

# 広島市衛生研究所年報

*ANNUAL REPORT*

*OF*

*HIROSHIMA CITY INSTITUTE OF PUBLIC HEALTH*

No. 4 3

(令和5年度)

広島市衛生研究所



## はじめに

日頃より、広島市衛生研究所の業務に御理解と御協力を賜り厚く御礼申し上げます。この度、令和5年度の当所における試験検査及び調査研究等の事業実績を取りまとめましたので、御高覧のうえ、御指導、御助言をいただければ幸いに存じます。

世界的なパンデミックとなった新型コロナウイルス感染症は、令和5年5月に感染症法での位置付けが五類感染症に変更となり、コロナ以前の社会状況に戻りつつあります。当所におきましても、積極的疫学調査の一環としてゲノム解析を行い、動向の把握に努めるとともに、新たな感染症に備えるため、令和6年3月に健康危機対処計画（感染症）を策定し、実践型訓練を行うなど、平時からの準備を進めています。

また、令和5年5月には、本市においてG7広島サミットが開催されました。安全・安心で円滑なサミット開催のため、関係機関の協力のもと、強化サーベイランス等が実施され、当所においては、感染症発生動向調査や病原体検査のほか、緊急時に備えたG7関連施設の水質検査対応等の役割を担いました。

環境部門においては、近年、河川や地下水等での検出事例が認められ、人の健康に影響を及ぼす可能性が指摘されている有機フッ素化合物（PFOS・PFOA）について、当所では、令和4年度より市内の河川水等について調査を実施しており、令和5年度の調査において、国が設定する暫定指針値（50ng/L）を超過する地点があったことから、定期的な検査を継続して実施しています。

これからも、感染症や食中毒、環境事故等への健康危機管理における科学的・技術的な中核機関としての機能を発揮できるよう、関係機関との連携を図りながら、様々な課題に的確に応えられる検査体制の強化に取り組むとともに、検査技術の研鑽・向上に努めてまいります。今後とも皆様方の御指導、御鞭撻を賜りますようお願い申し上げます。

令和6年12月

広島市衛生研究所長 田中 宏子



# 目 次

## 総 務

I	沿革	1
II	組織機構及び業務内容	
1	組織及び業務内容	2
2	職員配置	3
III	庁舎及び施設概要	
1	建物・施設概要	4
2	庁舎配置図	4
IV	予算概要	
1	予算概要	5
2	令和5年度主要整備機器	5
V	会議・研修等	
1	会議	6
2	研修・講習会	7
3	所内研修	8
4	精度管理	9
5	研修指導	10

## 業務報告

生活科学部		
1	疫学情報関連業務	11
2	生活化学関連業務	13
生物科学部		
1	食品細菌関連業務	17
2	細菌病理関連業務	19
3	ウイルス関連業務	20
環境科学部		
1	水質関連業務	22
2	大気関連業務	24

# 調査研究報告

## I 調査研究

1 MT 法を活用した広島市における手足口病の流行開始予測-----	27
2 原因不明感染症事案等における網羅的ゲノム解析法を用いた病原体検索-----	33

## II 資料

1 広島市感染症発生動向調査事業における感染症の発生動向(2023 年)-----	37
2 食品中のプロピレングリコール試験法の妥当性確認-----	41
3 広島市の細菌性集団食中毒検査状況(令和 5 年度)-----	43
4 mP-BIT 法及び Penner-PCR 法を用いた <i>Campylobacter jejuni</i> 株間の比較解析-----	44
5 広島市域で分離された <i>Salmonella enterica</i> Enteritidis の分子疫学解析-----	48
6 広島市感染症発生動向調査事業における細菌検出状況(2023 年)-----	51
7 2019 年から 2023 年までに広島市内で検出されたパンコマイシン耐性腸球菌の分子疫学解析-----	58
8 広島市感染症発生動向調査事業におけるウイルス検出状況(2023年)-----	64
9 流行性角結膜炎患者からのヒトアデノウイルス新規リコンビナント株の検出-----	69
10 広島市で初めて確認されたエムポックスウイルス検出事例-----	72
11 ノロウイルス G II.4 の全ゲノム解析手法の検討-----	75
12 河川マイクロプラスチックの市内河川における排出実態調査結果(2023 年度)-----	78

## III 抄録

### 学会発表

1 MT 法による広島市における手足口病の流行開始予測-----	79
2 MT 法を活用した広島市における手足口病の流行開始予測について-----	79
3 着色料分析において試料の偏りにより追加試験を要した事例について-----	79
4 LC-MS/MS による農作物中の残留農薬一斉試験法の妥当性評価-----	79
5 2017～2023 年に広島市で分離された <i>Campylobacter coli</i> の分子疫学的解析-----	80
6 mP-BIT 法及び Penner-PCR 法を用いた <i>Campylobacter jejuni</i> 株間の比較解析-----	80
7 cgMLST 法により同一由来と確認された腸管出血性大腸菌感染症事例-----	80
8 浴槽水のレジオネラ属菌検査における迅速検査法(LC EMA-qPCR)実施結果と培養検査法との比較-----	80

9 複数医療機関で分離されたバンコマイシン耐性腸球菌の分子疫学解析結果-----	81
10 次世代シーケンサーを用いたノロウイルスの遺伝子解析(クローニングの代替法として)-----	81
11 ノロウイルス食中毒疑い事案における全ゲノム解析による感染経路の推定-----	81
12 原因不明感染症事案等における網羅的ゲノム解析法を用いた病原体検索-----	82
13 2023年度広島市内河川 PFOS, PFOA 調査結果について-----	82



# 総務

- I 沿革
- II 組織機構及び業務内容
- III 庁舎及び施設概要
- IV 予算概要
- V 会議・研修等



## I 沿　　革

昭和25年7月、当所の前身である衛生試験室が、広島市保健所に設置された。その後、昭和44年4月衛生試験所として独立、昭和46年10月に公害試験所を分離設置し、市民生活の衛生的基盤の確立に努力してきた。

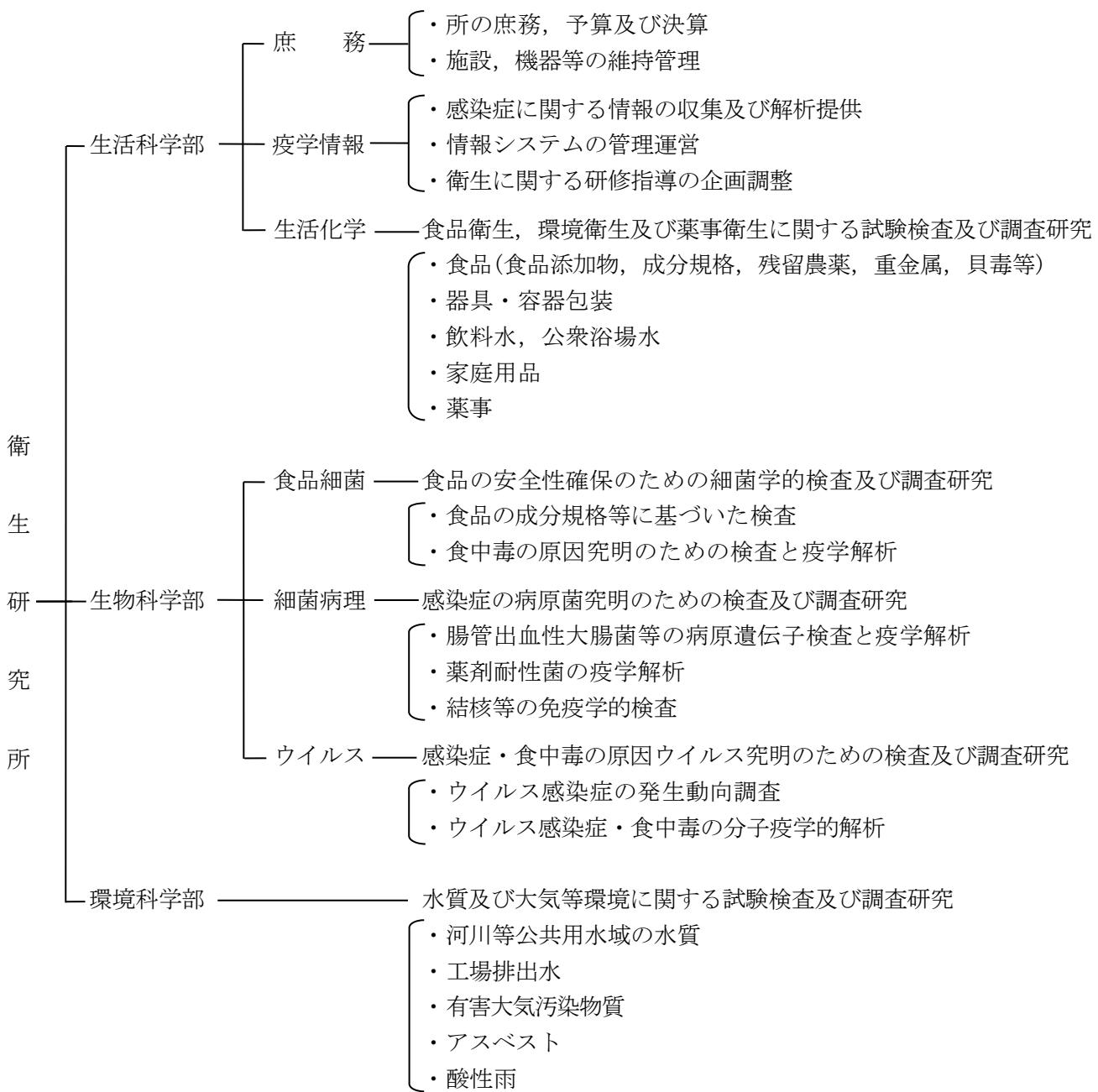
昭和55年政令指定都市への移行を機に、昭和57年4月衛生試験所と公害試験所を統合し衛生研究所を新設した。現在は、庶務・疫学情報・生活化学に関する業務を行う生活科学部、食品細菌・細菌病理・ウイルスに関する業務を行う生物科学部、水質・大気に関する業務を行う環境科学部の3部体制をとり、複雑多様化してきた公衆衛生に係る行政需要に対応している。

### 年　　譜

昭和25年 7月	広島市保健所(昭和28年より東保健所)に衛生試験室を設置。
昭和44年 4月	衛生試験所条例施行により、東保健所の2階の一部に衛生試験所(化学試験係、細菌病理検査係)を設置。
昭和45年 1月	東保健所に増築された3階部分に移転。
昭和46年10月	化学試験係より公害関連業務を分離、環境保全部に公害試験所を新設。
昭和48年 4月	衛生試験所の係制を科制に変更。
昭和50年 7月	衛生試験所に環境科を新設し、化学試験科を食品科に改め、細菌病理科と合わせて3科体制となる。
昭和55年 3月	衛生研究所建設事業計画に基づいて、庁舎の建設に着手。
昭和55年 4月	政令指定都市に移行。
	衛生試験所に食品衛生科を新設し、食品科を食品化学科に、環境科を環境衛生科に改め、細菌病理科と合わせて4科体制となる。
	公害試験所は水質科と大気科の2科体制となる。
昭和57年 4月	衛生研究所条例施行により衛生試験所と公害試験所を統合し、西区商工センター四丁目に衛生研究所を設置。
	食品環境部、微生物部、公害部の3部体制で発足。
平成 7年 3月	本館内に生物安全実験室(P3レベル：ウイルス)を整備。
平成 9年 4月	食品環境部を生活科学部に、微生物部を生物科学部に、公害部を環境科学部に改める。
平成13年 3月	化学物質安全実験施設を整備。
平成13年 4月	感染症情報センターを本庁から移管。
平成15年 3月	学識経験者等の外部委員による機関評価を実施。
平成20年 6月	本館内に生物安全実験室(P3レベル：細菌)を整備。
平成22年 9月～平成24年 6月	庁舎の耐震改修工事を実施。

