem-Resistant *Enterobacterales* Infectious Diseases and Detection of β -Lactamase Genes from the Isolates in Toyama Prefecture in 2024

Hina SHIMIZU, Kazuki SAITO, Moe OSHIMA, Kaho IKEDA,
Keiko KIMATA, Jun-ichi KANATANI, 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および広域 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の総称である。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引き起こす。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引き起こし、医療関連感染の原因になることがある。また、無症状で腸管等に保菌される場合がある [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。加えて、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耐性遺伝子等の試験検査が実施されることになった。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2024年の患者発生動向と、県内医療機関で分離され、当所に搬入されたCRE菌株における β -ラクタム剤分解酵素である β -ラクタマーゼ遺伝子保有状況について報告する。

材料と方法:

1. CRE感染症届出数

富山県および全国の過去6年間のCRE感染症の届出数を集計した。あわせて2024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。

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、当所に搬入されたCRE 19株について調査した。腸内細菌目細菌のカルバペネム耐性化に最も寄与するカルバペネマーゼ遺伝子 (IMP型, NDM型, VIM型, KPC型, OXA-48型, GES型) の検出はマルチプレックスPCR法 [3] により行った。また、カルバペネマーゼ遺伝子以外の β -ラクタマーゼ遺伝子 (基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) 遺伝子: TEM型, SHV型, CTX-M-1型, CTX-M-2型, CTX-M-8型, CTX-M-9型 およびAmpC β -ラクタマーゼ遺伝子: MOX型, CIT型, DHA型, ACC型, EBC型, FOX型) の保有状況についてもマルチプレックスPCR法にて調査を行った [4,5]。

結果と考察:

1. CRE感染症届出数

富山県及び全国の過去6年間のCRE感染症届出数を表1に示した。2024年は25件の届出があった (速報値)。全国のCRE感染症届出数のうち、本県が占める割合は1%程度であった。

菌種別では、*Klebsiella aerogenes* (旧名: *Enterobacter aerogenes*) が14株、*Enterobacter cloacae*、*Escherichia coli* が各3株、*Enterobacter cloacae* complex、*Citrobacter braakii*、*Klebsiella pneumoniae*、*Citrobacter freundii*、*Klebsiella oxytoca* が各1株であった (表2)。

表 1. CRE 感染症の届出数 (2019～2024 年)

診断年	富山県	全 国
2019年	11	2,333
2020年	13	1,956
2021年	12	2,038
2022年	23	1,965
2023年	28	2,113
2024年	25	2,277

表 2. 富山県における菌種別 CRE 感染症届出状況 (2024 年)

菌種	届出数(件)
<i>Klebsiella aerogenes</i>	14
<i>Enterobacter cloacae</i>	3
<i>Escherichia coli</i>	3
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	1
<i>Citrobacter braakii</i>	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1
<i>Citrobacter freundii</i>	1
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1
計	25

2. CRE の β -ラクタマーゼ遺伝子保有状況

2024 年に県内医療機関で分離され、当所に搬入された CRE 菌株 19 株について、 β -ラクタマーゼ遺伝子の保有状況を調査した。カルバペネマーゼ遺伝子は、NDM 型が *Escherichia coli* 1 株から検出された。ESBL 遺伝子は、CTX-M-1 型が *Escherichia coli* 1 株、SHV 型が *Klebsiella pneumoniae* 1 株から、AmpC β -ラクタマーゼ遺伝子は、DHA 型が *Klebsiella pneumoniae* 1 株から検出された (表 3)。

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。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 [6]。また、カルバペネマーゼ遺伝子のほとんどがプラスミド上に存在していることが知られており、腸内細菌目の他の様々な菌種に容易に伝播し、CRE が国内に蔓延する可能性がある。そのため、今後も CRE の発生動向を注視し、カルバペネマーゼ遺伝子保有状況等の調査を継続していくことは公衆衛生上、また医療関連の感染対策上重要である [1]。

謝 辞

本調査の実施にあたり、菌株収集等にご協力いただきました富山県医務課、富山県健康対策室感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＜特集＞ (2019). 40 (2), 1-2
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目細菌 (CRE) 感染症にかかる試験検査の実施について」健感発 0328 第 4 号, 平成 29 年 3 月 28 日
3. Watahiki M, Kawahara R, Suzuki M, et al. (2020) Jpn J Infect Dis., 7, 166-72
4. Le QP, Ueda S, Nguyen TNH, et al. (2015) Foodborne Pathog Dis., 12, 719-725
5. Pérez-Pérez FJ, Hanson ND. (2002) J Clin Microbiol., 40, 2153-2162
6. 八木哲也, 松本あかね, 富田ゆうか, 他. (2019). 病原微生物検出情報, 40(2), 24-25

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 (2024 年)

菌種	検査数/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> ^{*1}	9/14	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	3/3	0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i> ^{*1}	2/3	0	0	1	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	1/1	0	0	0	0	0
<i>Citrobacter braakii</i>	1/1	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1/1	0	0	0	0	0
<i>Citrobacter freundii</i>	1/1	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1/1	0	0	0	0	0

菌種	検査数/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> ^{*1}	9/14	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	3/3	0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i> ^{*1}	2/3	0	0	1	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	1/1	0	0	0	0	0
<i>Citrobacter braakii</i>	1/1	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1/1	0	1 ^{*2}	0	0	0
<i>Citrobacter freundii</i>	1/1	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1/1	0	0	0	0	0

菌種	検査数/分離数	AmpC β -ラクタマーゼ遺伝子					
		MOX型	CIT型	DHA型	ACC型	EBC型	FOX型
<i>Klebsiella aerogenes</i> ^{*1}	9/14	0	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	3/3	0	0	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i> ^{*1}	2/3	0	0	0	0	0	0
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	1/1	0	0	0	0	0	0
<i>Citrobacter braakii</i>	1/1	0	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1/1	0	0	1 ^{*2}	0	0	0
<i>Citrobacter freundii</i>	1/1	0	0	0	0	0	0
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1/1	0	0	0	0	0	0

*1) 未搬入株含む； *2) 同時検出

令和 6 年度富山県病原体等検査の精度管理調査(2024 年度)
－ 赤痢菌の検出・同定 －

木全 恵子 大島 萌愛 清水 ひな 金谷 潤一
齋藤 和輝 池田 佳歩 大石 和徳

Quality Control of the Bacterial Testing of Pathogen in Toyama Prefecture in 2024
－ Detection and identification of *Shigella* －

Keiko KIMATA, Moe OSHIMA, Hina SHIMIZU, Jun-ichi KANATANI,
Kazuki SAITO, Kaho IKEDA, and Kazunori OISHI

目的：本県では、富山県病原体等検査業務管理要綱に基づき、県内の病原体等検査施設に対する検査水準の維持、向上を目的として精度管理調査を平成 28 年度より実施している。令和 6 年度の調査は、赤痢菌を対象項目とした。検査用試料は、衛生研究所で培地に接種し、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 6 機関を対象とし、令和 6 年 12 月 3 日～令和 7 年 1 月 31 日に実施した。

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）等に準拠して行い、検査終了後は、検体は SOP に従い、滅菌廃棄した。

結果：各施設の成績は表 2 に示す。全ての機関が、試料 C を赤痢菌陽性と判定し、試料 A、試料 B を赤痢菌否定とした。また、5 機関が、試料 C については種・血清型を *Shigella flexneri* 6（型）と回答し、1 機関が種名のみ（*Shigella flexneri*）と回答した。しかし、検査過程の記録では 6 機関すべてが試料 C について血清型別を行い *Shigella flexneri* 6 と同定していた。

以下の通り、提出された記録から詳細を解析した結果を示す。

配布試料（菌）の培養：配布試料（菌）を培養し、単一培養菌であることを確認するために、5 機関は非選択培地としてトリプチケースソイアガー（TSA）を使用し、1 機関はドリガルスキー（BTB）を使用していた。選択培地としては、DHL 寒天、SSB 寒天、SS 寒天、SS-SB 寒天を使用していた。一部の機関では試料 A および B について DHL 寒天上の集落の生育が悪かったと報告があった。配布試料（菌）によっては、胆汁酸塩に弱く、選択性培地では発育が悪いものがある。このため、非選択培地やほかの選択性の弱い培地

表 1 配布試料と接種病原体

試料名	接種病原体等
A	大腸菌 O124:HNM
B	<i>Escherichia albertii</i>
C	赤痢菌 (<i>Shigella flexneri</i> 6)

表 2 試料（赤痢菌を疑う菌）の同定結果

機関名	試料A		試料B		試料C	
	同定結果	菌種・血清型	同定結果	菌種・血清型	同定結果	菌種・血清型
a	赤痢菌否定		赤痢菌否定		赤痢菌陽性	<i>S. flexneri</i> 6
b	赤痢菌否定		赤痢菌否定		赤痢菌陽性	<i>S. flexneri</i> 6
c	赤痢菌否定		赤痢菌否定		赤痢菌陽性	<i>S. flexneri</i> 6
d	赤痢菌否定		赤痢菌否定		赤痢菌陽性	<i>S. flexneri</i> 6型
e	赤痢菌否定		赤痢菌否定		赤痢菌陽性	<i>S. flexneri</i>
f	赤痢菌否定		赤痢菌否定		赤痢菌陽性	<i>S. flexneri</i> 6

を併用することが望まれる。平板に発育した菌はいずれも単一性状と確認され、性状確認試験及び血清学的試験に2~9個の集落が用いられた。

性状確認試験：性状確認試験の結果は表3、4に示した。試験には、すべての機関がTSI、LIM、SIM、VP、シモンズのクエン酸塩培地、酢酸ナトリウム培地を用いた。1機関（機関e）はAPI20E（バイオメリュウ）による生化学性状による同定試験を行った。また、5機関がメラー培地、API20Eなどを使用し、アミノ酸脱炭酸試験を実施した。このうち、4機関ではリジンのほかアルギニン、オルニチンについても代謝の確認を行った。メラー培地を用いる場合には、菌の増殖に伴う培地の色調変化を偽陽性と誤判定することがある。このため、菌を接種したのちメラー培地にミネラルオイルを重層する（またはふたを固く締める）ほか、アミノ酸非添加培地による対照試験を行い、培地の色調変化を確認する必要がある。今回の精度管理ではミネラルオイル重層もしくは対照試験について各1機関が検査記録に記載していた。MR試験は2機関、 β -ガラクトシダーゼ（ONPG）試験は3機関で実施された。また、1機関が陽性コントロールの赤痢菌を鑑別培地に接種し、培地の参照とした。頻繁に行わない生化学性状試験や培地の性能を確認するうえで、対照実験を行うことは重要である。陽性コントロールを用いた試験では、試験検体と交差汚染をさせないように十分注意して実施する。

ダーラム管を用いたブドウ糖からのガス産生確認試験は5機関が実施した。TSIでは3種類の糖（ブドウ糖、白糖、乳糖）の代謝とブドウ糖の代謝によるガスの産生性を確認できるが、菌株によってはTSIでのガス産生性が弱く、確認するのが難しい。このため、赤痢菌の検査ではダーラム管を用いたブドウ糖からのガス産生性確認培地を併用することが望まれる。ほとんどの赤痢菌はガス産生性を有しないが、本調査で配布した*S. flexneri* 6については、およそ20%がブドウ糖からガスを産生するとされ、赤痢菌のなかでも稀な性状を示すことが知られている。この血清型の菌をガス産生性により赤痢菌否定としないことが重要である。

LIM、SIMでは菌の運動性とインドール反応を確認する。本調査で配布した試料A、BおよびCはいずれも運動性陰性であり、全ての機関が運動性陰性と回答していた。しかし、日常の検査で赤

痢菌と誤同定されることが多い*Morganella morganii*や*Pleisiomonas shigelloides*は運動性陽性である。このため、これらの菌種との鑑別にはSIM等で運動性やIPA反応を確認し、記載しておくことが重要である。

インドール反応は赤痢菌の鑑別点のひとつである。試料Aのインドール反応について、1機関の結果が他の機関と異なっていた（表3）。試料Aは運動性のない菌株であるため、LIM、SIMの高層培地に本菌を穿刺するのみでは、培地表面に十分な菌量を生育することが難しい場合がある。従って、培地表面に穿刺後の残りの菌を塗抹するなどの工夫が必要である。また、インドール試薬をはじめとする性状確認試験で用いる試薬類は、使用期限が明確な市販品を用いること、もしくは作成日と使用期限を管理した自家調製試薬を使用することが望ましい。今回、記載のなかった1機関を除き、4機関は自家調製したインドール試薬（試薬作成日を記載）を、1機関は市販のインドール試薬（Lotと使用期限を記載）を使用していた。

糖の代謝を含め、生化学性状については、同じ赤痢菌種であっても血清型等により結果が異なるため注意を要する。また、複数の機関がシモンズクエン酸培地や酢酸ナトリウム培地による培養を3日~5日まで継続し、観察していた。その一方で、糖代謝培地は1日のみ培養した機関も散見された。糖代謝試験では遅分解性の糖代謝を示す菌もあるため、48時間まで培養し観察することが望ましい。

試料Aに接種した病原体は腸管侵入性大腸菌であった。試料Aの血清型別試験では下記の血清型別試験の項に後述のとおり志賀赤痢菌3型の抗血清に凝集した。しかし、マンニット代謝陽性のほか、インドール反応陽性、ズルシットおよびキシロース代謝陽性の性状が志賀赤痢菌の性状と一致しなかった。5機関は、赤痢菌を否定する根拠として、これらの生化学性状を挙げた。また、1機関はAPI20Eの生化学性状試験による同定結果（*Escherichia coli* 1 同定率 96.3%）から赤痢菌を否定した。

試料Bに接種した病原体は*Escherichia albertii*であった。試料Bはインドール反応陽性、リジン脱炭酸試験陽性、酢酸ナトリウム陽性、ブドウ糖の代謝によるガスの産生性陽性の性状であり、赤痢菌の性状と一致しなかった。これらを根拠として、全ての機関が赤痢菌を否定した。

表 3 各機関で実施した試験結果一覧 (1)