## II 組織機構及び業務内容

### 1 組織及び業務内容



## 2 職員配置

(令和6年4月1日現在)

部 門	職 種	事務 吏員	技 術 吏 員						再任用 ・会計 年度任 用	計
			獣医師	薬剤師	化学	農芸 化学	水産	臨床検 査技師		
所 長			1							1
生活科学部	部 長				1					1
	(庶務)	1							2	3
	(疫学情報)				1	1		1		3
	(生活化学)			1	4	1		1		7
生物科学部	部 長			1						1
	(細菌病理)			2		2			1	5
	(食品細菌)		1	1			2	1		5
	(ウイルス)		1	2		1				4
環境科学部	部 長				1					1
	(水質及び 大気)			3	3	2		1		9
合 計		1	3	10	10	7	2	4	3	40

### Ⅲ 庁舎及び施設概要

#### 1 建物・施設概要

##### (1) 建設規模

ア 敷地面積	5, 575. 56 m <sup>2</sup>
イ 建築面積 総建築面積	1, 529. 96 m <sup>2</sup>
総延床面積	4, 915. 141 m <sup>2</sup>

##### ウ 建物概要

本 館	鉄筋コンクリート造 地下1階・地上4階建(一部5階)
	建築面積 1, 101. 86 m <sup>2</sup>
	延床面積 4, 487. 041 m <sup>2</sup>

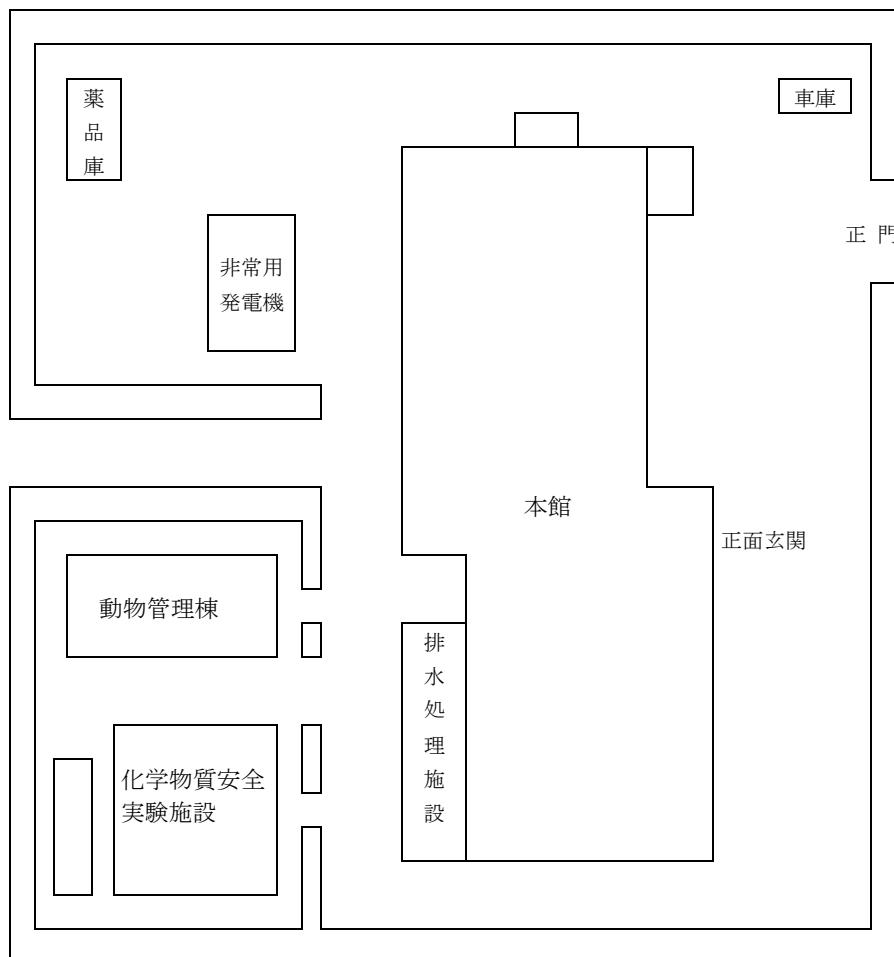
##### 化学物質安全実験施設

動物管理棟	鉄筋コンクリート造平屋建	床面積 204. 27 m <sup>2</sup> (内 倉庫等90. 83 m <sup>2</sup> を含む)
薬 品 庫	ブロック造平屋建	床面積 199. 83 m <sup>2</sup>
		24 m <sup>2</sup>

##### (2) 設備概要

電気設備	非常用発電機 6. 6kV 750kVA
排水処理設備	pH調整装置

#### 2 庁舎配置図



## IV 予算概要

### 1 予算概要

科 目		予 算 額(当初)	
		令和6年度	令和5年度
歳 入 市 債 市 債 衛 生 費	保 健 衛 生 債	(千円)	(千円)
		34,800	36,900
	計	34,800	36,900
歳 出 衛 生 費 保 健 衛 生 費 環 境 衛 生 費	旅 費 需 用 費 役 務 費 委 託 料 使 用 料 及 び 貸 借 料 工 事 請 負 費 備 品 購 入 費 負 担 金, 補 助 及 び 付 交 金 公 課 費	2,243 54,146 759 50,206 483 25,000 20,000 283 17	2,210 55,745 687 50,757 485 28,000 20,300 398 17
	計	153,137	158,599

### 2 令和5年度主要整備機器

品 名	型 式	数 量
核酸・蛋白解析装置	ライフテクノロジーズジャパン(株) SeqStudio 8 Flex ジェネティックアナライザ	1
分注器(自動核酸抽出装置)	プロメガ(株) Maxwell RSC	1
水銀計	京都電子工業(株) MD-700D	1

## V 会議・研修等

### 1 会議

年月日	会議名	開催地	出席者名
R5. 6. 2	令和5年度地方衛生研究所全国協議会臨時総会	Web 開催	上田
6. 8~9	第77回地方衛生研究所全国協議会中国四国支部会議 及び令和5年度全国環境研協議会中国四国支部会議	松山市	上田 ほか
7. 5~6	衛生微生物技術協議会第43回研究会	岐阜市	青田・宇野
9. 7~8	令和5年度指定都市衛生研究所長会議	北九州市	上田
10. 30	令和5年度第74回地方衛生研究所全国協議会総会	つくば市	上田
11. 9~10	第60回全国衛生化学技術協議会年会	福島市	吉岡 ほか
11. 16~17	第50回環境保全・公害防止研究発表会	鳥取市	田代
R6. 1. 25~26	第37回公衆衛生情報研究協議会総会・研究会	和光市・Web	臼田・山岡
2. 6	第52回全国環境研協議会総会	Web 開催	上田
2. 6	令和5年度地方公共団体環境試験研究機関等所長会議	Web 開催	上田

## 2 研修・講習会

年月日	研修・講習会名	研修機関名	参加者
R5. 6. 1	食の安全と微生物検査 2023 年度講演会	NPO 法人食の安全と微生物検査	池田
7. 7 ～R6. 3. 31	令和 5 年度食品安全行政講習会	厚生労働省医薬・生活衛生局 食品監視安全課	佐藤
7. 14	環境測定分析統一精度管理調査中国・四 国ブロック会議	全国環境研協議会	花木 ほか
7. 20 ～R6. 3. 31	令和 5 年度食品衛生検査施設信頼性確 保部門責任者等研修会	厚生労働省医薬・生活衛生局 食品監視安全課	鳩岡
8. 3	危険物取扱者保安講習	(一社) 広島県危険物安全協 会連合会	森本・仙本
9. 26～28	令和 5 年度薬剤耐性菌の検査に関する 研修 基本コース	国立感染症研究所薬剤耐性 研究センター	平岡
9. 28	令和 5 年度薬剤耐性菌の検査に関する 研修 アップデートコース	国立感染症研究所薬剤耐性 研究センター	青田
9. 28～29	カルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染 症の臨床的分子疫学解析 令和 5 年度 分担小班会議	国立感染症研究所薬剤耐性 研究センター	青田
10. 12～18	新興再興感染症技術研修	国立保健医療科学院	青田
10. 27	令和 5 年度地域保健総合推進事業中国・ 四国ブロック地域専門家会議	地方衛生研究所全国協議会 中国・四国支部	田内 ほか
10. 27	令和 5 年度地域保健総合推進事業中国・ 四国ブロック地域レファレンスセンタ ー連絡会議	地方衛生研究所全国協議会 中国・四国支部	田内 ほか
10. 30～11. 17	ウイルス研修	国立保健医療科学院	山木戸
12. 1～13	令和 5 年度水質分析研修	環境調査研修所	大前
R6. 1. 23	令和 5 年度地方衛生研究所全国協議会 衛生理化学分野研修会	地方衛生研究所全国協議会 理化学部会	鳩岡 ほか
1. 26～2. 14	令和 5 年度大気分析研修	環境調査研修所	仙本
1. 29～30	令和 5 年度化学物質環境実態調査環境 科学セミナー	環境省	仙本
2. 7	令和 5 年度水道水質検査精度管理に 関する研修会	厚生労働省健康・生活衛生局 水道課水道水質管理室	森本
2. 8	実験動物管理者等研修会	厚生労働省厚生科学課	池田
2. 14～15	令和 5 年度希少感染症診断技術研修会	国立感染症研究所	古谷・児森
2. 15	令和 5 年度検査精度管理業務研修会	中国四国厚生局	馬部・池田

### 3 所内研修

#### (1) 研修

日 程	名 称	内 容	講 師
R5. 4. 26	新任研修	衛生研究所新任職員に対する業務内容等説明	所長及び各部担当者

#### (2) 業績発表会

日 程	名 称	内 容	発 表 者
R6. 2. 22	業績発表会	1 MT 法を活用した広島市における手足口病の流行開始予測について 2 水銀測定装置更新にともなう試験法の妥当性確認 3 LC-MS/MS による農作物中の残留農薬一斉試験法の妥当性評価 4 広島市内河川 PFOS・PFOA 調査結果(2023 年度) 5 有害大気汚染物質モニタリング調査を振り返って - B[a]P が高値となった 1 事例 - 6 PM2.5 無機成分分析結果(2021～2022 年度分) 7 広島市における流行性角結膜炎患者からのアデノウイルス検出状況 8 次世代シーケンサー活用推進プロジェクト 解析環境の構築に向けて 9 SISPA 法を用いたウイルス RNA-seq の検討 10 ノロウイルス GII.4 の全ゲノム解析手法の検討 11 広島市域で分離されたサルモネラの分子疫学解析 12 2017～2023 年に広島市で分離された <i>Campylobacter coli</i> の分子疫学的解析 13 mP-BIT 法及び Penner-PCR 法を用いた <i>Campylobacter jejuni</i> 株間の比較解析 14 病原大腸菌の H 血清型別検査法について 15 LC EMA-qPCR 法におけるレジオネラ属菌菌種の違いによる影響の検討	山岡 誠司 堀 敬太 大平 浩史 田坂 葉子 宮野 高光 仙本 清孝 塙 朋実 山木戸 聰 宇野 拓也 児森 清香 大原有希絵 千神 彩香 池田 伸代 山本 泰子 平岡 史帆

## 4 精度管理

### (1) 業務管理

「広島市衛生研究所における検査等の業務管理基準要綱(平成9年4月1日)」,「広島市衛生研究所環境科学部における試験検査等の業務管理基準要領(平成16年4月1日)」及び「広島市衛生研究所における病原体等検査の業務管理要領(平成28年4月1日)」に基づき,業務管理を実施した。

### (2) 外部精度管理

#### ア 生活科学部

##### (ア) 食品衛生外部精度管理調査(一般財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所)

対象:着色料(タール色素),保存料(ソルビン酸),重金属(カドミウム),残留農薬(一斉分析,フェントエート等),残留動物用医薬品(スルファジミジン)