試料A	結果	血清型	遺伝子検査		TSI	LIM	VP	MR	SC	SIM	IPA	酢酸Na
			<i>ipaH</i>	<i>invE</i>								
a	否定	志賀A多価 3型 病原性大腸菌O124	+	-	-/A--	-,-,-	-		-	-,-,-	-	-
									(5日間)			(5日間)
b	否定	志賀A多価 3型 病原性大腸菌O124	+	-	-/A--	-,+,-	-	+	-	-,+w,-	-	-
									(5日間)			(5日間)
c	否定	志賀A多価 3型 病原性大腸菌O124	+	-	-/A--	-,+,-	-		-	-,+,-	-	-
									(3日間)			(5日間)
d	否定	志賀A多価 3型 病原性大腸菌O124	+	-	"/A	-,+,-	-		-	-,+,-	-	-
									(3日間)			(3日間)
e	否定	志賀A多価 3型 病原性大腸菌O124	+		-/A-	-,+w,-	-	+	-	-,+,-		-
f	否定	志賀A多価 3型 病原性大腸菌O124	+	-	-/A--	-,+,-	-		-	-,+,-		-
									(3日間)			(3日間)
試料B	結果	血清型	遺伝子検査		TSI	LIM	VP	MR	SC	SIM	IPA	酢酸Na
			<i>ipaH</i>	<i>invE</i>								
a	否定				-/AG-	+,+,-	-		-	-,+w,-	-	+
									(5日間)			(5日間)
b	否定	赤痢菌多価血清全て陰性	-	-	-/AG-	+,+,-	-	+	-	-,+,-	-	+
									(2日間)			(2日間)
c	否定		-	-	-/AG-	+,+,-	-		-	-,+,-	-	+
									(3日間)			(5日間)
d	否定	赤痢菌多価血清全て陰性	-	-	-/AG	+,+,-	-		-	-,+,-	-	+
									(3日間)			(3日間)
e	否定	赤痢菌多価血清全て陰性	-		-/AG-	+,+,-	-	+	-	-,+,-		+
f	否定	赤痢菌多価血清全て陰性	-	-	-/AG-	+,+,-	-		-	-,+,-		+
									(3日間)			(3日間)
試料C	結果	血清型	遺伝子検査		TSI	LIM	VP	MR	SC	SIM	IPA	酢酸Na
			<i>ipaH</i>	<i>invE</i>								
a	陽性	<i>S. flexneri</i> 6	+	+	-/AG-	-,-,-	-		-	-,-,-	-	-
									(5日間)			(5日間)
b	陽性	<i>S. flexneri</i> 6	+	+	-/AG w -	-,-,-	-	+	-	-,-,-	-	-
									(5日間)			(5日間)
c	陽性	<i>S. flexneri</i> 6*	+	+	-/AG-	-,-,-	-		-	-,-,-	-	-
									(3日間)			(5日間)
d	陽性	<i>S. flexneri</i> 6型*	+	+	-/AG w	-,-,-	-		-	-,-,-	-	-
									(3日間)			(3日間)
e	陽性	<i>S. flexneri</i> 6型*	+		-/AG w	-,-,-	-	+	-	-,-,-		-
f	陽性	<i>S. flexneri</i> 6	+	+	-/AG-	-,-,-	-		-	-,-,-		-
									(3日間)			(3日間)

() : 培養時間が2日以上の場合。記載がない場合は培養時間1日以下。

*釣菌したコロニーの一部が*S. sonnei* II相に凝集することも報告した

表 4 各機関で実施した試験結果一覧 (2)

試料A	糖の分解														アミノ酸代謝		
	ブドウ糖 (ガス)	ラクトース	サッカロース	マンニト	アドニト	サリシン	ズルシット	キシロース	ラフィノース	イノシット	アラビノース	オキシダーゼ	カタラーゼ	β-ガラクトシダーゼ	L	A	O
a	+			+	-	-	+	+	-	-					-	-	-
b	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-				+	-	-	-
c	+			+	-	-	+	+	-	-				+	-		-
d	+			+	-	-	+	+	-	-					-	+	-
e	+		-	+						-	+	-	+	+	-	-	-
f	+			+	-			+	-	-							
	(-)			(3日間)	(3日間)			(3日間)	(3日間)	(3日間)					(2日間)	(2日間)	(2日間)

試料B	糖の分解														アミノ酸代謝		
	ブドウ糖 (ガス)	ラクトース	サッカロース	マンニト	アドニト	サリシン	ズルシット	キシロース	ラフィノース	イノシット	アラビノース	オキシダーゼ	カタラーゼ	β-ガラクトシダーゼ	L	A	O
a	+			+	-	-	-	-	-	-					+	-	+
b	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-				+	+	-	+
c	+														+		
d	+			+	-	-	-	-	-	-					+	-	+
e	+		-	+						-	-	-	+	+	+	-	+
f	+			+	-			-	-	-							
	(+)			(3日間)	(3日間)			(3日間)	(3日間)	(3日間)							

試料C	糖の分解														アミノ酸代謝		
	ブドウ糖 (ガス)	ラクトース	サッカロース	マンニト	アドニト	サリシン	ズルシット	キシロース	ラフィノース	イノシット	アラビノース	オキシダーゼ	カタラーゼ	β-ガラクトシダーゼ	L	A	O
a	+			+	-	-	-	-	-	-					-	-	-
b	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-				-	-	-	-
c	+			+	-	-	-	-	-	-				-	-		-
d	+			+	-	-	-	-	-	-					-	-	-
e	+		-	+						-	+	-	+	-	-	-	-
f	+			+	-			-	-	-							
	(+)			(3日間)	(3日間)			(3日間)	(3日間)	(3日間)					(2日間)	(2日間)	(2日間)

()：培養時間が2日以上の場合。記載がない場合は培養時間1日以下。

機関eについてはAPI20Eの結果を掲載

赤痢菌病原因子の遺伝子検査：結果を表5に示した。5機関（機関a, b, c, dおよびf）が*ipaH*, *invE*のコンベンショナルPCRを、1機関（機関e）が*ipaH*のリアルタイムPCRを実施した。コンベンショナルPCRを実施した5機関は、試料Aについては*ipaH*陽性かつ*invE*陰性、試料Cについては*ipaH*, *invE*のいずれも陽性と回答した。リアルタイムPCRを実施した1機関は試料Aおよび試料Cについて*ipaH*陽性と回答した。一方、試料Bについては、コンベンショナルPCRを実施した4機関（機関b, c, dおよびf）はいずれの遺伝子も陰性、リアルタイムPCRを実施した1機関（機関e）は*ipaH*陰性と回答したが、機関aでは遺伝子検査を実施しなかった。これは機関aでは試料Bについて生化学性状試験の結果から赤痢菌を否定したことによると考える。なお、実際の検査では生化学性状試験は数日要するため、遺伝子検査と生化学性状試験は同時に実施することが望ましい。

これらの遺伝子検査は赤痢菌を同定するための必須条件とはなっていないが、同定の結果を担保する重要な検査の一つであるので、可能な限り実施することが推奨される。とりわけ、染色体上に存在する*ipaH*遺伝子は脱落することがほとんどなく、赤痢菌の重要な性状である侵入性を確認できる。これに対し、*invE*遺伝子はプラスミド上に存在するため、比較的容易に脱落することが知られている。すなわち、*invE*遺伝子が陰性であっても赤痢菌を否定する証拠とはならない。加えて、*ipaH*, *invE*は侵入性大腸菌も保有することが知られているため、これらの遺伝子検査の結果が陽性となった場合でも、定められた性状確認検査を確実に実施しなければならない。また、機関eは試料Aが志賀赤痢菌抗血清3型に凝集することから志賀毒素遺伝子（VT）の遺伝子検査（LAMP）を行い、志賀毒素遺伝子が陰性であることを確認していた。志賀毒素を保有するのは志賀赤痢菌の一部（*S. dysenteriae* 1）であり、志賀赤痢菌全ての血清型が志賀毒素を保有しているの

ではないこと、志賀毒素の有無が志賀赤痢菌同定の必須条件ではないことに注意が必要である。

血清型別試験：各機関の血清型別試験の結果を表3に示した。試料Aについては全ての機関が、志賀赤痢菌A多価免疫血清、志賀赤痢菌3型免疫血清に凝集すること、また、大腸菌O124免疫血清にも凝集することも回答した。しかし、5機関は、志賀赤痢菌の性状と一致しなかった生化学性状を根拠として、赤痢菌を否定した。また、1機関はAPI20Eの生化学性状試験による同定から赤痢菌を否定した。

試料Bについては、4機関が赤痢菌免疫血清のいずれにも凝集しなかったと回答し、2機関（機関aおよびc）が血清型別を実施しなかったと回答した。この2機関は、上述したとおり、試料Bが、インドール反応陽性、リジン脱炭酸試験陽性、酢酸ナトリウム陽性、ブドウ糖の代謝によるガスの産生性陽性であること、および遺伝子検査の結果を根拠として、赤痢菌を否定したことによると考える。

試料Cについては全ての機関がフレキシネル赤痢菌B多価免疫血清およびフレキシネル赤痢菌VI免疫血清に凝集することを報告した。また、3機関が、釣菌したコロニーの一部がソネ赤痢菌D多価免疫血清、ソネ赤痢菌II相免疫血清に凝集したと報告した。ソネ赤痢菌II相免疫血清に凝集したコロニーを検出した3機関は①フレキシネル赤痢菌VI免疫血清に凝集するコロニーとソネ赤痢菌II相免疫血清に凝集したコロニーの生化学性状が全て一致していること、②コロニーの生

表6 *S. flexneri* 6と*S. sonnei*の生化学性状の比較

生化学性状	<i>S. flexneri</i> 6	<i>S. sonnei</i>
TSI		
斜面	—	—
高層	+	+
ガス産生	+	—
H ₂ S産生	—	—
LIM		
リジンデカルボキシラーゼ	—	—
インドール	d	—
運動性	—	—
β-ガラクトシダーゼ	—	+
オルニチンデカルボキシラーゼ	—	+
ブドウ糖からのガス産生	d	—

+：90%以上が陽性

-：90%以上が陰性

d：菌株によって異なる

表5 遺伝子検査の結果

機関名	試料A		試料B		試料C	
	<i>ipaH</i>	<i>invE</i>	<i>ipaH</i>	<i>invE</i>	<i>ipaH</i>	<i>invE</i>
a	陽性	陰性	未実施	未実施	陽性	陽性
b	陽性	陰性	陰性	陰性	陽性	陽性
c	陽性	陰性	陰性	陰性	陽性	陽性
d	陽性	陰性	陰性	陰性	陽性	陽性
e	陽性	未実施	陰性	未実施	陽性	未実施
f	陽性	陰性	陰性	陰性	陽性	陽性

化学性状は *S. flexneri* 6 に一致しており, *S. sonnei* の生化学性状に一致していないこと (表 6) から, これらのコロニーは *S. flexneri* 6 と判定した. また, 1 機関はコロニー形状について R (ラフ) 型と S (スムーズ) 型があり, ソンネ赤痢菌 II 相免疫血清に凝集するコロニーが R 型であることを報告した.

考察: 試料 C で分離されたソンネ赤痢菌 II 相免疫血清に凝集した R 型コロニーの O 抗原遺伝子を確認したところ [1], これらのコロニーは *S. sonnei* の O 抗原合成遺伝子は保有しておらず, *S. flexneri* 6 の O 抗原合成遺伝子を保有していた. これらの結果から, ソンネ赤痢菌 II 相免疫血清に凝集したコロニーは, 試料 C の *S. flexneri* 6 の S-R 変異 (円形, 平滑な S (スムーズ) 型のコロニーから, 不規則性, 粗面, 不均質の R (ラフ) 型のコロニーに変わる変異) で生じた *S. flexneri* 6 の R 型菌であることが判明した. 本株は *S. flexneri* 6 の O 抗原が菌体表面に発現していなかったため, フレキシネル赤痢菌 VI 免疫血清に凝集しなかったと考えられた. 大腸菌や赤痢菌の菌体表面のリポ多糖 (LPS) は細胞外膜に存在するリピド A からコア多糖を介して O 抗原多糖が結合した構造をとっている. しかし R 型では O 抗原合成に関与する遺伝子の変異などで O 抗原多糖が欠損し, 菌体同士の接着 (凝集塊の形成) や培養細胞への接着性が強くなることが知られている. また, 血清学的解析や構造解析などから *S. flexneri* 6 や *S. sonnei* のコアオリゴ糖が同じ R1 タイプであることが報告されている [2]. ソンネ赤痢菌 II 相免疫血清は *S. sonnei* の R 型菌に対する抗血清である. このため, *S. sonnei* の R 型菌と同じ

R1 タイプのコア多糖を有する *S. flexneri* 6 の R 型株がソンネ赤痢菌 II 相免疫血清に交差凝集反応を示したと考えられる.

本調査で各機関は赤痢菌を正しく同定し, 誤同定が懸念される侵入性大腸菌や *Escherichia albertii* を正しく否定することができた. 赤痢菌の同定検査においては, 陽性を示す性状検査が少ないため, 抗血清との凝集性を確認する血清学的試験は重要である. しかし, 赤痢菌と大腸菌には共通抗原が存在し, 特に侵入性大腸菌との共通抗原が多いため, しばしば誤同定が生じる. また, 赤痢菌自体も S-R 変異や O 抗原遺伝子の変異で血清型が変化することが報告されている (*S. flexneri* 1-5 など [3]). このため, ある特定の赤痢菌の免疫血清に凝集したことのみでは必ずしもその血清型の赤痢菌と同定することはできない. 血清学的試験から推定される菌種について, 生化学性状の結果等と齟齬がないか確認し, 同定の根拠に必要な性状試験を追加する必要がある. また, 検査の記録についても, どの性状を同定の根拠としたか明記することは重要である. 今回の試料 C の同定試験では, 血清学的試験と生化学性状試験の結果の一貫性を確認することの重要性が再認識された.

文 献

1. Iguchi A, Nishii H, Seto K, et al. (2020). J Clin Microbiol, 58, e01493-20
2. Kubler-Kielb J, Vinogradov E, Mocca C, et al. (2010). Carbohydr Res, 345, 1600-1608
3. 坂崎利一, 田村和満 (1992) 腸内細菌 (下巻), 245-251.