##### (イ) 水道水質検査精度管理統一試料調査(厚生労働省医薬・生活衛生局 水道課 水道水質管理室)

対象:無機物(硝酸態窒素及び亜硝酸態窒素),有機物(ホルムアルデヒド)

##### (ウ) 令和5年度地域保健総合推進事業に係る精度管理事業(広島市衛生研究所)

対象:下痢性貝毒

#### イ 生物科学部

##### (ア) 食品衛生外部精度管理調査(一般財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所)

対象:腸内細菌科菌群,一般細菌数,黄色ブドウ球菌,サルモネラ属菌,E.coli,大腸菌群

##### (イ) 令和5年度厚生労働省外部精度管理事業(国立感染症研究所)

対象:新型コロナウイルスゲノム解析,麻しん・風しん

##### (ウ) 結核菌遺伝子型別外部精度評価(厚生労働科学研究)

対象:結核菌 VNTR 解析

##### (エ) 結核菌全ゲノム解析外部精度評価(厚生労働科学研究)

対象:結核菌全ゲノム解析

##### (オ) 腸管出血性大腸菌 0111 株の遺伝子型別検査法(MLVA 法等)による精度管理(厚生労働科学研究)

対象:PFGE, MLVA

##### (カ) レジオネラ属菌検査外部精度管理(厚生労働科学研究)

対象:レジオネラ属菌

##### (キ) 新型コロナウイルス感染症の PCR 検査等にかかる精度管理調査(厚生労働省委託事業)

対象:新型コロナウイルス

#### ウ 環境科学部

##### 令和5年度環境測定分析統一精度管理調査(一般財団法人日本環境衛生センター)

対象:COD,全窒素,亜硝酸性窒素,硝酸性窒素(模擬水質試料),揮発性有機化合物(模擬水質試料)

### (3) 内部精度管理

#### ア 生活科学部

令和5年度内部精度管理実施計画を策定し,実施した。

対象:成分規格,食品添加物,残留農薬,動物用医薬品,重金属,下痢性貝毒,器具・容器包装

#### イ 生物科学部

令和5年度内部精度管理実施計画を策定し,実施した。

対象:腸内細菌科菌群,一般細菌数,黄色ブドウ球菌,サルモネラ属菌,E.coli,大腸菌群,インフルエンザウイルス,ノロウイルス,コレラ菌

5 研修指導

年月日	指導内容	受講者	人員	担当
R5. 10. 2～3	業務説明及び業務見学	タイ王国サラブリー県ノンジャラカエ地区職員	1名	生活科学部 生物科学部 環境科学部
10. 26	業務説明及び業務見学	中華人民共和国重慶市職員	2名	生活科学部 生物科学部 環境科学部
11. 16～17	食品検査体験研修	保健所食品衛生監視員	6名	生活科学部 生物科学部
11. 29	環境分析研修	健康福祉局・環境局・下水道局職員	6名	環境科学部

6 施設見学等

年月日	見学者	人員
R5. 6. 22	JICA研修生	14名

# 業 務 報 告



# 生 活 科 学 部

生活科学部の主要業務は、公衆衛生情報の解析提供、食品衛生・環境衛生・薬事衛生に関する試験及び調査研究であり、疫学情報関連業務及び生活化学関連業務に大別される。

疫学情報関連業務では、感染症情報センターの運営、感染症情報の収集・解析・提供、ホームページの管理・運営に関する業務を実施している。

生活化学関連業務では、食品に関する理化学試験、成分規格試験、食品添加物試験及び残留農薬等の有害化学物質試験など、食品衛生法に基づく各種試験を実施している。また、水道法に基づく飲料水試験、環境衛生関係の法令に基づく公衆浴場水等の水質試験、有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律に基づく家庭用品試験、医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律に基づく医薬品成分試験等、生活化学に係る各種試験及び調査研究を幅広く実施している。

なお、当部では、予算及び決算、施設、機器の維持管理等、衛生研究所の庶務に関する事務を所管している。

令和5年度の業務概要を以下に報告する。

## 1 疫学情報関連業務

公衆衛生情報の有効な活用を図るため、情報の収集及び解析提供に関する業務を行った。

### (1) 感染症情報センターの運営

本市では、広島市感染症発生動向調査事業実施要綱に基づき、衛生研究所に感染症情報センターを設置している。感染症情報の分析評価、週報の作成等は、生物科学部と共同で実施した。

#### ア 感染症発生動向調査

令和5年は、市内全医療機関から報告された新型コロナウイルス感染症を除く全数把握対象の感染症は560件、定点医療機関から報告された感染症は、表1に示すとおり、39,149件であった。なお、新型コロナウイルス感染症は令和5年5月8日に5類感染症へ移行し、定点把握対象の感染症に加わった。あわせて、従来のインフルエンザ定点はインフルエンザ/COVID-19定点となった。

これらの感染症情報は、市内8か所の保健センターが収集し、感染症発生動向調査システムを通じて、中央感染症情報センター(国立感染症研究

所)へ報告した。

#### イ 感染症週報の作成

当センターは、収集された市内の患者情報を集計・分析し、広島市衛生研究所で検査した病原体情報、中央感染症情報センターから公表される全国情報と併せて感染症週報を作成している。令和5年度は、定点医療機関、広島市感染症対策協議会委員、各医師会、庁内関係部局、関係機関に延べ4,557件の提供を行った。また、ホームページに掲載し、市民への情報提供を行った。

#### ウ 広島市感染症対策協議会への資料提供

感染症の予防対策、緊急対策を協議するための学識経験者や医師会代表からなる広島市感染症対策協議会へ、収集・分析しグラフ化した疫学情報にコメントを添えた資料を12回提供した。

#### エ 報道機関等への情報提供

報道機関、医療機関、教育機関、出版社等、庁内関係部局及び市民からの依頼に対して、感染症の詳細情報、微生物の電子顕微鏡写真等の提供、質問への回答等、72件の対応を行った。

#### (2) 広島市衛生研究所年報の作成

令和4年度における当所の事業概要と調査研究等を収録した「広島市衛生研究所年報第42号(令和4年度)」を作成し、衛生研究所ホームページに公開した。

#### (3) 卫生研究所ホームページの運営

衛生研究所ホームページを管理・運営し、広く市民及び関係機関等に情報提供を行った。表2に衛生研究所ホームページの管理状況を、表3に新規掲載・更新した主なトピックスを、表4にアクセス数の多かったページを示す。なお、衛生研究

表1 定点医療機関

区分	定点数	報告件数 (令和5年)
インフルエンザ/COVID-19 定点	37	24,544
小児科定点	24	13,224
眼科定点	8	270
性感染症定点	9	878
基幹定点	7	233

※インフルエンザ/COVID-19 定点は小児科定点 24 を含む

所ホームページの年間アクセス数は 523,030 件であった。

#### (4) 病原体等の検査の信頼性確保業務

生物科学部が実施する病原体等の検査が、感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律に基づき、適切に行われていることを確認するため、信頼性確保部門の業務を行った。

##### ア 内部監査

検査や検体等に関する記録簿の点検、機械器具の管理等が適切に実施されていることの確認及び試験室の視察を行った。

監査実施日：令和 6 年 3 月 8 日、14 日、15 日  
イ 外部精度管理

厚生労働省が実施する「新型コロナウイルスの次世代シーケンシング(NGS)による遺伝子の解読・解析」「麻しん・風しんウイルスの核酸検出検査」「新型コロナウイルス感染症の PCR 検査等にかかる精度管理調査の結果について」の外部精度管理事業に参加し、取りまとめを行った。

##### ウ 内部精度管理

生物科学部が実施した検査の信頼性確保試験の確認を行った。

#### (5) 各種照会等に係る連絡調整

地方衛生研究所全国協議会及び同中国・四国支部等との連絡業務、地方衛生研究所や地方環境研究所など関係機関からの研究所運営等に関する各種照会、調査依頼などの窓口として所内各部の取りまとめや連絡、調整等の対応を行った。

表 2 衛生研究所ホームページの管理状況

令和 6 年 3 月現在

内容	件数
総コンテンツ (HTML ファイル) 数	302
更新 HTML ファイル数	2,308
グラフ、PDF 等更新ファイル数	6,714

※衛生研究所トップページ

<https://www.city.hiroshima.lg.jp/site/eiken/>

#### (6) 衛生研究所情報管理システムの管理運営

感染症情報の集計・分析に使用する衛生研究所情報管理システムの管理運用を行った。

表 3 更新した主な衛研ニュース

掲載年月	コンテンツタイトル等
R5. 8	生食用食肉の検査について
R5. 11	食品添加物について
R5. 12	広島市内のアスベスト調査について

表 4 アクセス数の多かったページ

(令和 5 年 4 月～令和 6 年 3 月)

順位	コンテンツタイトル等	アクセス数
1	広島市の感染症最新情報/最新週のトピックス	96,842
2	消毒液の作り方と使用上の注意(次亜塩素酸ナトリウム)	75,454
3	感染症情報/定点当たりとは	59,311
4	インフルエンザ最新情報	54,380
5	広島市におけるインフルエンザ様疾患による学級閉鎖等(集団かぜ)の発生状況(今シーズン)	25,301
6	広島市感染症情報センター	16,941
7	発生動向一覧表(週報対象疾患)	12,638
8	最近 5 週間の報告状況(週報対象疾患)	10,957
9	疾患別グラフ(新型コロナウイルス感染症(COVID-19))	8,946
10	広島市感染症週報(最新・バックナンバー)	7,605
11	衛研ニュース/食品中の重金属について	7,187
12	感染症情報/梅毒	5,827
13	最近の動向/感染性胃腸炎	5,738
14	各区保健センター連絡先(感染症法に基づく発生届の届出など)	4,379
15	感染症情報/麻しん(はしか)	4,291

## 2 生活化学関連業務

保健所等行政機関からの依頼に基づき、食品衛生、環境衛生及び薬事衛生に関する試験を行った。令和5年度の試験件数の内訳を表5に示す。

### (1) 食品等の理化学試験

保健所が実施した収去等に基づいて、73検体、延べ87項目について試験を行った。その内訳を表6に示す。試験項目は、水素イオン濃度、酸価・過酸化物価、水分活性などであった。

### (2) 食品の成分規格試験

保健所が実施した収去に基づいて、規格を有する清涼飲料水、乳・乳製品、食肉製品、生あん等について、15検体、延べ72項目の試験を行った。その内訳を表7に示す。規格基準違反はなかった。

### (3) 食品中の食品添加物試験

保健所が実施した収去に基づいて、市内に流通

表5 生活化学関連業務試験件数

試験区分	検体数	延べ項目数
食品等の理化学試験	73	87
食品の成分規格試験	15	72
食品中の食品添加物試験	93	190
食品中の有害化学物質試験	111	12,464
器具・容器包装の試験	6	36
飲料水試験	23	800
無機溶存成分試験	20	140
その他の水質試験	34	126
家庭用品試験	24	747
食品中の医薬品成分試験	9	36
妥当性評価試験	472	36,365
計	880	51,063

する輸入食品を中心に93検体、延べ190項目について試験を行った。その内訳を表8に示す。

このうち、防かび剤については、輸入果実3検体、延べ12項目について試験を行った。全ての検

表6 食品等の理化学試験

区分	検体数	延べ項目数
酸価・過酸化物価	14	28
ヒスタミン	3	3
水素イオン濃度(pH)	29	29
塩分濃度	12	12
水分活性	15	15
計	73	87