令和6年度富山県食品衛生検査の精度管理調査(2024年度) －微生物学的検査－

金谷 潤一 木全 恵子 齋藤 和輝 池田 佳歩
大島 萌愛 清水 ひな 大石 和徳

Quality Control of the Bacterial Testing of Foods for Good Laboratory Practice in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2024

Jun-ichi KANATANI, Keiko KIMATA, Kazuki SAITO, Kaho IKEDA,
Moe OSHIMA, Hina SHIMIZU, and Kazunori OISHI

目的：本県では、富山県食品衛生検査業務管理要綱に基づき、1999年から県内の食品衛生検査機関に対して検査水準の維持、向上を目的として精度管理調査を実施している[1]。本年の微生物学的検査の精度管理調査は、牛乳中に添加した生菌数測定および模擬食品（加熱殺菌後包装）中の黄色ブドウ球菌検査（成分規格1,000以下/g）とした。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、富山市保健所および衛生研究所の7機関を対象とし、2024年12月3日～2024年12月16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）を精製水に添加し作製した。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。

黄色ブドウ球菌検査用の模擬食品は、市販のコンビーフに黄色ブドウ球菌およびブドウ球菌（卵黄反応およびコアグララーゼ試験陰性）の培養液を

表1の通り添加して作製した。なお、接種前のコンビーフから黄色ブドウ球菌は検出されなかった。検査法は、各機関において通常行っている方法で実施した。

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 1.56×10^4 CFU/mL、最大値 1.66×10^4 CFU/mL、最小値 1.47×10^4 CFU/mLであった。SDは707.6となり、すべて平均値 ± 2 SD（ $1.42 \times 10^4 \sim 1.70 \times 10^4$ ）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。各機関の実測値を見ると、標準偏差（SD）は753.6となり、すべて平均値 ± 2 SD（ $1.41 \times 10^4 \sim 1.71 \times 10^4$ ）の範囲内であった。実測値のZスコアの絶対値は、ほとんどが2以下であったが、機関No. 5の1回の値が2を超えた。

牛乳Bについては、報告された測定値の平均は 1.50×10^3 CFU/mL、最大値 1.68×10^3 CFU/mL、最小値 1.38×10^3 CFU/mLであった。SDは123.5となり、すべて平均値 ± 2 SD（ $1.26 \times 10^3 \sim 1.75 \times 10^3$ ）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、標準偏差は135.8となり、すべての機関が平均値 ± 2 SD（ $1.23 \times 10^3 \sim 1.77 \times 10^3$ ）の範囲内であった。実測値のZスコアの絶対値もすべて2以下で、ばらつき度合いは良好と判断された。

令和2年度（2020年度）～令和6年度（2024年度）に継続して参加していた6機関においては、生菌数の測定値および実測値のZスコアを示した（図1, 2）。測定値については、すべての機関の値

表 1. 模擬食品における添加細菌と菌数

試料名	添加細菌	菌数
模擬食品 C	黄色ブドウ球菌	約 1.5×10^4 CFU/g
模擬食品 D	ブドウ球菌	約 5.0×10^3 CFU/g

表 2. 牛乳中の生菌数

A. 牛乳A		(菌数の単位 : CFU/mL)					
機関名	報告値	測定値			実測値		
			偏差	Zスコア		偏差	Zスコア
No. 1	1.47×10^4	14700	-921.4	-1.30	14900	-721.4	-0.96
					14500	-1121.4	-1.49
No. 2	1.56×10^4	15600	-21.4	-0.03	16000	378.6	0.50
					15200	-421.4	-0.56
No. 3	1.58×10^4	15750	128.6	0.18	15600	-21.4	-0.03
					15900	278.6	0.37
No. 4	1.59×10^4	15850	228.6	0.32	15800	178.6	0.24
					15900	278.6	0.37
No. 5	1.47×10^4	14700	-921.4	-1.30	15300	-321.4	-0.43
					14100	-1521.4	-2.02
No. 6	1.66×10^4	16600	978.6	1.38	16400	778.6	1.03
					16800	1178.6	1.56
No. 7	1.62×10^4	16150	528.6	0.75	16400	778.6	1.03
					15900	278.6	0.37
平均値 ($\bar{X}$)	1.56×10^4	15621.4			15621.4		
標準偏差 (SD)		707.6			753.6		
X+2SD		17036.7			17128.7		
X-2SD		14206.2			14114.2		
B. 牛乳B		(菌数の単位 : CFU/mL)					
機関名	報告値	測定値			実測値		
			偏差	Zスコア		偏差	Zスコア
No. 1	1.40×10^3	1400	-102.1	-0.83	1440	-60.7	-0.45
					1360	-140.7	-1.04
No. 2	1.57×10^3	1565	62.9	0.51	1540	39.3	0.29
					1590	89.3	0.66
No. 3	1.53×10^3	1530	27.9	0.23	1550	49.3	0.36
					1510	9.3	0.07
No. 4	1.38×10^3	1380	-122.1	-0.99	1370	-130.7	-0.96
					1390	-110.7	-0.82
No. 5	1.35×10^3	1360	-142.1	-1.15	1340	-160.7	-1.18
					1360	-140.7	-1.04
No. 6	1.60×10^3	1600	97.9	0.79	1450	-50.7	-0.37
					1750	249.3	1.84
No. 7	1.68×10^3	1680	177.9	1.44	1690	189.3	1.39
					1670	169.3	1.25
平均値 ($\bar{X}$)	1.50×10^3	1502.1			1500.7		
標準偏差 (SD)		123.5			135.8		
X+2SD		1749.1			1772.3		
X-2SD		1255.2			1229.1		

表 3. 模擬食品からの黄色ブドウ球菌検出

機関名	食品C	食品D
No. 1	陽性 (16,000/g)	陰性
No. 2	陽性 (16,100/g)	陰性
No. 3	陽性 (16,300/g)	陰性
No. 4	陽性 (18,100/g)	陰性
No. 5	陽性 (28,000/g)	陰性
No. 6	陽性 (17,350/g)	陰性
No. 7	陽性 (16,900/g)	陰性

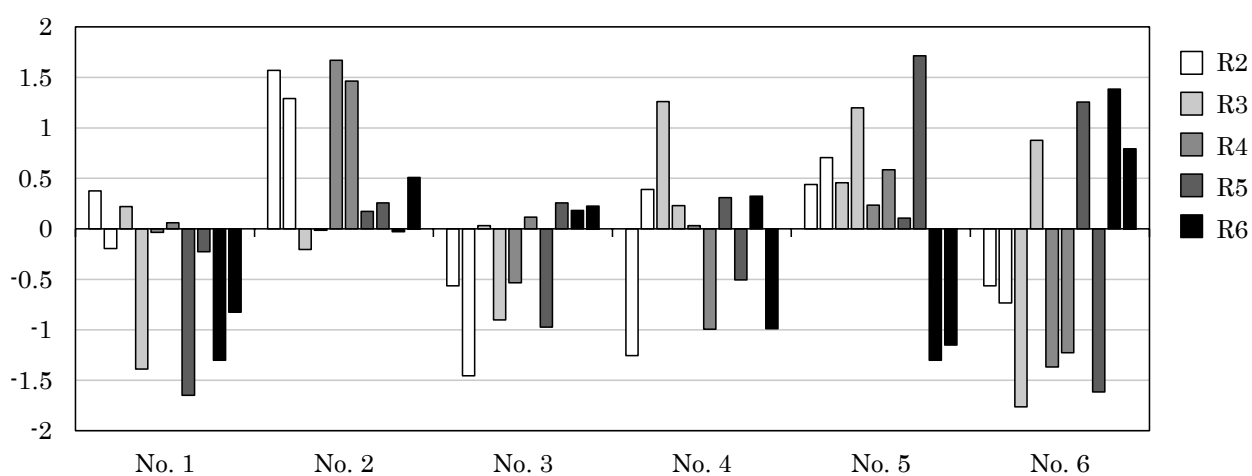


図 1. 測定値のZスコア (R02 ~ R06)

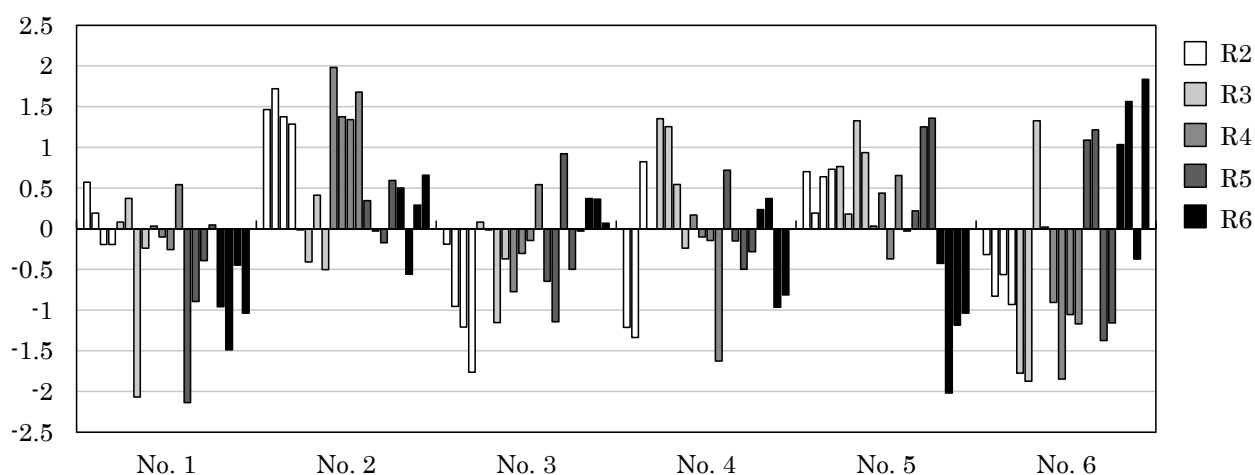


図 2. 実測値のZスコア (R02 ~ R06)

が絶対値2以下であった。実測値については、機関 No. 1 の2回の値、機関 No. 5 の1回の値が $2 < |Z| < 3$ であった。

黄色ブドウ球菌検査については、すべての機関が食品 C から基準値 (1,000 以下 /g) を上回る黄色ブドウ球菌数を検出できた (表 3)。一方、卵黄反応およびコアグラゼ試験陰性のブドウ球菌を接種した食品 D からは、すべての機関で黄色ブドウ球菌は検出されず (100 未満 /g)、検査精度に問題はなかった。また、すべての機関が、前増菌培地として BPW、分離培地として卵黄加マンニット食塩寒天培地を使用していた。

考察：令和2年～令和6年度において、生菌数の Z スコアをみると、測定値ではすべての機関の値が絶対値2以下であった。一方、実測値では2つの機関で計3回の値が $2 < |Z| < 3$ 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数は多くないため、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。一部の機関では、培

地表面に菌が遊走し、菌数測定が困難となった検体が認められた。過去にも、複数の機関で同様に菌の遊走が認められた。検体に添加した枯草菌が遊走したと考えられる。培地の量や培養時の湿潤の程度によって結露が生じ、菌が遊走した可能性が考えられる。菌の遊走が認められた機関においては、培養時の湿潤などの条件を検討することが望ましい。

黄色ブドウ球菌は、卵黄反応およびコアグラゼ試験によって同定される。今回、食品 D に添加したブドウ球菌は卵黄反応陰性であるため、選択培地上で判別可能である。すべての機関で卵黄加マンニット食塩寒天培地を使用していたが、判定に問題はなかった。また、全ての機関で食品 D から黄色ブドウ球菌は検出されず、食品 C からのみ基準値 (1,000 以下 /g) を上回る黄色ブドウ球菌数が検出された。黄色ブドウ球菌は選択培地での発育が遅い場合もあり、また、培地の種類によって発育形態に特徴があることから、定期的に精度管理を実施し、自施設で使用する培地での陽性コントロールの発育を確認することが望ましい。

文 献

1. 富山県厚生部長通知, 薬食 1,229 号, 1998 年 12 月 16 日

令和6年度富山県水道水質検査精度管理事業 (細菌検査項目)について(2024年度)

池田 佳歩 木全 恵子 大島 萌愛 清水 ひな
齋藤 和輝 金谷 潤一 大石 和徳

Quality Control Survey of Bacterial Testing of Drinking Water in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2024

Kaho IKEDA, Keiko KIMATA, Moe OSHIMA, Hina SHIMIZU,
Kazuki SAITO, Jun-ichi KANATANI, and Kazunori OISHI

目的：富山県では県内の水質検査を実施する検査機関について試験分析技術の向上および検査精度の確保を図るため、「富山県水道水質検査精度管理実施要領」に基づく精度管理を実施している。当所はこの精度管理の細菌検査について検体調製および検査結果の解析を担当している。ここに、2024年度に実施した検査項目「一般細菌」の調査結果について報告する。

材料と方法：

- (1) 検査項目：一般細菌
- (2) 検体等の配付年月日：2024年11月6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および地方公共団体の20機関
- (4) 配付検体：検体配付当日に下記のとおり枯草菌添加液を調製した。

予備試験によりあらかじめ菌数を確認した市販の枯草菌芽胞液 (1.2×10^7 CFU/mL, 栄研化学) をリン酸緩衝希釈液で100倍希釈した。希釈した枯草菌芽胞液を滅菌水に添加し、最終菌数258 CFU/mLの枯草菌添加液4.5 Lを調製した。この枯草菌添加液を150 mLずつ採水ビンに分注し、各機関へ配付した。

また、移送中および検査開始時の検体の温度を確認するため、温度モニタリング用の滅菌脱イオン水を採水ビンに150 mLずつ分注し、枯草菌添加液とともに各機関へ配付した。

(5) 検査方法：検査担当者が通常の検査業務と同様の方法を用いて行うこととした。

(6) 集計項目と管理基準：下記の項目について集計および解析を行った。下記の解析方法において、

X：各機関の測定値， X_1 ：全体の中央値， X_2 ：全体の平均値， σ ：全体の標準偏差を示す。

・棄却評価基準

中央値 (X_1) $\pm$ 20% を採択とし、それ以外は外れ値として棄却した。

・変動係数 (CV%)

= 各機関の標準偏差 (σ) / $X_2 \times 100$

・範囲 (R) = | 最大値 - 最小値 |

・Xbar-R管理図における管理基準

細菌数、平均値 ($\bar{X}$) $\pm 2\sigma$ とした管理区 [下方管理限界 (LCL) から、上方管理限界 (UCL) まで]、および範囲 (R)、UCL までの管理区を指標とした。