表7 食品の成分規格試験

区分	検体数	延べ項目数
乳・乳製品	4	12
アイスクリーム類・氷菓	1	2
清涼飲料水	6	54
食肉製品	2	2
生あん	2	2
計	15	72

表8 食品中の食品添加物試験

区分	検体数	延べ項目数
甘味料	24	34
着色料	5	80
品質保持剤	9	9
防かび剤	3	12
保存料	52	55
計	93	190

表9 防かび剤試験結果

食品名	検体数	生産地	検出数	生産地	検出防かび剤及び検出値
レモン	3	輸入(チリ)	3	チリ	アゾキシストロビン 0.00003g/kg イマザリル 0.0012g/kg フルジオキソニル 0.00068g/kg
				チリ	アゾキシストロビン 0.0018g/kg イマザリル 0.0020g/kg チアベンダゾール 0.00045g/kg フルジオキソニル 0.0014g/kg
				チリ	アゾキシストロビン 0.0022g/kg イマザリル 0.00074g/kg フルジオキソニル 0.0012g/kg
計	3		3		

体から防かび剤が検出されたが、いずれも使用基準以下であった。詳細を表 9 に示す。

その他の食品添加物についても、表示違反、使用基準違反はなかった。

#### (4) 食品中の有害化学物質試験

本市における食の安全・安心の確保を目的に、収去等の行政試験を中心に食品中の有害化学物質について、111 検体、延べ 12,464 項目の試験を行った。その内訳を表 10 に示す。

##### ア 残留農薬

野菜、果実など 62 検体、延べ 12,045 項目について試験を行った。その内訳を表 11 に示す。このうち 6 検体から 6 種類の農薬が検出されたが、いずれも残留基準値以下であった。試験結果の詳細を表 12 に示す。

##### イ 動物用医薬品

鶏の筋肉、はちみつ及び養殖魚介類 11 検体、延べ 378 項目について試験を行った。その内訳を表 13 に示す。いずれの検体からも動物用医薬品は検出されなかった。

##### ウ 重金属

広島湾内産の牡蠣、魚類など 11 検体に対して、総水銀の試験を実施した。例年と比較して、特に異常な値は認められなかった。

##### エ 貝毒

「貝毒対策実施要領」(広島県)に基づいて、広島県北部海域の貝の毒化状況について 26 検体、延べ 29 項目を試験した。その結果を表 14 に示す。いずれの検体からも麻痺性貝毒及び下痢性貝毒は検出されなかった。

##### オ ふぐ毒

保健所の依頼により、1 検体についてふぐ毒試験を行った。

表 10 食品中の有害化学物質試験

区分	検体数	延べ項目数
残留農薬	62	12,045
動物用医薬品	11	378
重金属	11	11
麻痺性・下痢性貝毒	26	29
ふぐ毒	1	1
計	111	12,464

#### (5) 器具・容器包装の試験

保健所が実施した収去に基づいて、器具・容器包装 6 検体、延べ 36 項目の試験を行った。全て基準に適合していた。

#### (6) 飲料水

##### ア 飲料水試験

保健所等行政機関からの依頼に基づき、井戸水 23 検体、延べ 800 項目について飲料用適否試験を行った。その内訳を表 15 に示す。水質基準に適合しなかったものは、2 検体、不適合率 8.7% であり、不適合項目は、大腸菌であった。

##### イ 無機溶存成分試験

飲料用の地下水質を把握するため、全項目試験を行った 20 検体について、硫酸イオン、カリウム等の無機溶存成分、延べ 140 項目について試験を行った。

#### (7) その他の水質試験

保健所の依頼により、公衆浴場水 34 検体、延べ 126 項目について水質試験を行った。基準に適合しないものはなかった。

#### (8) 家庭用品試験

保健所の依頼により、有害物質を含有する家庭用品の規制に関する法律に基づいて、繊維製品 24 検体、延べ 747 項目について試験を行った。全て基準に適合していた。

#### (9) 食品中の医薬品成分試験

保健所の依頼により、医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律に基づいて、いわゆる「健康食品」(瘦身系)9 検体について、医薬品成分であるエフェドリン、シブトラミン、フェノールフタレン、フェンフルラミンの定性試験を行ったが、いずれも検出されなかった。

表 11 残留農薬試験

区分	検体数	延べ項目数
野菜	国内産	46
果実	国内産	3
	輸入品	3
鶏の筋肉	輸入品	4
はちみつ	国内産	1
加工食品	国内産	2
	輸入品	3
計		12,045

表 12 残留農薬試験結果

食品名	検体数	生産地*	検出数	生産地*	検出農薬及び検出値
<b>【農産物(野菜・果実)】</b>					
かぼちゃ	1	北海道 1	0		
きゅうり	5	広島市 4, 宮崎県 1	1	宮崎県	プロシミドン 0.03ppm
小松菜	5	広島市 4, 福岡県 1	0		
だいこんの根	2	山口県 1, 長崎県 1	0		
たまねぎ	4	北海道 2, 島根県 1, 佐賀県 1	0		
とうもろこし	2	愛知県 2	0		
トマト	6	広島市 4, 広島県 1, 熊本県 1	1	広島市	エトフェンプロックス 0.02ppm
なす	6	広島市 4, 徳島県 1, 福岡県 1	1	広島市	イプロジオノ 0.01ppm
人参	3	北海道 1, 長崎県 2	0		
ばれいしょ	4	北海道 2, 長崎県 2	0		
広島菜	4	広島市 4	0		
ブロッコリー	2	北海道 1, 烏取県 1	0		
ほうれんそう	1	広島県 1	1	広島県	テフルトリン 0.01ppm
れんこん	1	山口県 1	0		
りんご	3	青森県 3	2	青森県 青森県	スピロジクロフェン 0.01ppm シプロジニル 0.03ppm スピロジクロフェン 0.03ppm
レモン	3	輸入(チリ 3)	0		
小計	52		6		
<b>【畜産物】</b>					
鶏の筋肉	4	輸入(ブラジル 4)	0		
はちみつ	1	広島県 1	0		
小計	5		0		
<b>【加工食品(冷凍食品)】</b>					
たまねぎ	1	輸入(中国 1)	0		
とうもろこし	1	北海道 1	0		
ブロッコリー	2	輸入(エクアドル 1, 中国 1)	0		
ほうれんそう	1	九州 1	0		
小計	5		0		
計	62		6		

\*広島県(広島市を除く), 広島市分は広島市として記載

表 13 動物用医薬品試験

区分		検体数	延べ項目数
鶏の筋肉	輸入品	4	156
はちみつ	国内産	1	36
養殖魚介類	国内産	6	186
計		11	378

表 14 貝毒試験結果

食品名	麻痺性貝毒	下痢性貝毒
	4, 5, 10~12, 3月	10月
あさり	検出せず(8)	検出せず(1)
牡蠣	検出せず(18)	検出せず(2)

表 15 飲料水試験

区分		検体数	延べ項目数
小規模給水	一般項目	0	0
	全項目	4	163
	小計	4	163
井戸水	一般項目	3	33
	全項目	16	604
	小計	19	637
計		23	800

(10) 妥当性評価試験

ア ミネラルウォーター類

検査機器更新に伴い、厚生労働省通知「食品中の有害物質等に関する分析法の妥当性確認ガイドライン」に基づき、ミネラルウォーター類中の揮発性有機化合物及び水銀について、妥当性確認を行った。

イ 残留農薬等

厚生労働省知「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」に基づき、12種の農産物中の残留農薬について、妥当性評価を行った。

ウ 食品添加物

厚生労働省通知「食品中の食品添加物分析法の妥当性確認ガイドライン」に基づき、スクラロース、プロピレングリコール、安息香酸、ソルビン酸及びデヒドロ酢酸について、妥当性確認を行った。

エ 飲料水

検査機器更新に伴い、厚生労働省通知「水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン」に基づき、水銀及びその化合物等15項目について、妥当性評価を行った。

## 生物科学部

生物科学部の主要業務は、微生物に関する試験検査及び感染症予防などに関する調査研究で、食品細菌関連業務、細菌病理関連業務及びウイルス関連業務に大別される。

食品細菌関連業務では、食品衛生法に基づく食品の収去検査、食中毒病原体検査、食品中の細菌、カビ、寄生虫等の各種微生物検査及び調査研究を実施している。

細菌病理関連業務では、感染症法に基づく病原細菌などの検査、薬剤耐性菌の疫学解析及び結核患者家族等接触者の免疫学的検査、感染症発生動向調査事業に基づく細菌検査及び調査研究を実施している。

ウイルス関連業務では、感染症法に基づく感染症発生動向調査、食中毒病原体検査などの各種検査及び調査研究を実施している。

また、各々の業務に遺伝子検査などの技術を導入して検査体制の強化を図り、病原体の検査及び調査研究を実施している。

令和5年度の業務概要を以下に報告する。

### 1 食品細菌関連業務

保健所依頼の収去検査、食中毒・苦情調査による検体の細菌等の検査及び食品営業施設の衛生指導のための食品等の細菌検査を行った。総検体数は735件で、検査項目数としては2,073項目であった。その内訳を表1に示す。

#### (1) 収去検査

収去検査としては、成分規格の定められた食品の規格検査、食品の旧衛生規範等に基づく大腸菌群などの一般細菌検査や食中毒起因菌検査などを行った。その内訳を表2に示す。検体数は328件、検査項目数は784項目であった。規格違反、旧衛生規範への不適合、食中毒起因菌等の検出状況を表3に示す。なお、規格違反の認められた検体は

表1 食品細菌関連業務検査数

	検体数	項目数
収去検査	328	784
食中毒等検査	166	434
その他の検査	241	855
計	735	2,073

表2 収去食品検査件数

食品分類名	検体数	生菌数	大腸菌群	E. coli	E. coli 最確数	黄色ブドウ球菌	サルモネラ属菌	腸炎ビブリオ	病原大腸菌	カンピロバクター属菌	リストリア菌	抗生物質	検査総項目数
乳類・乳製品	4	2	2								2	6	
アイスクリーム類・氷菓	1	1	1									2	
清涼飲料水	6		6									6	
冷凍食品	11	11	5	6								22	
魚介類・その加工品	62	14	4		14				50			6	88
肉卵類・その加工品	29		13	2		2	17		10	13		4	61
野菜果物・その加工品	10	10		10								20	
そざい・弁当・調理パン	140	140		131		131						402	
めん類	14	14	1	13		14						42	
漬物類	8			8								8	
生菓子類	42	42	42			42						126	
その他の食品	1										1	1	
計	328	234	74	170	14	189	17	50	10	13	2	11	784

表3 収去食品の食中毒起因菌等検出、規格基準違反及び旧衛生規範不適合検体数

食品分類名	生菌数	大腸菌群	黄色ブドウ球菌	腸炎ビブリオ	
魚介類・その加工品				8	
肉卵類・その加工品		1			
そうざい・弁当・調理パン	1				
生菓子類	1	4	1		
計	2	5	1	8	

なかつた。旧衛生規範の不適合としてそうざい・弁当・調理パンで生菌数の超過が 1 検体、生菓子類で生菌数の超過が 1 検体、大腸菌群の検出が 4 検体、黄色ブドウ球菌の検出が 1 検体認められた。規格や旧衛生規範に該当しない食中毒起因菌等の検出は、魚介類・その加工品で腸炎ビブリオが 8 検体、肉卵類・その加工品で大腸菌群が 1 検体から検出された。

#### (2) 食中毒及び苦情に関する検査

食中毒及び有症苦情における病原菌等検索の検体数を表4に示す。

当所で検査対応した本市の細菌性食中毒事例は 5 件であった。その病因物質は、4 件はカンピロバクター属菌で 1 件はサルモネラ属菌であった。動物性自然毒による食中毒は 1 件あり、フグの魚種鑑別を行った。

#### (3) その他の検査

食品製造施設などの衛生指導や食品製造・加工過程での細菌汚染調査を目的としたふき取り検査を 69 検体行った。食品の保管方法の検証に関する試験を 10 検体行った。G7 広島サミットに関連し

表4 食中毒等における病原菌等検索検体数

区分	食品	患者便等	従事者便	拭取り等	計
食中毒	6	57	14	33	110
有症苦情	3	18	7	28	56
計	9	75	21	61	166

た検便を 151 検体行った。食品の食中毒起因菌による汚染状況調査として、鶏卵 6 検体のサルモネラ属菌検査を行った。市内病院で分離されたサルモネラ属菌 5 検体について、血清型別試験及び薬剤感受性試験を行った。