・Zスコア (Z) = $(X - X_2) / \sigma$

・その他の集計項目

検査担当者の業務経験年数、各機関の検査に使用した培地の製造元、検体受取から検査開始までの保管時間、滅菌脱イオン水の機関到着時および検体検査時の温度

結果：

(1) 棄却評価

20機関の中央値は260 CFU/mLであり、207 CFU/mL以上、311 CFU/mL以下の範囲から外れた機関はなかった。

(2) 細菌数

20機関より報告された2回の実測値の平均値から、有効数字2桁の菌数を求め、これを測定値 (X) とした。数値の丸め方はJIS Z 8401に従った。各機関の菌数、標準偏差および変動係数 (%) を表1に、測定値 (X) の度数分布 (ヒストグラム) を図1に示した。

20機関全体では、菌数中央値260 CFU/mL、

平均値 255 CFU/mL, 標準偏差は12.4 CFU/mL, および変動係数は1.40%(最小 0.19%, 最大 3.85%)であった。

20 機関の測定値 (X) を用いて Xbar-R 管理図を作成した (図 2)。評価の妥当な管理範囲として, 菌数は平均値 (Xbar) $\pm 2\sigma$ から計算される, 即ち LCL (230 CFU/mL) ~ UCL (280 CFU/mL) 内に, 20 機関すべて収まった。R 管理図における UCL (上方管理限界) は 23.4 であり, 20 機関すべて管理範囲内であった (図 2)。

20 機関の測定値 (X) について Z スコアを算出した (図 3)。Z スコアの判断基準は $|Z| \leq 2$ 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」, $|Z| \geq 3$ のとき「改善措置を要する」である。20 機関すべての機関が Z スコア $|Z| \leq 2$ であり, 「良好」と判断された。

(3) その他

滅菌脱イオン水の温度は, 機関到着時の平均は 12.8℃ (最大 20.5℃, 最小 4.9℃), 検査開始時の平均は, 10.1℃ (最大 20.5℃, 最小 3.9℃) であった。機関毎に報告された滅菌脱イオン水の温度については, 図 4 に示した。検体配付から検査開始に至る時間の平均は, 4 時間 (最大 7 時間, 最小 55 分) であった (図 5)。全機関が, 検査方法告示 [1] で規定された時間内 (採水から 12 時間以

内) に検査を行った。検査に使用した標準寒天培地の製造元については, 栄研化学が 10 機関, 島津ダイアグノスティクスが 5 機関, 日水製薬が 3 機関, 関東化学および日研生物が各 1 機関であった (図 6)。担当者の業務経験年数については, 最小 0 年, 最大 27 年で, うち 3 年以内の担当者が 9 名であった (1 機関未回答) (図 7)。

考察: 今回の精度管理に用いた枯草菌添加液は, 市販の枯草菌芽胞標準液から, 最終菌数 258 CFU/mL を目標に調製したものである。今回は 20 機関すべてが, Xbar-R 管理図の平均値 ± 2 標準偏差の範囲内に収まった。Z スコアにおいても, 20 機関すべてで $|Z| \leq 2$ となり「良好」と判断された。精度管理とは, 各機関の検査技術の評価として捉えるのではなく, 検体の受け入れから検査結果の報告まで, すべての工程で検査機関の信頼性を確保していることを確認するものである。今後とも各機関においては適切な内部精度管理等を実施し, 精度と検査技術の確認を行い, 精度を維持することが望まれる。

文 献

1. 厚生労働省 (2003). 平成 15 年 7 月 22 日厚生労働省告示第 261 号

表 1 一般細菌 結果

機関ID	実測値 n1	実測値 n2	測定値	測定値(X)	各機関内 標準偏差	各機関 変動係数(%)
a	223	229	226	230	3.0	1.30
b	231	241	236	240	5.0	2.08
c	235	241	238	240	3.0	1.25
d	238	240	239	240	1.0	0.42
e	243	246	245	240	1.5	0.63
f	239	256	248	250	8.5	3.40
g	245	256	250	250	5.5	2.20
h	248	256	252	250	4.0	1.60
i	252	255	254	250	1.5	0.60
j	252	259	256	260	3.5	1.35
k	252	259	256	260	3.5	1.35
l	256	258	257	260	1.0	0.38
m	257	262	260	260	2.5	0.96
n	250	270	260	260	10.0	3.85
o	263	264	264	260	0.5	0.19
p	261	267	264	260	3.0	1.15
q	266	276	271	270	5.0	1.85
r	270	276	273	270	3.0	1.11
s	269	277	273	270	4.0	1.48
t	275	280	278	280	2.5	0.89
機関数				20		
中央値 (cfu/mL)				260		
平均 (Xbar, cfu/mL)				255		
標準偏差 (σ, cfu/mL)				12.4		
全機関変動係数(%)				1.40		

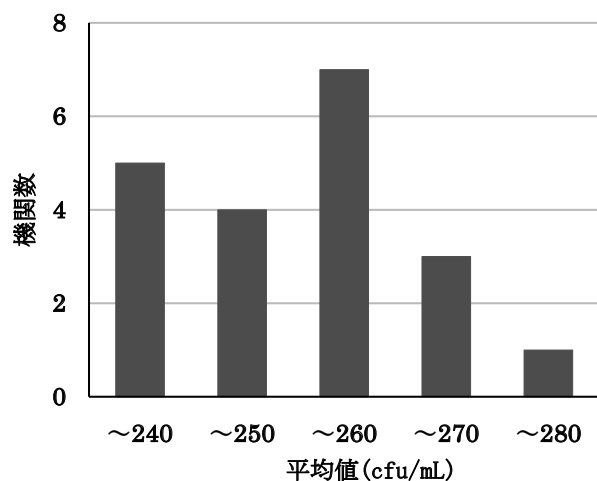


図 1 一般細菌 [測定値 (x)] の度数分布

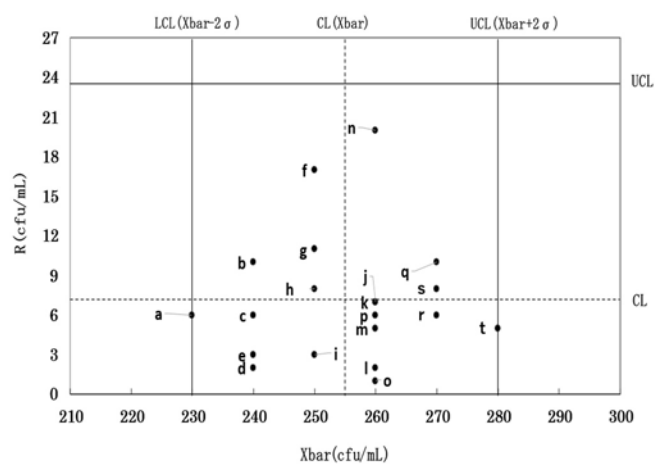


図 2 一般細菌数 Xbar-R 管理図

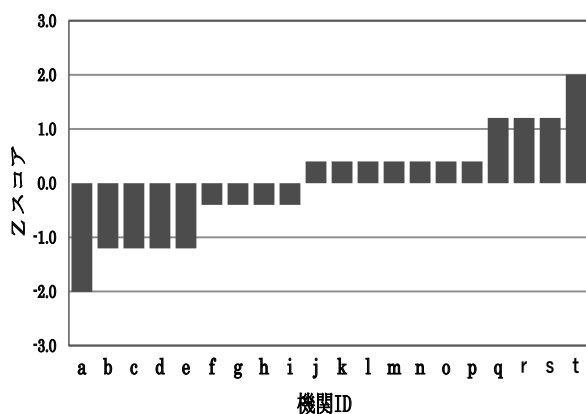


図3 Zスコアによる機関順位

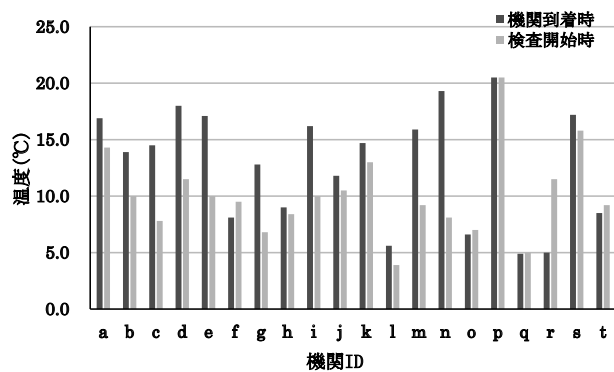


図4 機関到着時および検査開始時の滅菌脱イオン水の温度

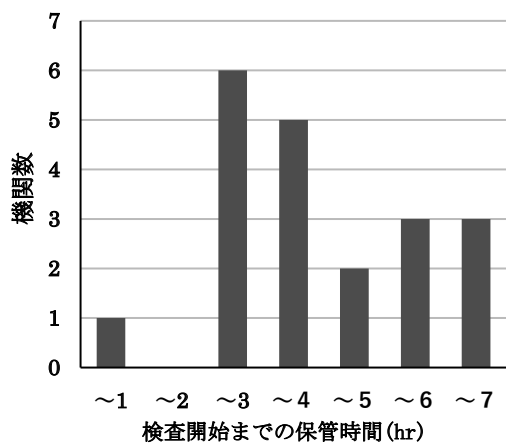


図5 検体受け取りから検査開始までの保管時間

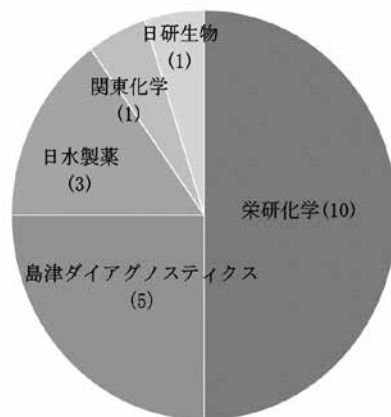


図6 使用した寒天培地の製造元

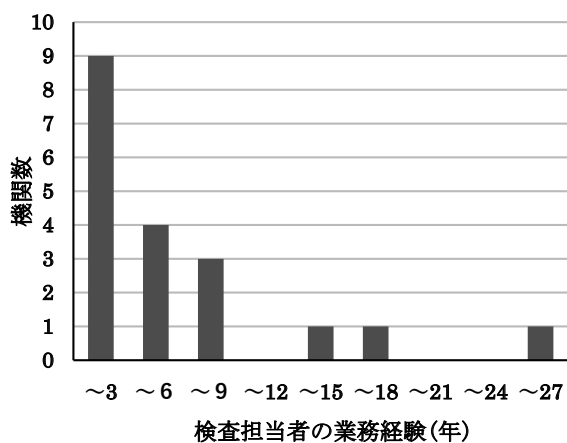


図7 検査担当者の業務経験年数の分布

ツキヨタケ調理品中の自然毒量

堀井 裕子

Natural Toxin Levels in Cooked *Omphalotus guepiniformis*

Yuko HORII

目的：当所では、自然毒食中毒発生に備えて検査体制の整備を行っており、昨年度はスイセンとイヌサフランを対象に調理等が自然毒成分に与える影響を調べた。今回は、毒キノコのうち食中毒発生件数が最も多く、富山県内でも発生事例があるツキヨタケを対象とし、これを加熱調理した調理品および人工胃液消化物を試料として自然毒成分イルジンSを分析し、調理等による変化を調べた。

材料と方法：

1. 材料と測定成分：ツキヨタケは令和6年10月に富山市有峰で採取した。自然毒成分としてイルジンSを測定し、標準溶液は林純薬工業（株）製の1,000 µg/mL メタノール溶液を用いた。

2. 試料の調製：ツキヨタケを包丁で細切り、以下のとおり調理等を行ったものから試料を採取して試験溶液を調製した。

(1) 未調理品：細切したツキヨタケから5 gを採取した。

(2) 調理品

・煮物：ビーカーにだし醤油（市販の希釈用だし醤油を煮物用に4倍希釈したもの）10 mLと細切したツキヨタケ5 gを入れ、沸騰後弱火にし、蓋をして5分間煮た。調理した煮物はツキヨタケと煮汁に分け、各々の全量を採取した。

・炒め物：アルミ皿に細切植物5 g、植物油1 gを入れ、210℃のホットプレートで3分間加熱し、全量を採取した。

(3) 消化物：調理品の炒め物にペプシン含有人工胃液（以下、消化液）100 mLを加え、37℃の水浴中で時々かく拌しながら加温し、30分、1時間、3時間後に水浴から取り出し、固形分と消化液に分けた。試料として固形分は全量を採取し、消化液は全量から5 gを採取した。

消化液および試験溶液の調製法、装置と測定条件は既報 [1,2,3] で示した。

結果及び考察：

1. 料理食品の測定結果：表1にツキヨタケ調理品中のイルジンSの測定結果を示す。表中の値は調理に使用したツキヨタケ5 g中の各成分の含有量で示した。煮物については固形分（ツキヨタケ）と汁を分けてそれぞれについて測定したところ、固形分と汁の両方からイルジンSが検出され、汁に約60%が移行していることが確認された。そこで煮物については固形分と汁に含まれるイルジンS含有量を合計し、合計値を煮物の含有量として未調理品と比較したところ、煮物では調理により11%減少した。炒め物についてはイルジンS含有量に減少はみられなかった。

調理品中のイルジンS分析については加熱による影響が予想されるが、笠原ら [4] はイルジンSの標準物質を用いた加熱実験で、100℃ 15分の加熱で15%程度分解するものの加熱に対して比較的安定であると報告している。今回、煮物では加熱によりイルジンSが減少したが、その減少率は笠原らの報告と同程度であり、イルジンSの検出は十分可能であった。また、炒め物ではイルジンSの減少はみられず、検査試料が加熱調理品であっても検出可能であることが確認された。また、煮物では汁のみからもイルジンSが検出されたことから、食中毒発生時には固形分が含まれていない調理残品も検査試料として利用できることが示された。

表1. ツキヨタケ調理品中のイルジンS含有量

試料	イルジンS	
	含有量平均 (µg) *	CV (%)
未調理	860.7	7.8
煮物	769.0 (固形分 309.5 汁 459.5)	14.8
炒め物	905.1	18.1

* 調理に使用した試料5 g中の含有量

表2. ツキヨタケ調理品を消化液で消化後の
イルジンS濃度

消化時間	イルジンS濃度 (μg/g)	
	固形分	消化液
未消化	312.2	—
0.5時間	14.7	7.6
1時間	7.4	7.9
3時間	3.8	5.7

2. 消化物の測定結果：ツキヨタケの炒め物を消化液で消化し、その固形分（消化したツキヨタケ）および消化液中のイルジンS濃度を表2に示した。消化物の全ての固形分からイルジンSが検出されたが、消化30分後には未消化に比べて約5%まで低下し、消化時間が長くなるに従ってさらに低下した。また、消化液についても全ての試料からイルジンSが検出された。このイルジンS濃度を消化物に含まれる量に換算した値を表3に示す。消化物全体ではイルジンSの含有量は消化時間が長くなると減少した。固形分と消化液中の含有量を比較したところ、ほとんどのイルジンSが消化液に存在し、その割合は消化30分後で91%、3時間後では98%であった。

消化物からは固形分、消化液の両方からイルジンSが検出され、食中毒発生時には吐物から検出できる可能性が示された。しかし、固形分のイルジンS濃度は消化により大きく減少し、ほとんどが消化液に存在していたことから、吐物を試料とする場合は液体部分についても検査をする必要があると考えられた。

今回、ツキヨタケによる食中毒を想定して、ツ

表3. ツキヨタケ調理品を消化液で消化後の
イルジンS含有量

消化時間	消化物中のイルジンS含有量 (μg)		
	全体	固形分	消化液
未消化	1089.5	1089.5	—
0.5時間	744.1	63.8	680.3
1時間	768.1	20.1	748.0
3時間	546.9	9.7	537.2

キヨタケの調理品や模擬吐物を試料として自然毒成分の分析を行い、イルジンSが検出可能であることを確認した。今後はこの結果を活用し、食中毒発生時の検査に対応していきたいと考えている。

謝 辞

本調査の実施にあたり、ツキヨタケの採取にご協力いただきました富山県農林水産総合技術センター森林研究所森林資源課の佐々木史副主幹研究員に深謝いたします。

文 献

- 堀井裕子. (2024). 富山衛研年報, 47, 121-123
- 堀井裕子. (2023). 富山衛研年報, 46, 131-135
- 堀井裕子, 中山恵理子. (2022). 富山衛研年報, 45, 104-106
- 笠原義正, 伊藤 健. (2009). 食品衛生学雑誌, 50 (4), 167-172

飲用されている「とやまの名水」の水質組成の経年変化

有沢 拓也 中山恵理子 山下 智富 健名 智子
安川 和志 遊道 梓 堀井 裕子

Variations in the Physicochemical Properties of “Famous Natural Waters in Toyama” over the Past Decades

Takuya ARISAWA, Eriko NAKAYAMA, Tomohisa YAMASHITA, Tomoko KEMMEI,
Kazuyuki YASUKAWA, Azusa YUDO, and Yuko HORII

目的:「とやまの名水」は、富山県内の優れた水環境を広く県民に紹介し、水に対する認識を高めることを目的として県が選定したものであり、昭和61年に55か所、平成17-18年に11か所が選定され、現在は66か所となっている。「とやまの名水」には飲用されているものもあり、県内外から多くの人々が訪れているが、水道のような厳密な水質管理はほとんど行われていない。そのため、県が平成14年に策定した「とやまの名水」衛生管理マニュアル [1] に基づき、名水の管理者や市町村、県による定期的な水質検査が行われてきたところである。県では、昭和59-60年度 [2]、平成15-18年度 [3] に飲用されている「とやまの名水」の水質について詳細に調査するため、すべての水質基準項目および主要成分の検査を実施したが、それ以降は網羅的な検査を行っていない。

本調査研究では、飲用されている「とやまの名水」の衛生管理・飲用対策の一助とすることを目的として、令和5-6年度に水質基準項目および主要成分の検査を行い、名水の水質組成や過去40年間の経年変化について詳細に調査した。

材料と方法: 飲用されている「とやまの名水」22か所28地点（1か所は7地点の総称）（表1）において採取された水を対象とし、水質基準49項目（理化学検査項目）および主要成分6項目（溶性ケイ酸、カルシウムイオン、マグネシウムイオン、カリウムイオン、炭酸水素イオン、硫酸イオン）（表2）の検査を実施した。検査は、令和5年8月と令和6年8月の2回に分けて各年度14地点ずつ実施した。検査方法は、水質基準項目については平成15年厚生労働省告示261号 [4]、主要成分については上水試験方法2020年版 [5]

に準拠した。

経年変化については、昭和59-60年度と平成15-18年度に実施した水質基準項目および主要成分の検査結果と比較し評価した。評価方法には、水質特性の把握に有効なヘキサダイアグラムおよびキーダイアグラム [6] を用い、「とやまの名水」の水質組成の特徴や年度間の変化を視覚的に表した。さらに主成分分析 [7] を行い、経年変化について統計的に解析した。

また、橋本ら [8] が提唱した「おいしい水」の評価基準を用い、理化学的な指標に基づく「とやまの名水」のおいしさについても評価した。

結果と考察:

1. 水質基準49項目

水質基準49項目（項目No.1-49）の検査結果を表2に示す。無機物・重金属（項目No.1-11）のうち、ヒ素及びその化合物（項目No.5）と六価クロム化合物（項目No.6）がそれぞれ1地点で検出されたが、定量値はごく微量であり基準値を下回っていた。硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素（項目No.9）は27地点で検出されたが、亜硝酸態窒素（項目No.7）はすべての地点で定量下限値（0.004 mg/L）未満であり、硝酸態窒素のみが検出された。有機物（項目No.12-18）は、すべての地点で定量下限値未満だった。消毒副生成物（項目No.19-29）は、クロロホルム、総トリハロメタンが1地点で検出されたが、定量値はごく微量であり基準値を下回っていた。その他の水質基準項目についても、検査したすべての地点の名水が水質基準に適合していた。

表 1. 令和 5-6 年度に調査を実施した「とやまの名水」[1]

No.	市町村名	名 水 の 名 称
1	富山市	石倉町の延命地藏の水
2	富山市	殿様清水
3	高岡市	影無し井戸
4	高岡市	弓の清水
5	高岡市	氣多神社の清泉
6	魚津市	魚津駅前の「うまい水」
7	氷見市	上日寺の観音菩薩霊水
8	黒部市	清水の里
	黒部市	生地共同洗場（7 地点）
9		神明町共同洗場／神明町の共同洗い場
10		神明町共同洗場／神田の清水
11		上町共同洗場／弘法の清水
12		上町共同洗場／殿様清水
13		四十物町共同洗場／弘法の清水
14		大町共同洗場／清水庵の清水（向かって右の湧水口）
15		大町共同洗場／清水庵の清水（向かって左の湧水口）
16	黒部市	下立の霊水
17	黒部市	村椿（飛驒）の清水
18	黒部市	名水公園の清水
19	黒部市	箱根の清水
20	砺波市	瓜裂清水
21	小矢部市	鳩清水
22	南砺市	丸池
23	射水市	誕生寺の誕生水
24	上市町	弘法大師の清水
25	上市町	大岩山日石寺の藤水
26	上市町	穴の谷の霊水
27	立山町	立山玉殿の湧水
28	入善町	高瀬湧水の庭

2. 主要成分 6 項目と経年変化

主要成分 6 項目（項目 No.50-55）の定量範囲を表 2 に示す。令和 5-6 年度に調査した 28 地点のうち、昭和 59-60 年度および平成 15-18 年度の検査対象地点と重複しているのは 14 地点（以降 A～N と表記）である。これらの地点の各年度の主要 7 イオン（ナトリウムイオン： Na^+ 、カリウムイオン： K^+ 、カルシウムイオン： Ca^{2+} 、マグネシウムイオン： Mg^{2+} 、塩化物イオン： Cl^- 、炭酸水素イオン： HCO_3^- 、硫酸イオン： SO_4^{2-} ）濃度を用い、次の (1)、(2)、(3) に示す方法により経年変化を調査した。

(1) ヘキサダイアグラム

文献 [6] に従って作図した。ヘキサダイアグラムは、図 1 の凡例に示すように、各イオンの当量値 (mEq/L) を、中央の軸を 0 として軸から距離に相当するよう六角形状にプロットしたもので、左側が陽イオン、右側が陰イオンとなっており、六角形の大きさは溶存物質の多少を大まかに反映している。

14 地点のヘキサダイアグラムを図 1 に示す。地点別に各年度のヘキサダイアグラムを重ねて示した。ほとんどの地点は、最も多く含まれる陽イオンが Ca^{2+} 、最も多く含まれる陰イオンが HCO_3^- であり、 Ca-HCO_3 型であった。E、L、M 地点は、

表2. 水質基準 49 項目および主要成分 6 項目の検査結果

項目 No.	項 目 名	令和 5 年度 *1 14 地点検査	令和 6 年度 *1 14 地点検査	定量下限値 (mg/L)	基準値 (mg/L)	定量値又は範囲 (mg/L)
1	カドミウム及びその化合物	すべて不検出	すべて不検出	0.0003	0.003	
2	水銀及びその化合物	すべて不検出	すべて不検出	0.00005	0.0005	
3	セレン及びその化合物	すべて不検出	すべて不検出	0.001	0.01	
4	鉛及びその化合物	すべて不検出	すべて不検出	0.001	0.01	
5	ヒ素及びその化合物	すべて不検出	1 地点検出	0.001	0.01	0.001
6	六価クロム化合物	すべて不検出	1 地点検出	0.002	0.02	0.005
7	亜硝酸態窒素	すべて不検出	すべて不検出	0.004	0.04	
8	シアン化物イオン及び塩化シアン	すべて不検出	すべて不検出	0.001	0.01	
9	硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素	13 地点検出	すべて検出	0.02	10	0.08－1.86
10	フッ素及びその化合物	8 地点検出	3 地点検出	0.08	0.8	0.09－0.2
11	ホウ素及びその化合物	すべて不検出	すべて不検出	0.1	1	
12	四塩化炭素	すべて不検出	すべて不検出	0.0002	0.002	
13	1,4－ジオキサン	すべて不検出	すべて不検出	0.005	0.05	
14	シス－1,2－ジクロロエチン及びトランス－1,2－ジクロロエチン	すべて不検出	すべて不検出	0.001	0.04	
15	ジクロロメタン	すべて不検出	すべて不検出	0.001	0.02	
16	テトラクロロエチレン	すべて不検出	すべて不検出	0.001	0.01	
17	トリクロロエチレン	すべて不検出	すべて不検出	0.001	0.01	
18	ベンゼン	すべて不検出	すべて不検出	0.001	0.01	
19	塩素酸	すべて不検出	すべて不検出	0.06	0.6	
20	クロロ酢酸	すべて不検出	すべて不検出	0.002	0.02	
21	クロロホルム	すべて不検出	1 地点検出	0.001	0.06	0.006
22	ジクロロ酢酸	すべて不検出	すべて不検出	0.002	0.03	
23	ジブロモクロロメタン	すべて不検出	すべて不検出	0.001	0.1	
24	臭素酸	すべて不検出	すべて不検出	0.001	0.01	
25	総トリハロメタン	すべて不検出	1 地点検出	0.001	0.1	0.006
26	トリクロロ酢酸	すべて不検出	すべて不検出	0.002	0.03	
27	ブロモジクロロメタン	すべて不検出	すべて不検出	0.001	0.03	
28	ブロモホルム	すべて不検出	すべて不検出	0.001	0.09	
29	ホルムアルデヒド	すべて不検出	すべて不検出	0.002	0.08	
30	亜鉛及びその化合物	すべて不検出	すべて不検出	0.01	1	
31	アルミニウム及びその化合物	すべて不検出	2 地点検出	0.01	0.2	0.01, 0.01
32	鉄及びその化合物	すべて不検出	すべて不検出	0.03	0.3	
33	銅及びその化合物	1 地点検出	すべて不検出	0.01	1	0.01
34	ナトリウム及びその化合物	すべて検出	すべて検出	0.25	200	0.9－56.4
35	マンガン及びその化合物	すべて不検出	1 地点検出	0.005	0.05	0.005
36	塩化物イオン	すべて検出	すべて検出	0.2	200	0.5－93.8
37	カルシウム、マグネシウム等（硬度）	すべて検出	すべて検出	1	300	5.4－244.1
38	蒸発残留物	すべて検出	すべて検出	5	500	11－306
39	陰イオン界面活性剤	すべて不検出	すべて不検出	0.02	0.2	
40	ジェオスミン	すべて不検出	すべて不検出	0.000001	0.00001	
41	2－メチルイソボルネオール	すべて不検出	すべて不検出	0.000001	0.00001	
42	非イオン界面活性剤	すべて不検出	すべて不検出	0.005	0.02	
43	フェノール類	すべて不検出	すべて不検出	0.0005	0.005	
44	有機物（全有機炭素（TOC）の量）	すべて不検出	1 地点検出	0.3	3	0.3
45	pH 値	6.5－7.4	5.8－7.5	－	5.8 以上 8.6 以下	5.8－7.5
46	味	すべて異常なし	すべて異常なし	－	異常でないこと	
47	臭気	すべて異常なし	すべて異常なし	－	異常でないこと	
48	色度	すべて不検出	すべて不検出	0.5 度	5 度以下	
49	濁度	すべて不検出	すべて不検出	0.1 度	2 度以下	
50	溶性ケイ酸（SiO ₂ ）	すべて検出	すべて検出	5.3 *2	－	5.9－43.3
51	カルシウムイオン	すべて検出	すべて検出	0.25	－	1.2－86.6
52	マグネシウムイオン	すべて検出	13 地点検出	0.25	－	0.5－7.7
53	カリウムイオン	すべて検出	すべて検出	0.05	－	0.2－5.6
54	炭酸水素イオン	すべて検出	すべて検出	3.0	－	14.1－297.6
55	硫酸イオン	すべて検出	すべて検出	0.2	－	0.9－35.6