#### (4) マウス接種試験

##### ア 実施件数

###### (ア) 麻痺性貝毒

26 検体(132 回)

###### (イ) フグ毒

1 検体(5 回)

##### イ 自己点検及び評価結果

マウス接種試験は、全て行政依頼検査を公定法等により実施したもので、広島市衛生研究所における動物実験取扱規程に基づき適正に行われた。

#### (5) 調査研究

ア 厚生労働科学研究(食品の安全確保推進研究事業)「ワンヘルスに基づく食品由来薬剤耐性菌のサーベイランス体制の強化のための研究」へ研究協力し、2023 年当所分離のカンピロバクター、サルモネラ属菌、大腸菌の薬剤感受性試験を行った。

イ 調査研究事業「*Campylobacter jejuni* の疫学検査法の検討」として *C. jejuni* の Penner 血清型のマルチプレックス PCR 法による型別及び病原因子や薬剤耐性関連の遺伝子の有無を PCR 法で判定し型別を行う mP-BIT 法による型別を行い、PFGE 法との比較検討を行った。

## 2 細菌病理関連業務

各区の保健センター及び保健所からの行政検査を実施した。また、検出した病原菌や医療機関から提供された菌株について同定や血清型等の確認検査、遺伝子検査による疫学的解析などを行った。

令和5年度の検査実績の内訳を表5に示す。

### (1) 感染症発生動向調査事業

#### ア 全数把握疾患

三類感染症は、腸管出血性大腸菌感染症17検体の検査を実施した。

カルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症の患者から検出された菌株12株について、耐性遺伝子検査及び薬剤感受性試験を行った。

劇症型溶血性レンサ球菌感染症の患者から検出された菌株14株について、生化学的性状試験及び血清学的検査を行うとともに、菌株をレファレンスセンターに送付した。

侵襲性肺炎球菌感染症の患者から検出された菌株20株について、遺伝子型別検査を実施した。

バンコマイシン耐性腸球菌感染症の患者から検出された菌株11株について、耐性遺伝子検査及び薬剤感受性試験を行った。

結核患者由来株32株について、結核菌反復配列多型(VNTR)による分子疫学解析等を実施した。

レプトスピラ(疑)患者から採取された2検体、ライム病(疑)患者から採取された3検体を国立感染症研究所に送付し検査を実施した。

#### イ 定点把握疾患

市内の病原体定点医療機関において、A群溶血性レンサ球菌咽頭炎、感染性胃腸炎等の患者から採取された38検体について、遺伝子検査や分離同定検査を実施した。咽頭拭い液1検体からA群溶血性レンサ球菌が検出された。

#### (2) 三類感染症接触者検査

感染症の予防対策として腸管出血性大腸菌62検体の検査を実施した。陽性5検体、陰性57検体であった。

#### (3) 結核患者等接触者検査

結核患者の接触者に対する発症予防対策のため、接触者健診として、結核菌に対する特異的免疫応答の指標としてのインターフェロンγ産生量を測定するクオントリフェロンTB-ゴールドプラス検査を、結核患者接触者の血液61検体に実施した。

表5 細菌病理関連業務検査件数

区分	検体数	項目数
感染症発生動向調査事業		
全数把握疾患(二類～五類)	126	1,861
腸管出血性大腸菌感染症	17	323
カルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症	12	171
劇症型溶血性レンサ球菌感染症	14	56
侵襲性肺炎球菌感染症	20	200
バンコマイシン耐性腸球菌感染症	11	88
その他	52	1,023
定点把握疾患(五類)	38	209
三類感染症接触者検査	62	323
結核患者等接触者検査	61	61
レジオネラ属菌検査	44	140
計	331	2,594

陽性1検体、陰性60検体であった。

#### (4) 浴槽水等のレジオネラ属菌検査

保健所からの依頼により、市内の温泉、公衆浴場及びホテルなどの浴槽水のレジオネラ属菌検査を44検体実施した。

#### (5) 疫学検査

市内の細菌性感染症の発生状況を把握し、防疫活動に資するため、食中毒や感染症発生時の分離菌株及び医療機関等から提供された菌株の同定や血清型別検査を行った。さらにPCR法による病原遺伝子の確認、Multi-locus variable-number tandem repeat analysis(MLVA)法等による詳細な遺伝子解析や薬剤感受性試験など、各種の疫学的解析を実施した。

#### (6) 調査研究及び技術検討

厚生労働科学研究(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)「食品由来感染症の病原体解析の手法及び病原体情報の共有に関する研究」へ研究協力した。MLVA法による精度管理や、市内で発生した腸管出血性大腸菌を分子疫学的に解析し、保健センター及び保健所に検査結果を報告してデータのフィードバックに努めた。また、次世代シーケンサーを用いてバンコマイシン耐性腸球菌の一塩基多型解析を行い、結果を保健所に情報提供了。

### 3 ウイルス関連業務

感染症法に基づく感染症発生動向調査、食品衛生法に基づく食中毒病原体検査及びかき衛生対策事業のノロウイルス汚染状況調査等の各種検査を実施した。

#### (1) 保健所・保健センター等からの依頼検査

新型コロナウイルス感染症、4類感染症、全数把握対象の5類感染症、食中毒/有症苦情及び食品衛生検査等、1,231検体(1,973項目)の検査を実施した(表6)。

##### ア 新型コロナウイルスゲノム解析

新型コロナウイルス感染症は、令和5年5月8日から5類感染症に移行したが、国通知に基づき、引き続き、ゲノム解析を実施した。民間検査機関において、新型コロナウイルス陽性が判明した計661検体についてゲノム解析を実施し、国立感染症研究所が管理する COG-JP(COVID-19 Genomic Surveillance Network in Japan)システムに登録を行った。国内の流行状況に合わせて、本市においてもEG.5.1系統などのXBB系統の亜系統から、BA.2.86系統の亜系統であるJN.1系統とその亜系統への置き換わりが進んだ。

##### イ 重症熱性血小板減少症候群(SFTS)

8検体(5名)の検査を実施した。この内、4検体(4名)は日本紅斑熱リケッチャの検査を、2検体(2名)はつつが虫病リケッチャの検査を同時に実施した。2検体(2名)からSFTSウイルスが検出され、日本紅斑熱リケッチャ及びつつが虫病リケッチャは検出されなかった。

##### ウ 日本紅斑熱

34検体(19名)の検査を実施した。この内、14検体(14名)はSFTSウイルスの検査を、1検体(1名)はつつが虫病リケッチャの検査を同時に実施した。4検体(3名)から日本紅斑熱リケッチャが検出され、SFTSウイルス及びつつが虫病リケッチャは検出されなかった。

##### エ つつが虫病

8検体(5名)の検査を実施した。この内、2検体(2名)はSFTSウイルスの検査を、4検体(4名)は日本紅斑熱リケッチャの検査を同時に実施した。8検体(5名)からつつが虫病リケッチャが検出され、SFTSウイルス及び日本紅斑熱リケッチャは検出されなかった。

##### オ デング熱

5検体(5名)の検査を実施した。この内、2検体(2名)からデングウイルスが検出された。検出された

デングウイルスの血清型の内訳は、1型が1検体(1名)、2型が1検体(1名)であった。

##### カ E型肝炎

3検体(3名)の検査を実施したが、E型肝炎ウイルスは検出されなかった。

##### キ エムポックス

3検体(1名)の検査を実施し、3検体すべてからエムポックスウイルスが検出された。

##### ク 麻しん

16検体(6名)の検査を実施したが、麻しんウイルスは検出されなかった。

##### ケ 風しん

4検体(1名)の検査を実施したが、風しんウイルスは検出されなかった。

##### コ 急性脳炎

10検体(4名)の検査を実施し、4検体(4名)からウイルスが検出された。その内訳は、1検体(1名)からライノウイルス、ヒトヘルペスウイルス6型、ヒトボカウイルス、1検体(1名)からRSウイルス、ライノウイルス、1検体(1名)からサイトメガロウイルス、パラインフルエンザウイルス1型、1検体(1名)からRSウイルスの検出であった。

##### サ 食中毒/有症苦情

計22事例で患者・従事者等175名(175検体)、施設拭取り119検体及び食品12検体のノロウイルス検査を実施した。計12事例で患者・従事者等64名(64検体)、施設拭取り2検体、食品2検体からノロウイルスが検出された。ノロウイルスが検出され

表 6 保健所・保健センター等依頼検査件数

項目	検体数	項目数
新型コロナウイルスゲノム解析	661	661
重症熱性血小板減少症候群	8	14
日本紅斑熱	34	49
つつが虫病	8	14
デング熱	5	25
E型肝炎	3	3
エムポックス	3	3
麻しん	16	38
風しん	4	7
急性脳炎	10	203
食中毒/有症苦情	291	582
調理従事者等検便	151	302
食品衛生検査	22	42
計	1,231	1,973

た12事例の内、2事例がノロウイルスG Iのみ、5事例がノロウイルスG IIのみ、5事例がノロウイルスG I及びG IIの検出であった。ノロウイルスが検出された患者・従事者等64検体の内、15検体(15人)がノロウイルスG Iのみ、43検体(43人)がノロウイルスG IIのみ、6検体(6人)がノロウイルスG I及びG IIの検出であった。ノロウイルスが検出された施設取り2検体は、いずれも患者・従事者等からノロウイルスG IIのみが検出された事例の検体であり、ノロウイルスG IIのみが検出された。ノロウイルスが検出された食品2検体はいずれもかき検体であり、ノロウイルスG I及びG IIが検出された。

#### シ 調理従事者等検便

令和5年5月に開催されたG7広島サミットに関連して、調理従事者等151検体(151人)のノロウイルス検査を実施したが、ノロウイルスは検出されなかった。

#### ス 食品衛生検査

かき20検体のノロウイルス検査を実施し、4検体からノロウイルスG Iのみ、9検体からノロウイルスG I及びG IIが検出された。また、ジビエ2検体のE型肝炎ウイルス検査を実施したが、E型肝炎ウイルスは検出されなかった。

#### (2) 感染症発生動向調査事業

市内15の病原体定点医療機関において採取された検体について、ウイルス分離・同定等の検査を行った。検査結果は定点医療機関に還元とともに、当所の広島市感染症情報センターのホームページに情報を掲載した。また、広島市感染症対策協議会へ情報提供し、さらに感染症サーベイラ

表7 感染症発生動向調査臨床診断名別検体数

診断名	検体数
インフルエンザ	33
RSウイルス感染症	4
咽頭結膜熱	1
A群溶血性レンサ球菌咽頭炎	4
感染性胃腸炎	23
手足口病	5
突発性発しん	3
ヘルパンギーナ	8
流行性角結膜炎	123
流行性耳下腺炎	2
細菌性髄膜炎	1
無菌性髄膜炎	13
その他の疾患	89
計	309
項目数	2,394

ンスシステム(NESID)に病原体検出情報を入力し、国立感染症研究所の感染症疫学センター(<https://www.niid.go.jp/niid/ja/from-idsc.html>)から検出情報を還元した。

令和5年度は、病原体定点医療機関において採取された309検体(2,394項目)について検査を行った。臨床診断名別検体数を表7に示した。細胞培養法(HEp-2, RD-A, Vero, A549), 遺伝子検査法, イムノクロマト法, 蛍光抗体法等で病原ウイルス検索を実施した結果、36種類150株のウイルスが検出された(表8)。