*1 ここでは「不検出」は定量下限値未満のこととする

*2 SiO₂ としての値に換算したもの（Si としての定量下限値は 2.5 mg/L）

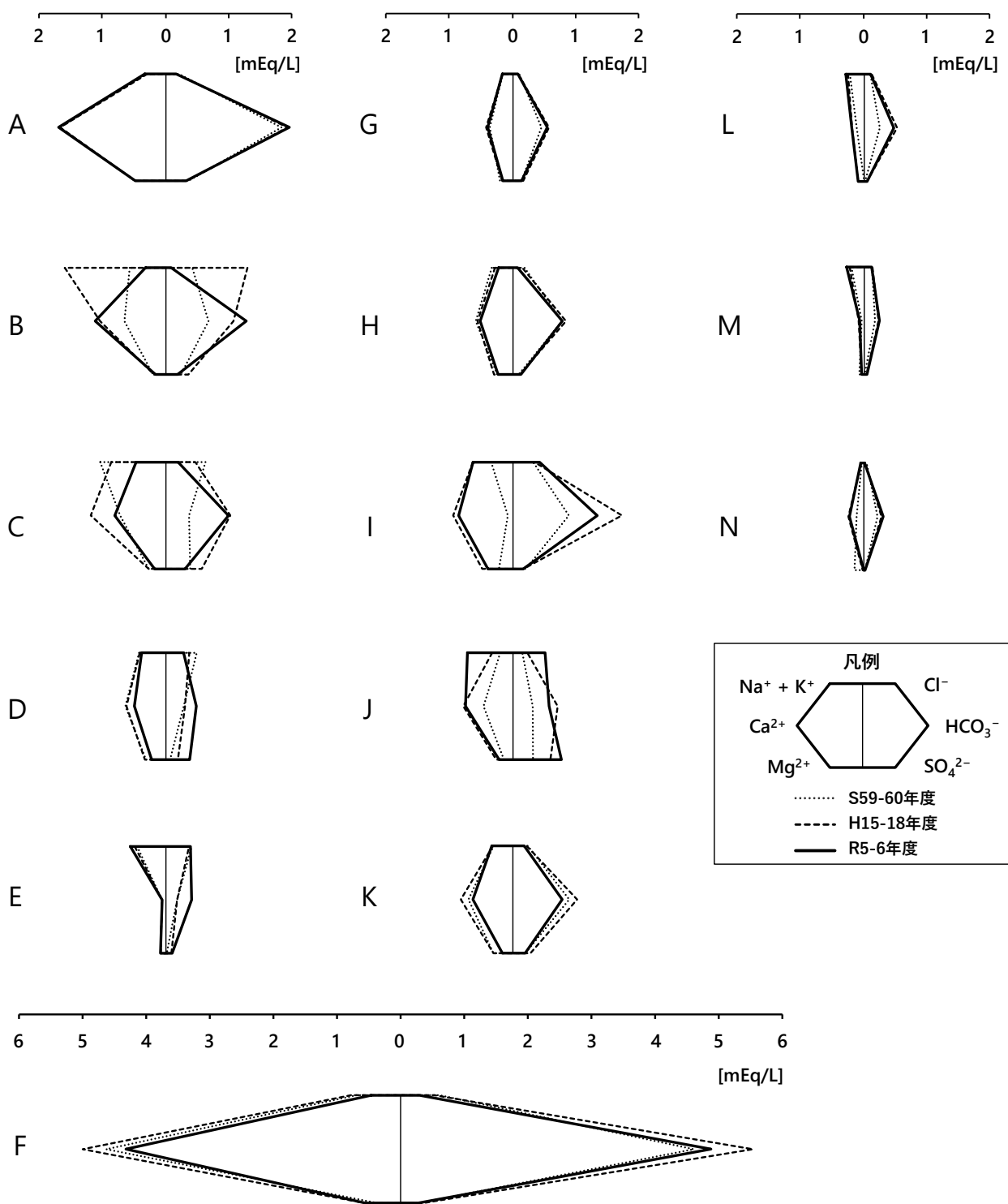


図1. 14地点のヘキサダイアグラム

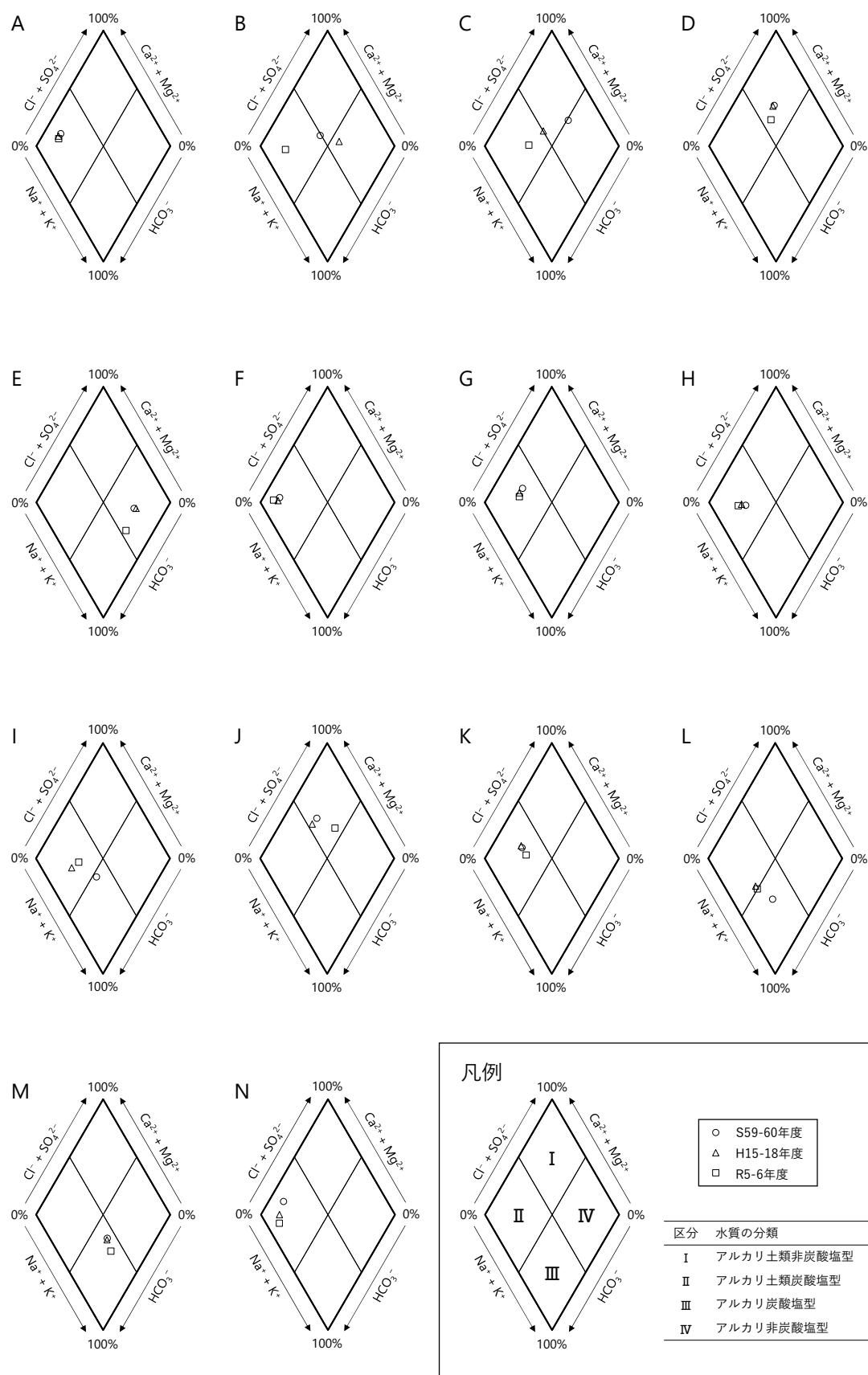


図2. 14 地点のキーダイアグラム

陽イオンでは Na^+ 、陰イオンでは HCO_3^- が最も多く Na-HCO_3 型、J地点は陽イオンでは Ca^{2+} 、陰イオンでは SO_4^{2-} が最も多いことから Ca-SO_4 型であった。また、F地点は他の名水と比べ溶存成分量が非常に多かった。それぞれの地点について各年度の形状を比較すると、B、C、I、Jの4地点については年度間の変化が大きく、水質組成の変化を表していると考えられた。

(2) キーダイアグラム

文献[6]に従って作図した。キーダイアグラムは、図2の凡例に示すように、ひし形座標に陽イオン、陰イオンの当量%をプロットしたもので、ひし形の対辺の中点を結び分割した4つの領域(I、II、III、IV)のどの領域にプロットされるかにより水質組成の分類と水の起源の推定ができる。

地点別に各年度の結果をプロットしたキーダイアグラムを図2に示す。大半の地点は年度間で区分の変化がなく、A、F、G、H、K、Nの6地点は区分II(浅層地下水)に、D、J地点は区分I(熱水、化石水)に、M地点は区分III(深層停滞地下水)に、E地点は区分IV(海水)に分類された。年度間で区分が変化したのはB、C、I、Lの4地点であり、水質組成の変化を表していると考えられた。ただし、領域の境界付近ではわずかな変化でも領域をまたぐ可能性があり、大まかな分類であることに注意が必要である。

(3) 主成分分析

主成分分析は多変量解析手法のひとつであるが、地下水の水質データの統計的な評価に有効な手段であり[7]、地下水の主要イオン濃度のように多数の変数で表現される情報を、少数の合成変数(主成分)に要約し、全体の特徴をとらえやすくしたり、データを2次元または3次元で可視化したりすることを目的に用いられる。

主成分分析にはR(ver. 4.4.2)[9]を用い、昭和59-60年度、平成15-18年度、令和5-6年度における14地点の主要イオン7成分の当量値を、成分ごとに標準化(平均値0、標準偏差1となるようスケーリング)したデータを対象とした。

主成分分析により得られた、固有ベクトル(各主成分が各変数から受ける影響の度合い)、固有値(各主成分がもつ情報量)、寄与率(データが表現する情報のうち各主成分が表現する情報の割合)、累積寄与率(寄与率の累計)を表3に示す。

表3. 固有ベクトル、固有値、寄与率、累積寄与率(第3主成分以降省略)

	第1主成分	第2主成分
固有 ベクトル	Na^+	0.39
	K^+	-0.24
	Ca^{2+}	0.41
	Mg^{2+}	0.35
	Cl^-	-0.46
	SO_4^{2-}	-0.13
	HCO_3^-	0.40
固有値	3.88	1.58
寄与率(%)	55.4	22.5
累積寄与率(%)	55.4	77.9

これを見ると、第2主成分までの累積寄与率は77.9%となっている。寄与率は、各主成分にどの程度情報が集約されているかを表す指標であり、一般に累積寄与率が80%程度となれば、元の情報のほとんどが表現されうると考える。したがって、今回の主成分分析では第2主成分までにほとんどの情報を集約することができたと考えられる。

主成分分析では、得られた主成分が何を表しているか考察する必要がある。表3の固有ベクトルに注目すると、第1主成分ではすべてのイオン成分で同様な正の値となっており、それぞれのイオン濃度がほぼ等しく第1主成分に影響していることがわかる。したがって第1主成分は主要イオンの溶存量を表現するものと考えられる。第2主成分では Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 HCO_3^- では正の値、その他のイオンでは負の値となっており、キーダイアグラムにおける区分II(浅層地下水)に特徴付けられるアルカリ土類炭酸塩型の水質かそれ以外かを区別するような指標と考えられる。

ここで第1主成分の解釈に基づくと、第1主成分は主要イオン濃度の変化に対して敏感であるため、第1主成分の年度間の変化から水質組成の経年変化を評価できると考えた。そこで、以下に示す式(1)より14地点における各年度の第1主成分得点(PC1)を算出した。ここで*印は標準化されたイオン当量を表し、各係数は第1主成分の固有ベクトルに対応している。各年度のPC1を3次元空間にプロットしたものを図3(a)に示す。

$$\begin{aligned} \text{PC1} = & 0.39\text{Na}^{+*} + 0.35\text{K}^{+*} + 0.41\text{Ca}^{2+*} \\ & + 0.39\text{Mg}^{2+*} + 0.37\text{Cl}^{-*} + 0.34\text{SO}_4^{2-*} \\ & + 0.40\text{HCO}_3^{-*} \end{aligned} \quad (1)$$

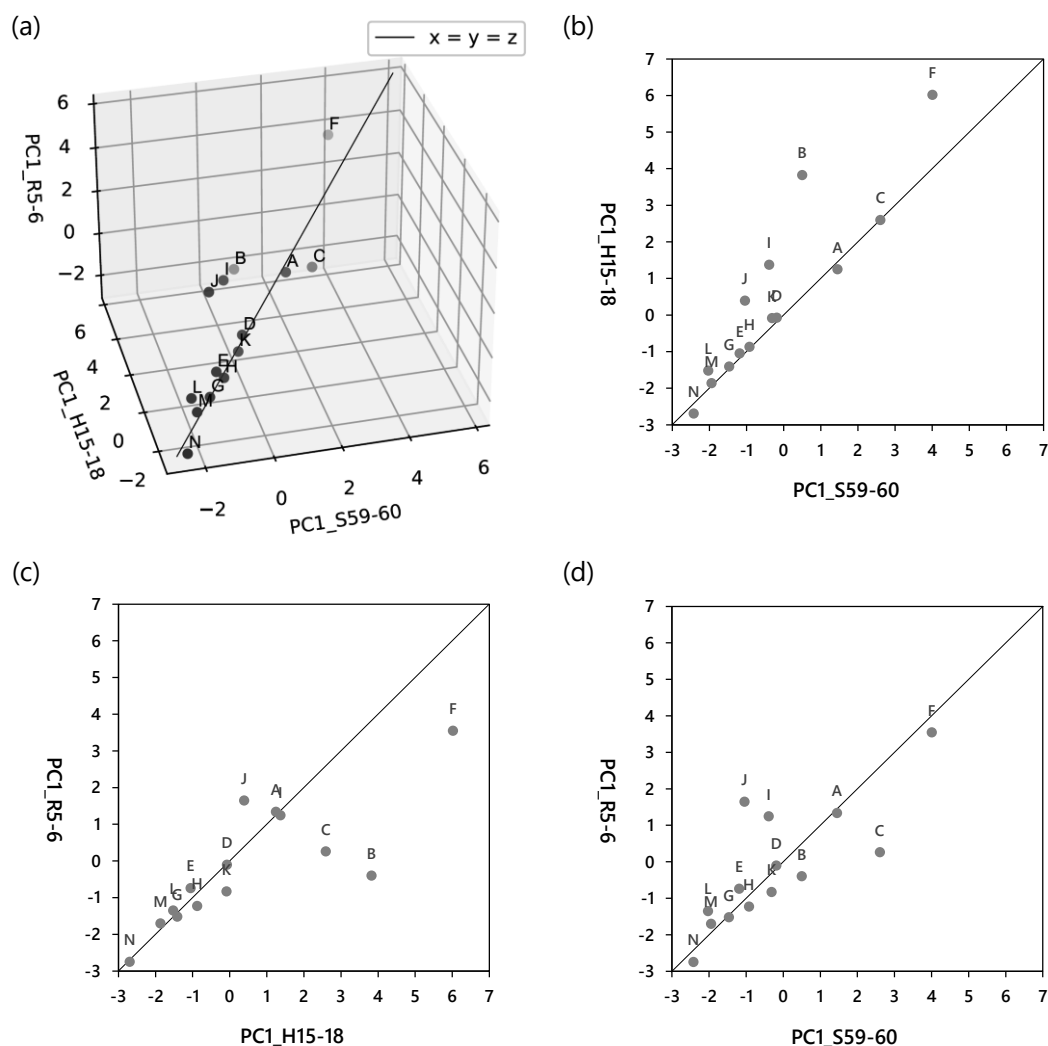


図3. (a) 14 地点 (A ~ N) における各年度の第 1 主成分得点 (PC1) の 3 次元プロット, (b) PC1 プロット (S59-60 年度 vs H15-18 年度), (c) PC1 プロット (H15-18 年度 vs R5-6 年度), (d) PC1 プロット (S59-60 年度 vs R5-6 年度)