表8 病原体別検出数

検出病原体	検出数
コクサッキーウイルス A2型	5
コクサッキーウイルス A10型	1
コクサッキーウイルス B2型	2
コクサッキーウイルス B5型	11
エコーウイルス 25型	1
エンテロウイルス 71型	5
ライノウイルス	12
パレコウイルス(未型別)	1
パレコウイルス 1型	2
パレコウイルス 3型	2
インフルエンザウイルス A(H1N1)pdm09型	4
インフルエンザウイルス A(H3)型	10
B型インフルエンザウイルス	5
パラインフルエンザウイルス 3型	5
RSウイルス	6
ヒトメタニューモウイルス	2
ヒトコロナウイルス NL63	1
ヒトコロナウイルス HKU1	1
サポウイルス	1
ノロウイルス G II	2
アストロウイルス	2
アデノウイルス 1型	3
アデノウイルス 2型	2
アデノウイルス 3型	17
アデノウイルス 5型	1
アデノウイルス 6型	1
アデノウイルス 8型	2
アデノウイルス 37型	9
アデノウイルス 54型	3
アデノウイルス 56型	14
アデノウイルス 64型	3
ヒトボカウイルス	2
単純ヘルペスウイルス 1型	2
EBウイルス	1
ヒトヘルペスウイルス 6型	6
ヒトヘルペスウイルス 7型	2
計	150

## 環境科学部

環境科学部の主要業務は、環境保全に関する試験検査及び調査研究であり、水質関連業務及び大気関連業務に大別される。

水質関連業務では、水質汚濁防止法に基づく公共用水域(河川水及び地下水)の水質調査、工場・事業場の排出水調査、河川水等の水質汚濁に係る苦情調査及びこれらに関する調査研究を行っている。

大気関連業務では、大気汚染防止法に基づく環境大気中の有害大気汚染物質のモニタリング、酸性雨、フロン類、アスベスト等の環境調査及びこれらに関する調査研究を行っている。

令和5年度の業務概要を以下に報告する。

### 1 水質関連業務

令和5年度に実施した区分ごとの試験件数及び延項目数を表1に示す。

#### (1) 河川水調査

公共用水域等の水質測定計画に基づき、太田川水系及び八幡川水系の調査地点(図)において、河川の水質調査を実施した。

太田川水系及び八幡川水系については、環境基準点6地点を含む9地点で毎月1回、その他の2地点で2か月に1回、pH、BOD等の生活環境項目等の調査を実施した。また、環境基準点6地点で、カドミウム、全シアン等の健康項目及び銅、鉄等の特殊項目は年2回(7月、1月)、栄養塩類は年4回(4月、7月、10月、1月)調査を実施した。

八幡川水系の2地点で大腸菌の環境基準値(90%水質値)を超えていた。健康項目は全地点で環境基準値を下回っていた。

表1 水質関連業務試験件数

区分	件数	延項目数
河川水調査	132	1,812
地下水調査	25	463
洗剤残存調査	36	36
PFOS・PFOA調査	14	14
工場・事業場排出水調査	59	682
苦情調査等	64	996
海水調査	60	360
環境省受託調査	3	9
計	393	4,372

#### (2) 地下水調査

公共用水域等の水質測定計画に基づき、地下水の水質状況を把握するための地下水調査を実施した。

市域の全体的な地下水質の状況を把握するための概況調査を10地点で年1回(9月)実施した。

また、以前確認された汚染の継続的な監視等を目的とした継続監視調査を7地点で年2回(7月、1月)実施した。

概況調査の1地点で、砒素が環境基準値である0.01mg/Lを上回っていた。

#### (3) 洗剤残存調査

河川における合成洗剤の残存状況を把握するため、合成洗剤の主成分である直鎖アルキルベンゼンスルホン酸及びその塩(LAS)について、9地点で年4回(5月、8月、11月、2月)調査を実施した。

全地点で、河川：生物特Aの環境基準値である0.02mg/Lを下回っていた。

#### (4) PFOS・PFOA調査

河川におけるペルフルオロオクタンスルホン酸(PFOS)及びペルフルオロオクタン酸(PFOA)の実態を把握するため、8地点で11月に調査を実施した。瀬野川水系の1地点で暫定指針値(PFOS及びPFOAの合算値)である50ng/Lを上回っていた。この結果を受けて、月1回の定期的な検査を実施した。

#### (5) 工場・事業場排出水調査

水質汚濁防止法、広島県生活環境の保全等に関する条例に基づき、環境局環境保全課の職員が工場・事業場への立入検査を行い、採取した排出水について水質試験を実施した。

試験件数は59件で、pH、BOD等の生活環境項目、カドミウム、シアン化合物等の有害物質について、延べ682項目の試験を実施した。

#### (6) 苦情調査等

市民からの水質苦情や水質事故等に伴う有害物質有無の確認及び原因物質等の究明のため、水質試験を実施した。突発的な事故等による件数は3件で延べ10項目、その他の他課からの依頼により調査した件数は53件で延べ178項目の試験を実施した。

また、「ゴルフ場で使用される農薬による水質汚濁の防止及び水産動植物被害の防止に係る指導指針(平成29年3月9日環水大土発第1703091号環境省水・大気環境局長通知)」に基づき、市内8か所の

ゴルフ場からの排出水について農薬調査を実施した。試験件数は8件で、延べ808項目の試験を実施した。

#### (7) 海水調査

平成28年度から経済観光局水産課の依頼により、「広島かき採苗安定強化事業」の一環として広島湾内の栄養塩類の濃度を把握するため、海水調査を実施している。海域4地点で年15回(4月、5月、9~3月:1回/月、6~8月:2回/月)、全りん、ケイ酸態ケイ素等の栄養塩類の調査を実施した。

試験件数は60件で、延べ360項目の試験を実施した。

#### (8) 環境省受託調査

環境省では、昭和49年度から化学物質環境実態調査を実施している。本市もこの調査を受託し、生物モニタリング調査の試料採取及び前処理を実施した。

調査結果は、環境省が全国の調査結果の解析・とりまとめを行い、公表している。

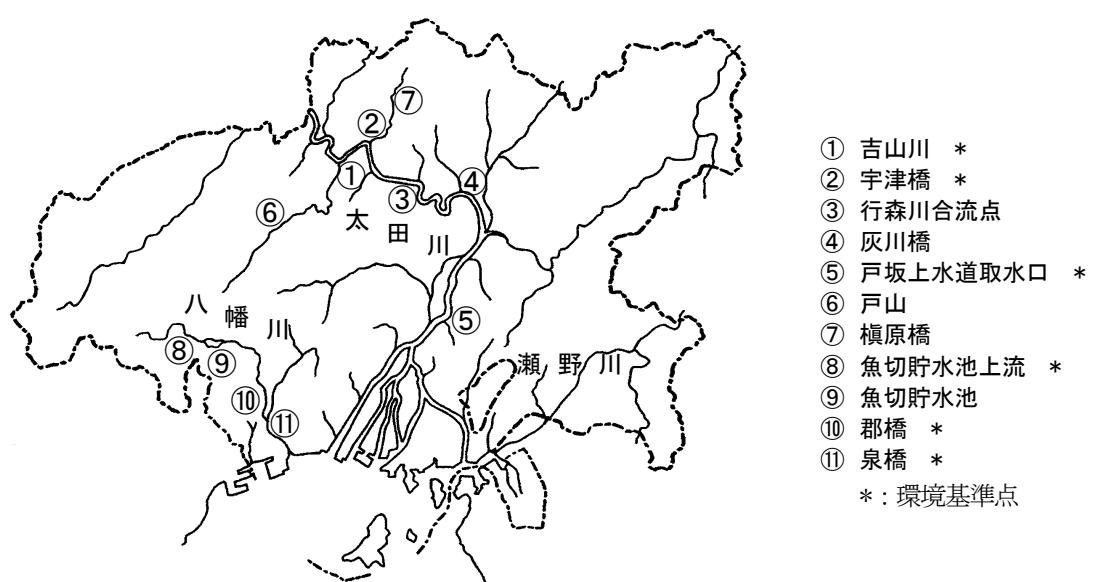


図 河川水調査地点

## 2 大気関連業務

令和5年度に実施した区分ごとの試験件数及び延項目数を表2に示す。

### (1) 有害大気汚染物質調査

有害大気汚染物質による大気の汚染状況を把握するため、大気汚染防止法に基づいて、常時監視調査を実施した。

調査は、市内4地点(安佐南区役所、比治山測定局、楠那中学校及び大林小学校)で毎月1回実施した。調査項目は、健康への有害性の高い優先取組物質として指定されている23物質のうち、モニタリング手法の確立された21物質(ダイオキシン類を除く)、市内において大気への排出量が最も多いキシレンである。

主な調査結果を表3に示す。全ての地点で環境基準値又は指針値に適合していた。

### (2) 酸性雨調査

本市における酸性雨の状況を把握するための調査を実施した。

調査は、市内1地点(伴小学校)で実施した。調査項目は、降水量、pH、電気伝導率である。

pHの年平均値は4.89で、前年と比べて下降していた。

### (3) フロン類調査

本市における大気環境中のフロン類の濃度を把握するため、有害大気汚染物質調査と同一地点で、毎月1回調査を実施した。調査項目は、CFC(4物質)、代替フロンのHFC(1物質)及びHCFC(6物質)、その他の特定物質(3物質)である。調査結果を表4に示す。

### (4) アスベスト調査

本市における大気環境中のアスベスト濃度を把握するため、幹線道路沿線地域(市役所2か所)及び商工業地域(中小企業会館、衛生研究所)は年1回(6月)、住宅地域(安東小学校2か所)は年1回(9月)

表2 大気関連業務試験件数

区分	件数	延項目数
有害大気汚染物質調査	48	1,044
酸性雨調査	24	60
フロン類調査	48	672
アスベスト調査	20	20
環境省受託調査	3	9
計	143	1,805

表3 有害大気汚染物質の調査結果

物質名	年平均値	最小値	最大値	環境基準値 [指針値]
ベンゼン	0.63	0.16	1.5	3
トリクロロエチレン	0.15	<0.005	0.76	130
テトラクロロエチレン	0.031	<0.008	0.080	200
ジクロロメタン	1.1	0.30	7.0	150
アクリロニトリル	0.013	<0.008	0.067	[2]
アセトアルデヒド	1.7	0.45	3.5	[120]
塩化ビニルモノマー	0.015	<0.009	0.074	[10]
クロロホルム	0.16	0.097	0.24	[18]
酸化エチレン	0.048	0.017	0.088	-
1,2-ジクロロエタン	0.14	0.034	0.30	[1.6]
1,3-ブタジエン	0.036	0.016	0.081	[2.5]
塩化メチル	1.3	1.1	1.6	[94]
トルエン	6.3	1.1	48	-
キシレン	2.3	0.40	18	-
ベンゾ[a]ピレン※	0.084	0.013	0.28	-
ホルムアルデヒド	2.4	0.42	5.7	-
水銀※	1.6	1.3	1.8	[40]
ニッケル※	1.4	0.20	3.7	[25]
ヒ素※	1.8	0.21	4.6	[6]
ベリリウム※	0.023	0.0021	0.13	-
マンガン※	15	2.5	62	[140]
クロム※	3.1	0.35	15	-

単位 :  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (※については、 $\text{ng}/\text{m}^3$ )

平均値は、検出下限値以上の場合はその値を用いて、検出下限値未満のものについては検出下限値の1/2の値を用いて算出した。

酸化エチレンの大林小学校は欠測である。

に3日連続(計18検体)で調査を実施した。調査結果を表5に示す。総纖維が1本/Lを超えた地点については電子顕微鏡法により確認をしたところ、アスベストは検出されなかった。

また、建築物解体作業に伴うアスベストの大気濃度を把握するため、解体作業現場の周辺(1地点2か所)で調査を実施した。

### (5) 環境省受託調査

環境省では、昭和49年度から化学物質環境実態調査を実施している。本市もこの調査を受託し、大気モニタリング調査の試料採取を国泰寺中学校で行った。

調査結果は、環境省が全国の調査結果の解析・とりまとめを行い、公表している。

表4 フロン類調査結果 (ppb)

物質名	年平均値	最小値	最大値
CFC-11	0.23	0.21	0.27
CFC-12	0.51	0.47	0.57
CFC-113	0.068	0.064	0.074
CFC-114	0.016	0.014	0.018
HFC-134a	0.27	0.14	1.2
HCFC-22	0.30	0.25	0.42
HCFC-123	<0.0020	<0.0020	<0.0020
HCFC-141b	0.032	0.026	0.042
HCFC-142b	0.026	0.020	0.044
HCFC-225ca	<0.0017	<0.0017	<0.0017
HCFC-225cb	<0.0025	<0.0025	<0.0025
プロモメタン	0.013	0.0063	0.045
1, 1, 1-トリクロロエタン	<0.0019	<0.0019	0.0047
四塩化炭素	0.080	0.072	0.092

平均値は、検出下限値以上の場合はその値を用いて、検出下限値未満のものについては検出下限値の1/2の値を用いて算出した。

表5 アスベスト調査結果 (本/L)

区分	幾何平均値
幹線道路沿線地域	0.13
住宅地域	0.50
商工業地域	0.99

アスベスト以外の繊維を含む総繊維数濃度



# 調查研究報告

## I 調查研究



## MT 法を活用した広島市における手足口病の流行開始予測

山岡 誠司 小川 秋奈 真田 美由紀 吉岡 英明

感染症の流行開始予測は、これまで職員が広島市の報告数の推移等から経験的に行ってきました。経験に頼らない予測を目的として、定点把握対象疾患の一つである手足口病の流行開始予測に、製造業などで活用されている品質工学のMT 法を活用した。また、広島市や近県等の報告数から有用な項目を選択し、これらを流行開始予測の項目として用いることで、予測精度が向上した。

このことにより、手足口病の流行開始の予兆を自動かつ客観的に掴むことが可能であった。

キーワード： 感染症、手足口病、流行開始予測、品質工学、MT 法

### はじめに

広島市感染症情報センターは、衛生研究所内に設置されており、市内の医療機関からの患者情報等を収集・分析し、全国情報と併せて保健所や医療機関等に情報提供することにより、感染症の発生及びまん延の防止に寄与している。

本研究では感染症の流行開始予測に、品質工学のMT 法を活用した。この技術を活用し、精度よく流行開始予測することができれば、感染症対策の準備を流行開始前に行うことができる。まずは、定点把握対象疾患の一つである手足口病にて、予測可否の検討をしたので、これを報告する。

### 方法と結果

#### 1 手足口病とは

手足口病は、飛沫感染や接触感染などで感染し、乳幼児を中心に流行する。6月から8月の夏季を中心に流行していたが、新型コロナウイルス感染症(COVID-19)流行以降、その流行の挙動が変化している。2020年は、季節性も乏しく例年の報告数を大きく下回った。また、2021年は、例年とは異なり、秋から報告数が増加し、冬に流行のピークを迎えた。

なお、手足口病には流行の定義はないが、警報解除の基準値である定点当たり報告数(1 医療機関当たりの報告数)2 以上を継続する場合とした。つまり、広島市は小児科定点医療機関が 24 であるため、報告数 48 件以上が継続する場合を本検討での流行と定義した。

#### 2 MT 法とは

品質工学の MT システムは、製造業などで、判別・

診断・予測などで活用されている機械学習手法(人工知能技術)の一手法である。

MT システムの中でも、MT 法は最も活用されている手法の一つであり、マハラノビスの距離に基づき正常/異常の判別を行うパターン認識手法である。正常なデータの集団「単位空間」を用いて、対象データのマハラノビスの距離を算出し、異常度を定量的に判断する。

#### 3 MT 法の手足口病の流行開始予測への適用

##### (1) 広島市及び広島県の報告数からの予測

手足口病の流行開始予測は、これまで職員が広島市や広島県内の報告数の変化から経験を基に行ってきました。そこで、経験に頼らず安定的に予測するため、広島市及び広島県の報告数を項目とし、MT 法を用いて流行開始予測、すなわち流行が開始する週を判別することを検討した(図 1)。

期間は、2015 年第 5 週から 2021 年第 34 週とした(検討 1)。単位空間等を表 1 に示す。次週の報告数が少ない週を正常(単位空間)とし、単位空間以外の週を信号データとした。

なお、広島県の報告数には広島市の報告数も含まれており、項目間の相関を減少させるため、広島県の報告数から広島市の報告数を除いたものを項目として用いた。また、マハラノビスの距離  $D$  の算出は、参考文献<sup>1)</sup>に従い実施した。

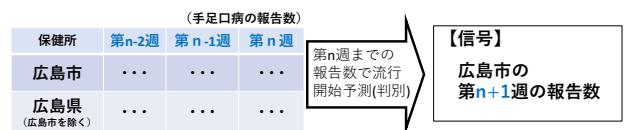


図1 手足口病の流行開始予測の概要

表1 検討1の単位空間等について

期間	第n週: 2015年第5週~2021年第34週
単位空間	信号が10件以下のデータ(192データ)
信号	第n+1週の広島市の報告数
信号データ	期間内で単位空間以外のデータ(152データ)
項目	広島市及び広島県(広島市を除く) の第n-2週~第n週の手足口病報告数 (2地域×3週=6項目)

## (2) 結果と考察

広島市の手足口病の報告数(第n+1週)とマハラノビスの距離D(第n週)の関係を図2に、報告数とマハラノビスの距離Dの推移を図3に示す。これから以下のことことがわかる。

a 図2に示すように、広島市の報告数(第n+1週)とマハラノビスの距離D(第n週)の間に相関がある。

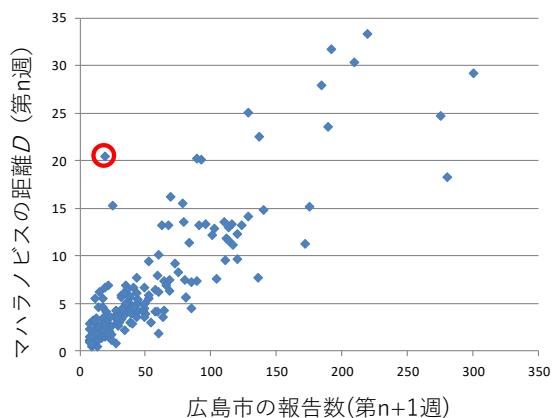


図2 報告数とマハラノビスの距離D

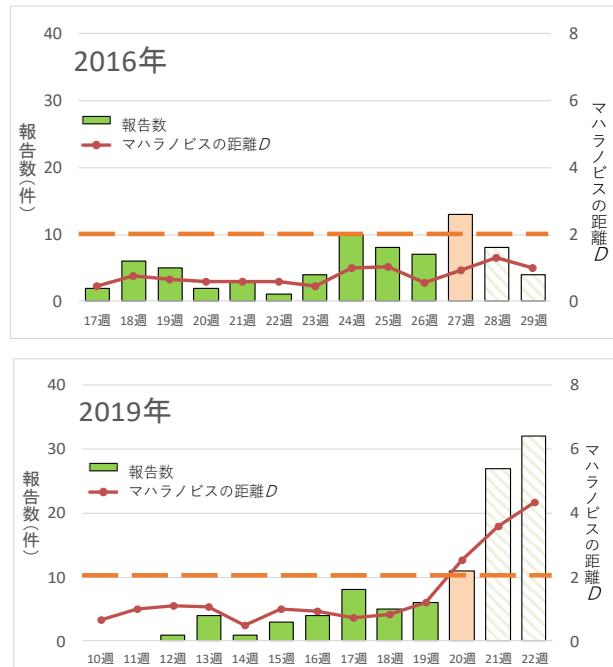


図3 報告数とマハラノビスの距離Dの推移

b 図3の2019年第20週のように、広島市の報告数の推移のみでは検知が難しい流行開始の予兆をマハラノビスの距離Dで検知可能である。

c 図2において報告数が少ないにも関わらずマハラノビスの距離Dが大きい外れ値(赤○)は、2019年第32週(8月5日~11日)に第33週(8月12日~18日)の予測を行ったデータである。8月のお盆は医療機関の休診により報告数が減少するため、これが要因である可能性がある。

なお、正月やゴールデンウィーク期間(GW)も同様に報告数が減少する。

## 4 予測精度向上のための検討

## (1) 予測精度向上のための方針

予測の精度向上を目的として「項目数の増加」や「単位空間の取り方」等を変更することを検討した。

なお、医療機関の休診により報告数が減少する「正月」「GW」「お盆」を含む週の予測、及びこれらの週データを用いた予測は本検討から除外した。

## (2) 項目数の増加について

全国の総数、近県(山口県、岡山県、島根県、愛媛県)及び西日本で最も人口の多い大阪府の報告数を項目に加えることを検討した(検討2)。

信号データをMとした場合、マハラノビスの距離D(第n週)との理想は式1に示すゼロ点比例の関係である。すなわち、このゼロ点比例のSN比が高くなることが望ましいため、表2の条件でMT法を適用し、次に各項目をPaley型<sup>2) L44</sup>直交表に割り付け、このゼロ点比例のSN比により各項目の有用性を調査した。

$$D = \beta M \quad (\beta : \text{定数}) \quad \dots \quad (\text{式1})$$

項目選択において、各項目を使用した場合と使用しない場合のSN比の差を図4に示した。広島市、山口県、岡山県のデータはSN比の差が正となる項目が多い。一方で、島根県、愛媛県、大阪府、全国総数は負となる項目が多い。そこで、広島市、広島県(広島市を除く)、山口県、岡山県の報告数を用い

表2 検討2の単位空間等について

期間	第n週: 2015年第5週~2021年第34週 ただし、「正月」「GW」「お盆」が関与する週は除外
単位空間	信号が10件以下のデータ(139データ)
信号	第n+1週の広島市の報告数
信号データ	期間内で単位空間以外のデータ(125データ) 広島市、広島県(広島市を除く)、山口県、岡山県、島根県、愛媛県、大阪府及び全国総数の第n-2週~第n週の手足口病報告数(8地域×3週=24項目)

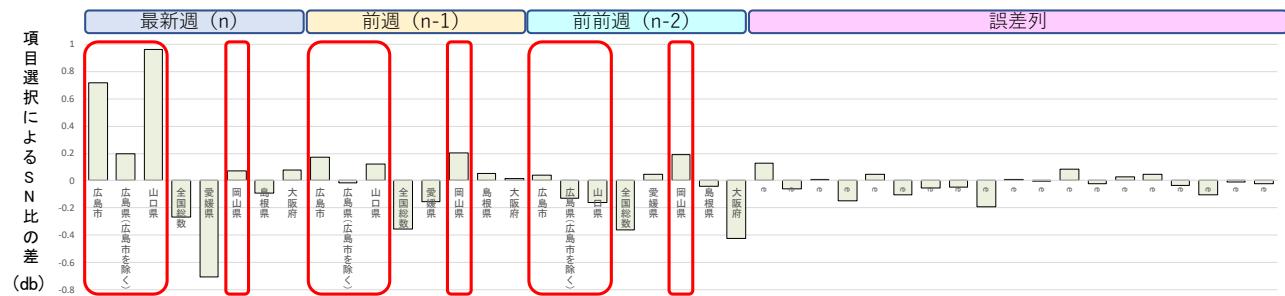


図4 項目選択によるSN比の差

てパラメータ設計を行うことを検討した。

### (3) パラメータ設計を用いた精度の向上

#### a 制御因子及び信号データの設定

単位空間の取り方(制御因子 A : 2 水準(表 3)), 範囲(制御因子 B : 3 水準), 各地域の報告数の期間(制御因子 C~制御因子 F : 3 水準)を L18 直交表に割り付け, 誤差因子なしでパラメータ設計を実施した。制御因子を表 4 に示す。

また, 信号データの見直しも実施した。本研究の流行は報告数が 48 件を継続して超過する場合と定義しており, 流行開始予測を目的としている。そのため, 報告数 48 件付近での SN 比が高いことが重

表3 単位空間の取り方(制御因子 A)