図 3 (b), (c), (d) は 3 次元プロットを各軸方向に投影した 2 次元プロットである。図 3 中にはそれぞれ直線を合わせて示しているが、大半の地点では年度間で得点に大きな変化がなく直線近傍にプロットされており、水質組成は安定しているといえる。一方で、B, C, F, I, J の 5 地点は空間的に離れた位置にプロットされ、水質組成の変化を示唆した。F 地点については主成分分析でのみ経年変化が示唆されたが、図 1 のヘキサダイアグラムに示すように、他の地点と比較して溶存物質量が非常に多く、各イオン成分の割合的な変化は少なくとも変化量の絶対値が大きいことが、年度間の第 1 主成分得点の変化に影響したと考えられる。

表 4 に各評価方法において経年変化が考えられた地点をまとめて示す。これらの地点について、地理的な条件や名水の種類（湧水、井戸水など）に共通点は見られなかったが、複数の評価方法で経年変化が示唆された B, C, I, J 地点の名水は、特に水質組成が変化しやすいと推測できる。

表 4. 各評価方法による経年変化

評価方法	経年変化した地点
(1) ヘキサダイアグラム	B, C, I, J
(2) キーダイアグラム	B, C, I, L
(3) 主成分分析	B, C, F, I, J

表5. 「とやまの名水」のおいしい水指標 (O Index) による評価

検査年度	検査地点全体	14 地点 (A～N)	
	O Index $\geq$ 2.0 / 地点数	O Index $\geq$ 2.0	O Index $<$ 2.0
昭和 59～60 年	14 / 17	11	3 (B, C, J)
平成 15～18 年	26 / 30	11	3 (B, C, J)
令和 5～6 年	25 / 28	12	2 (D, J)

3. おいしさの評価

橋本ら [8] は、さまざまな水道水や井戸水、ミネラルウォーターの化学組成と官能試験の結果から、 Ca^{2+} 、 K^{+} 、 SiO_2 は水の味を良くし、 Mg^{2+} 、 SO_4^{2-} は水の味を悪くすると考え、それぞれのイオン濃度を用いておいしい水指標 (O Index) を式 (2) のように定義し、O Index $\geq$ 2.0 となる水を「おいしい水」とした。

$$\text{O Index} = \frac{\text{Ca}^{2+} + \text{K}^{+} + \text{SiO}_2}{\text{Mg}^{2+} + \text{SO}_4^{2-}} \quad (2)$$

主要成分の検査結果を用い、飲用されている「とやまの名水」のおいしさを評価した。表5に各年度のO Index による評価結果を示す。14 地点のうち10 地点はすべての年度についてO Index $\geq$ 2.0 であり、長期間にわたって「おいしい水」であるとされた。また、直近の令和5-6 年度では、検査総数28 地点のうち25 地点がO Index $\geq$ 2.0 を満足し、現在飲用されている「とやまの名水」のほとんどが「おいしい水」といえることがわかった。

まとめ：令和5-6 年度に、飲用されている「とやまの名水」の水質基準項目および主要成分の検査を実施した結果、検査対象地点すべての名水が水質基準に適合していた。14 地点における、昭和59-60 年度、平成15-18 年度、令和5-6 年度の検査結果について、ヘキサダイアグラムおよびキーダイアグラム、主成分分析による統計解析から水質組成の経年変化について評価したところ、それぞれ共通したいくつかの地点で水質の経年変化が示唆され、水質が変化しやすい地点があると考えられたが、大半の地点の水質は安定しているといえた。また、おいしい水指標による評価では、14 地点のうち10 地点がいずれの年度でも「おいしい水」と評価されただけでなく、令和5-6 年度に検

査した28 地点のうち25 地点は「おいしい水」と評価され、「とやまの名水」の変わらないおいしさが理化学的に裏付けられた。今後もおいしく安全な「とやまの名水」を保全していくため、名水の管理者、市町村、県の3 者が協力して衛生管理・飲用対策を徹底し、健康危機防止に努めることが重要であると考ええる。

謝 辞

水質検査の実施に際して、採水等にご協力いただいた各名水の管理者、市町村、県の関係者の方々に心より感謝いたします。

文 献

1. 富山県厚生部生活衛生課. (2002). 「とやまの名水」衛生管理マニュアル
2. 井山洋子, 高柳信孝, 健名智子, 他. (1989). 富山県衛生研究所年報, 12, 170-174
3. 健名智子, 小玉修嗣, 大戸幹也, 他. (2007). 富山県衛生研究所年報, 30, 162-167
4. 厚生労働省. (2003). 平成15 年厚生労働省告示 261 号
5. 日本水道協会. (2020). 上水試験方法 2020 年版
6. 日本地下水学会. (2009). 新・名水を科学するー水質データからみた環境ー, 技報堂出版
7. 五十嵐敏文, 馬原保典, 塩崎功. (2000). 地下水学会誌, 42(3), 243-262
8. 橋本奨, 古川憲治, 南純一. (1985). 日本水処理生物学会誌, 21(2), 19-24
9. R Core Team (2024). R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <<https://www.R-project.org/>>.

令和6年度富山県水道水質検査精度管理事業 (理化学検査項目)について(2024年度)

遊道 梓 健名 智子 安川 和志

Quality Control Survey of Chemical Analysis of Drinking Water in Toyama Prefecture in the Fiscal Year 2024

Azusa YUDO, Tomoko KEMMEI, and Kazuyuki YASUKAWA

目的：富山県では、1996年度より、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、県内で水道水等の水質検査を実施している検査機関を対象に、「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、2024年度に実施した鉛及びその化合物、ナトリウム及びその化合物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：鉛及びその化合物（以下、鉛とする）、ナトリウム及びその化合物（以下、ナトリウムとする）
- (2) 検体の配布年月日：2024年11月6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16機関
- (4) 配布検体：鉛測定用検体は、検体配布前日に作製した。5 L ガラス製メスフラスコに精製水を採り、濃硝酸（電子工業用、富士フイルム和光純薬株式会社製）50 mL と鉛標準液（1000 mg/L、原子吸光分析用、ICP 分析用、関東化学株式会社製）を100倍希釈したもの（10 mg/L）2.5 mL を添加後、5 L に定容した（鉛：0.005 mg/L）。この調製工程を4回繰り返して20 L 調製し、硝酸及び精製水で洗浄した500 mL 角型ポリエチレンビンに分注した。あらかじめ分注した順に3検体を等間隔に抜き出し、鉛濃度を測定したところ、そのビン間変動係数は1.3%であった。また、検体配布の7日後（2024年11月13日）、14日後（2024年11月20日）においても鉛濃度に変化はなく、配布検体間の濃度のばらつきや測定日の違

いによる測定値の差は無視できる範囲であると考えられた。配布に際し、鉛の濃度範囲は0.001～0.01 mg/L であると明示した。

ナトリウム測定用検体は、検体配布前日に作製した。5 L ガラス製メスフラスコに精製水を採り、1 mol/L 塩化ナトリウム溶液（容量分析用、富士フイルム和光純薬株式会社製）10 mL を添加後、5 L に定容した（ナトリウム：46.0 mg/L）。この調製工程を4回繰り返して20 L 調製し、精製水で洗浄した500 mL 角型ポリエチレンビンに分注した。あらかじめ分注した順に3検体を等間隔に抜き出し、ナトリウム濃度を測定したところ、そのビン間変動係数は1.1%であった。また、検体配布の6日後（2024年11月12日）、14日後（2024年11月20日）においてもナトリウム濃度に変化はなく、配布検体間の濃度のばらつきや測定日の違いによる測定値の差は無視できる範囲であると考えられた。配布に際し、ナトリウムの濃度範囲は20～200 mg/L であると明示した。

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

(6) 集計項目

X：各機関の測定値， X_1 ：全機関の中央値， X_2 ：全機関の平均値， σ ：全機関の標準偏差
変動係数（CV%）＝各機関の標準偏差 / $X \times 100$
誤差率（E%）＝ $(X - X_1) / X_1 \times 100$
範囲（R）＝| 最大値－最小値 |
Zスコア（Z）＝ $(X - X_2) / \sigma$
CL：中心線，UCL：上方管理限界線

結果と考察：

(1) 鉛

鉛の精度管理には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。解析の結果、誤差率が中央値 $\pm 10\%$ 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 $\pm$ 標準偏差は 0.004936 ± 0.000116 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 $0.1 \sim 1.9\%$ 、16機関間の室間変動係数は 2.4% であった。

Xbar-R 管理図を図2に示す。P機関以外の測定値は平均値 ± 2 標準偏差の範囲 ($0.004704 \sim 0.005168$ mg/L) 内に収まった。また、P機関の範囲Rは上方管理限界値 (0.000214 mg/L) を超えた。

Zスコアの順位を図3に示す。Zスコアの算出には、16機関の測定値の平均値と標準偏差を用いた。Zスコアの評価基準は、 $|Z| \leq 2$ の場合を「満足」、 $2 < |Z| < 3$ の場合を「疑わしい」、 $3 \leq |Z|$ の場合を「不満足」とした。その結果、P機関が「疑わしい」となった。

参加した16機関のうち測定方法として誘導結合プラズマ発光分光分析法 (ICP-AES) を用いた機関は1機関、誘導結合プラズマ質量分析法 (ICP-MS) を用いた機関は15機関だった。水質基準に関する省令の規定に基づき環境大臣が定める方法 (告示法) [1] において、鉛は、試料採取後2週間以内に試験することとされている。今回、すべての機関が期間内に試験を実施していた。

標準原液として、市販標準原液を使用していた機関は10機関、市販混合標準原液を使用していた機関は6機関だった。内部標準原液として、市販標準原液を使用していた機関が13機関、市販混合標準原液を使用していた機関が3機関だった。内部標準物質について、告示法では、ICP-AESでイットリウム、ICP-MSでベリリウム、コバルト、ガリウム、イットリウム、インジウム、タリウムのいずれかを選択することと規定されている。ICP-AESを用いた機関はイットリウム、ICP-MSを用いたすべての機関はタリウムを選択していた。

厚生労働省から通知されている水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン [2] では、回帰式は原点を強制的に通過させず、原則としてブランク試料を含めずに応答値が得られた濃度の標準試料のみを用いて算出すると記載されているが、1機関がブランク試料を含めた検量線を作成していた。定量下限値はすべての機関が基準値の10分の1 (0.001 mg/L) 以下に設定していた。

前処理について、すべての機関が加熱操作を実施していた。

使用した容器の材質について、検量線溶液の調製で2機関、加熱操作で1機関がガラス製の容器を使用していた。金属の一齐分析では、ガラスに含まれる金属が溶出するおそれがあるため、樹脂製の容器を用いることが望ましい。繰り返し使用する器具の洗浄について、すべての機関が硝酸で洗浄していた。また、使い捨て器具の場合は、使用前に共洗いしていた。

(2) ナトリウム

ナトリウムの精度管理には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2に、またその度数分布を図4に示す。解析の結果、誤差率が中央値 $\pm 10\%$ 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 $\pm$ 標準偏差は 46.28 ± 1.33 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 $0.2 \sim 2.3\%$ 、16機関間の室間変動係数は 2.9% であった。

Xbar-R 管理図を図5に示す。すべての機関の測定値は平均値 ± 2 標準偏差の範囲 ($43.62 \sim 48.94$ mg/L) 内に収まった。また、i機関の範囲Rは上方管理限界値 (1.88 mg/L) を超えた。

Zスコアの順位を図6に示す。Zスコアの算出には、16機関の測定値の平均値と標準偏差を用いた。すべての機関が「満足」となった。

参加した16機関のうち測定方法としてフレイム原子吸光光度法 (F-AAS) を用いた機関は4機関、ICP-AESを用いた機関は1機関、ICP-MSを用いた機関は5機関、イオンクロマトグラフ法 (IC) を用いた機関は6機関だった。告示法において、F-AAS、ICP-AES、ICP-MSでは、試料採取後2週間以内、ICでは試料採取後72時間以内に試験することとされている。今回、すべての機関が期間内に試験を実施していた。

標準原液として、すべての機関がナトリウム濃度 1000 mg/L の市販標準液を使用していた。ICP-AES、ICP-MSを用いた機関は内部標準法によって定量を行っており、内部標準原液として、市販標準原液を使用していた機関が4機関、市販混合標準原液を使用していた機関が2機関だった。内部標準物質として、ICP-AESを用いた機関はイットリウムを選択していた。また、ICP-MSを用いた機関が選択した内部標準物質の内訳は、コバルトが3機関、ガリウムが1機関、イットリウムが1機関であった。

検量線について、1機関がブランク試料を含めた検量線を作成していた。定量下限値はすべての機関が基準値の10分の1 (20 mg/L) 以下に設定

していた。また、2 機関において定量下限値が検量線の下限より低かった。

前処理について、F-AAS、ICP-AES、ICP-MS を用いた機関のうち、1 機関が加熱操作を行っていなかった。告示法では、上記の3つの測定法の前処理において、加熱操作をすることとなっており、当該操作が必要である。また、15 機関が試料の希釈操作を実施していた。F-AAS、ICP-AES、ICP-MS では、希釈試料の加熱操作が必要であると告示法に記載されているが、2 機関が行っていなかった。

使用した容器の材質について、検量線溶液の調製で7 機関、加熱操作で2 機関、希釈操作で7 機関がガラス容器を使用していた。ガラス製の器具

はナトリウムを組成に含んでいることが多いので、使用する場合には測定に影響がないことを確認する必要がある。繰り返し使用する器具の洗浄について、F-AAS、ICP-AES、ICP-MS を用いたすべての機関が硝酸で洗浄していた。また、使い捨て器具の場合は、使用前に共洗い又は超純水で洗浄していた。

文 献

1. 厚生労働省 (2003), 平成 15 年 7 月 22 日厚生労働省告示第 261 号
2. 厚生労働省 (2007), 平成 29 年 10 月 18 日付薬生水第 1018 第 1 号

表1. 鉛 結果

検査機関	測定値 X (mg/L)	変動係数 CV% (%)	誤差率 E% (%)	範囲 R (mg/L)
A	0.004790	1.0	-2.7	0.00013
B	0.004804	0.3	-2.4	0.00004
C	0.004816	1.3	-2.2	0.00016
D	0.004822	1.6	-2.1	0.00020
E	0.004844	0.2	-1.6	0.00002
F	0.004902	1.0	-0.4	0.00012
G	0.004906	0.1	-0.3	0.00001
H	0.004920	1.2	-0.1	0.00016
I	0.004926	0.8	0.1	0.00011
J	0.004960	0.3	0.8	0.00004
K	0.004972	0.4	1.0	0.00005
L	0.004976	0.6	1.1	0.00008
M	0.004976	0.7	1.1	0.00009
N	0.005014	0.6	1.8	0.00008
O	0.005120	0.8	4.0	0.00010
P	0.005220	1.9	6.0	0.00023
機関数 16				
平均値 (mg/L)	0.004936	---X ₁ 0.004923		0.000101 ---CL
標準偏差 σ (mg/L)	0.000116			
変動係数 (%)	2.4			

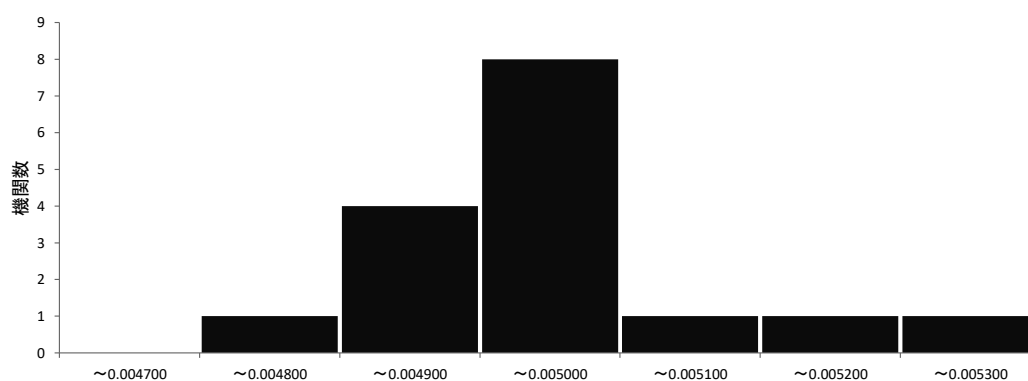


図1. 鉛 ヒストグラム

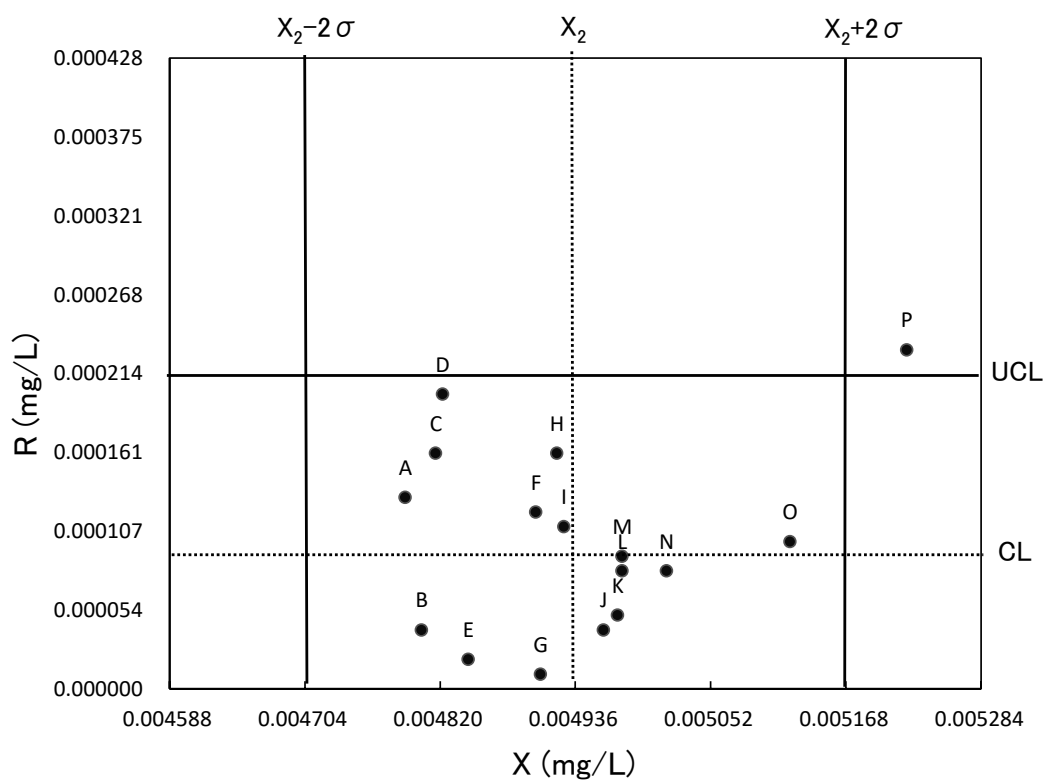


図2. 鉛 $\bar{X}$ -R 管理図

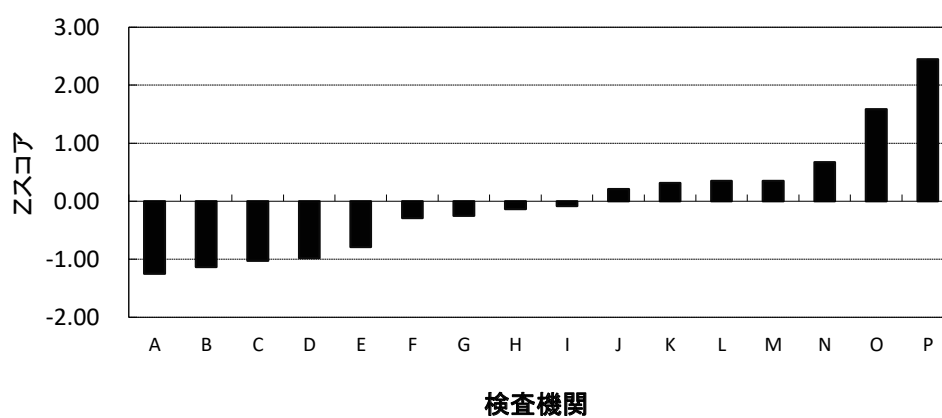


図3. 鉛 Zスコアの順位

表2. ナトリウム 結果

検査機関	測定値 X (mg/L)	変動係数 CV% (%)	誤差率 E% (%)	範囲 R (mg/L)
a	43.62	0.5	-5.6	0.6
b	44.68	0.9	-3.3	0.9
c	44.96	0.4	-2.7	0.5
d	45.30	0.2	-1.9	0.2
e	45.48	1.4	-1.5	1.3
f	45.78	1.1	-0.9	1.3
g	45.94	1.1	-0.5	1.3
h	46.00	0.3	-0.4	0.4
i	46.38	2.3	0.4	2.4
j	46.40	1.7	0.5	1.8
k	46.88	1.0	1.5	1.1
l	47.08	0.8	1.9	0.8
m	47.54	0.2	2.9	0.2
n	47.98	0.7	3.9	0.9
o	48.22	0.2	4.4	0.2
p	48.28	0.3	4.5	0.3
機関数	16			
平均値 (mg/L)	46.28	---X ₁ 46.19		0.89 ---CL
標準偏差 σ (mg/L)	1.33			
変動係数 (%)	2.9			

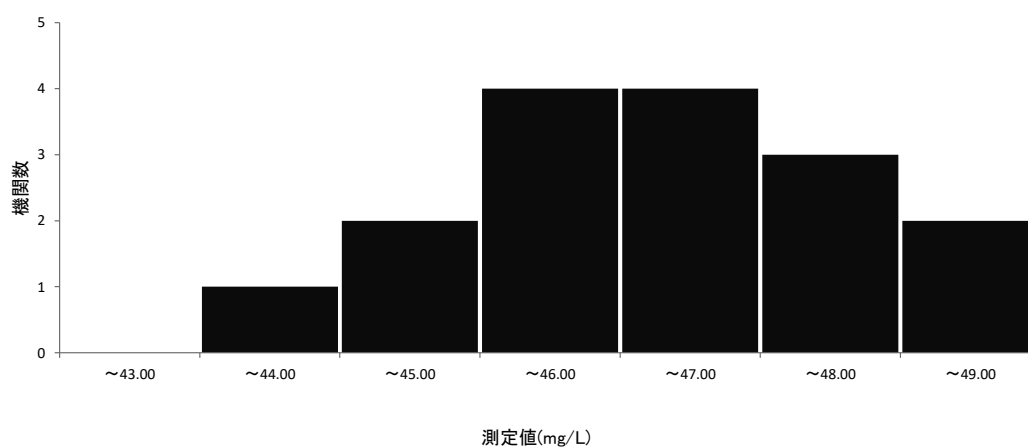


図4. ナトリウム ヒストグラム

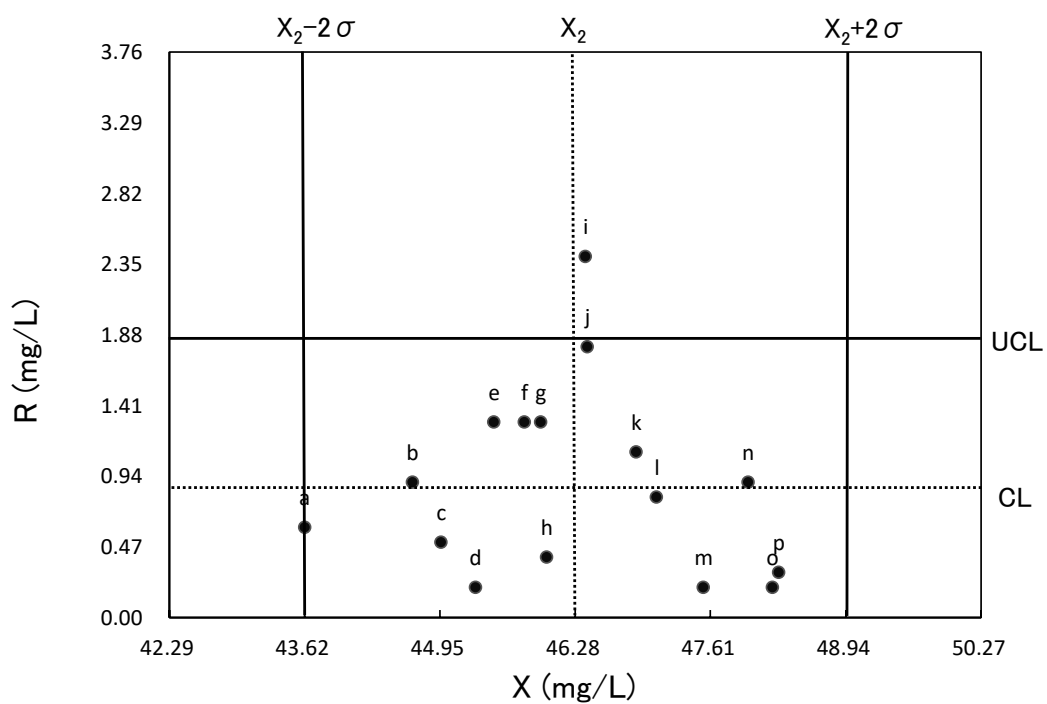


図5. ナトリウム Xbar-R 管理図

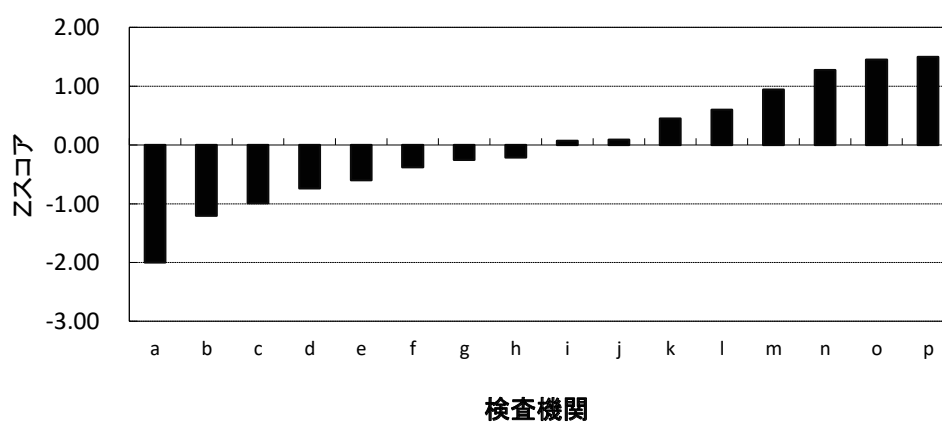


図6. ナトリウム Zスコアの順位