手法	内容
ア法	第n週, 第n+1週の報告数が「項目B」の週
イ法	第n+1週の報告数が「項目B」の週

表4 制御因子

制御因子	水準1	水準2	水準3
A 単位空間の取り方	ア法	イ法	—
B 単位空間の範囲(報告数)	5件以下	10件以下	15件以下
C 広島市の報告数	n週	n-1週, n週	n-2~n週
D 広島県の報告数(広島市を除く)	n週	n-1週, n週	n-2~n週
E 山口県の報告数	n週	n-1週, n週	n-2~n週
F 岡山県の報告数	n週	n-1週, n週	n-2~n週
G empty	—	—	—
H empty	—	—	—

表5 検討 3 の単位空間等について

期間	第 n 週 : 2015 年第 5 週～2021 年第 34 週 ただし, 「正月」「GW」「お盆」が関与する週は除外
単位空間	制御因子の水準による
信号	第 n+1 週の広島市の報告数
信号データ 1	信号が 16~120 件のデータ (91 データ)
信号データ 2	信号が 24~72 件のデータ (55 データ)
項目	制御因子の水準による

要と考え, 表 5 に示す信号の範囲が異なる二つの信号データにおいて検討した(検討 3)。

なお, 制御因子 A と制御因子 B は交互作用が大きい可能性があるため, 制御因子 A と制御因子 B を組み合わせた制御因子 AB(単位空間)とし, 6 水準系の L18 直交表で解析した。

#### b 解析結果

信号データ 1 の要因効果図を図 5 に, 信号データ 2 の要因効果図を図 6 に示す。これら 2 つの結

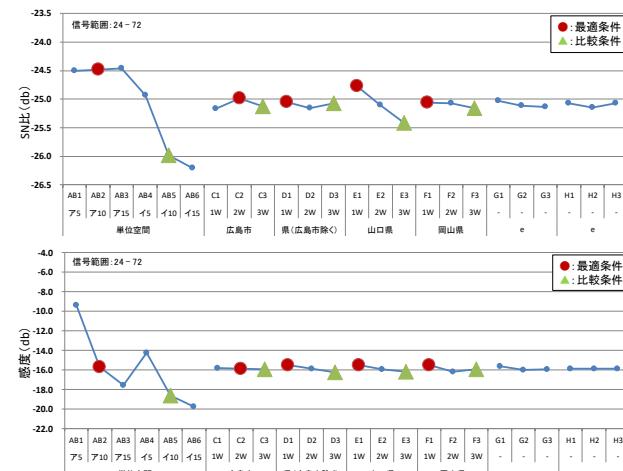


図5 要因効果図(信号データ 1 SN 比, 感度)

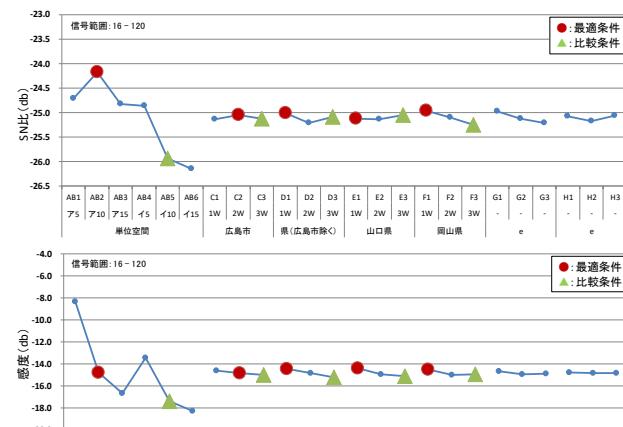


図6 要因効果図(信号データ 2 SN 比, 感度)

表 6 最適条件と比較条件

制御因子		最適条件	比較条件
AB	単位空間	水準2	水準5
A	単位空間の取り方	ア法(水準1)	イ法(水準2)
	単位空間の範囲	10件以下(水準2)	10件以下(水準2)
C	広島市の報告数	n-1週, n週(水準2)	n-2~n週(水準3)
D	広島県の報告数 (広島市を除く)	n週(水準1)	n-2~n週(水準3)
E	山口県の報告数	n週(水準1)	n-2~n週(水準3)
F	岡山県の報告数	n週(水準1)	n-2~n週(水準3)

表 7 利得の確認(信号データ 1)

信号範囲	SN比(db)		感度(db)	
	推定	確認	推定	確認
16-120	-23.91	-24.60	-13.63	-14.09
最適条件	-26.02	-26.02	-18.40	-18.08
比較条件	2.11	1.42	4.77	3.99

表 8 利得の確認(信号データ 2)

信号範囲	SN比(db)		感度(db)	
	推定	確認	推定	確認
24-72	-23.98	-24.37	-14.52	-15.09
最適条件	-26.38	-26.34	-26.34	-18.96
比較条件	2.40	1.97	4.97	3.87

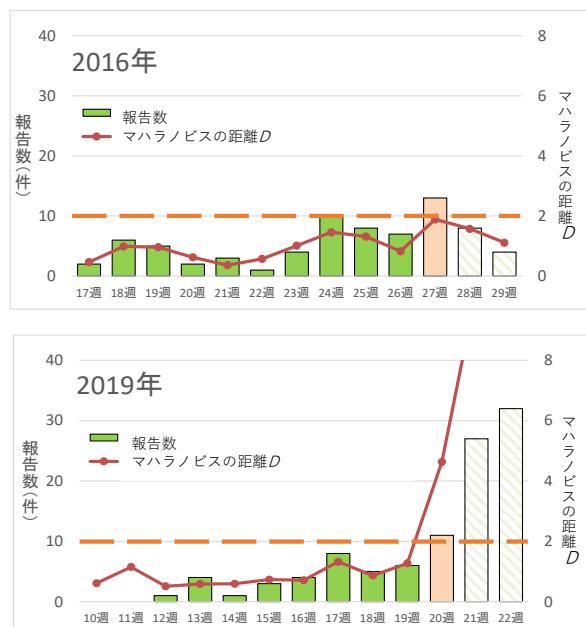


図 7 報告数とマハラノビスの距離 D の推移

果から SN 比が高くなる条件を最適条件とし、検討 2 に近い条件を比較条件とし利得を確認した。表 6 に最適条件と比較条件を示す。また、表 7, 8 に各

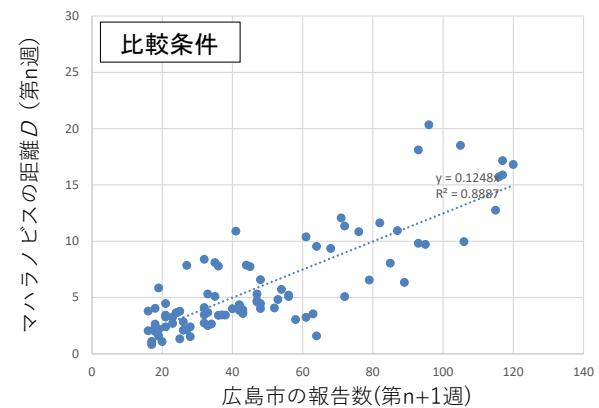
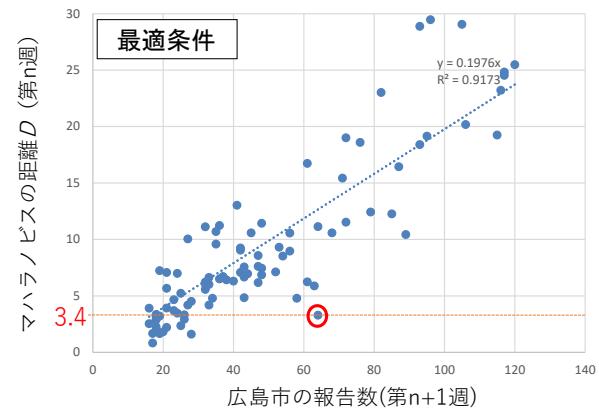


図8 報告数とマハラノビスの距離 D

信号データでの利得を確認した結果を示す。いずれの結果においても利得が再現しているため、このパラメータ設計の結果は妥当と考えられる。

なお、最適条件は、比較条件と比べて感度も上昇している。このことは、報告数とマハラノビスの距離 D の推移を示した図 7 や報告数とマハラノビスの距離 D の関係を示した図 8 からも確認できる。

## 5 未知データへの適用

2021 年第 35 週～2022 年第 29 週を未知データとして、MT 法により流行開始の予測を検討した。具体的には、表 6 の最適条件の単位空間を用いて未知データに MT 法を適用した。

閾値としては、最適条件でのマハラノビスの距離 D (第 n 週) と広島市の報告数 (第 n+1 週) の関係を示したグラフ (図 8) から、報告数 48 件を超えた範囲で最も小さいマハラノビスの距離 D (第 n 週) である 3.4 とした。つまり、マハラノビスの距離 D が 3.4 を超えた場合は、報告数が増加し流行となる可能性があると考えた。報告数とマハラノビスの距離 D の推移を図 9 に示す。

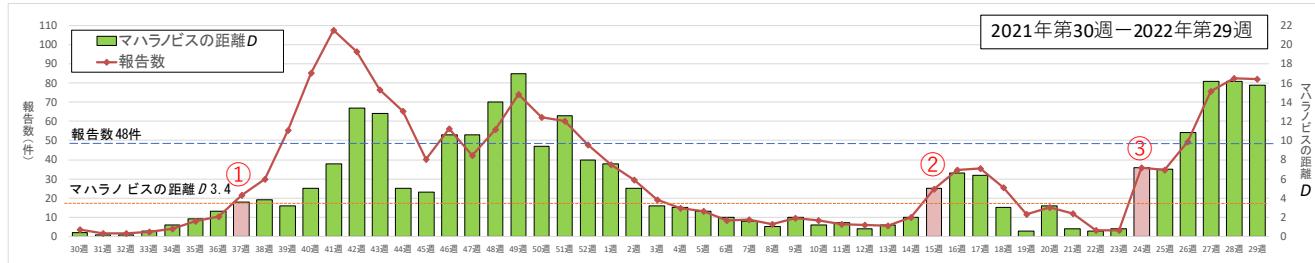


図9 報告数とマハラノビスの距離Dの推移 (2021年第30週～2022年第29週)

マハラノビスの距離  $D$  が 3.4 を超えた後の報告数の挙動を以下に示す。

①2021年第37週(9月13日～19日)にマハラノビスの距離 $D$ が4.3となり3.4を超過した。その後、第42週(10月18日～24日)に報告数48件を超過した。

②2022年第15週(4月11日～17日)にマハラノビスの距離 $D$ が5.0となり3.4を超過したが、48件を超過せず減少となった。これは、第17週(4月25日～5月1日)からゴールデンウイーク期間であるため、医療機関休診により報告数が減少した可能性や、手足口病にかかりやすい年齢層である乳幼児が集団で生活している保育施設などが休みのため感染の広がりが抑制された可能性が考えられる。

③2022年第24週(6月13日～19日)にマハラノビスの距離 $D$ が7.2となり3.4を超過し、その後、第26週(6月27日～7月3日)に報告数48件を超過した。

このように、手足口病の流行開始の予兆を掴むことが可能であった。

## 6 広島市感染症週報作成への活用について

### (1) 広島市感染症週報

広島市感染症情報センターでは、広島市感染症週報（以下「週報」とする。）を原則として毎週水曜日に発行している（図 10）。週報は、広島市の定点医療機関からの最新週の報告データと前週までの全国データから作成しており、これらのデータに加えて、報告数が多い感染症や、報告数が増加傾向の感染症などを特記事項として、コメント欄で取り上げ、特に注意してほしい感染症として市民や関係機関に情報提供している。

## (2) 流行開始予測の活用について

2023年第4週から第49週の手足口病の報告数とマハラノビスの距離  $D$  の推移を図 11 に、第 24 週(6月 12 日～18 日)の広島市及び各都道府県の定点当たり報告数を表示した地図(以下「地図データ」とする。)を図 12 に示す。



図 10 広島市感染症週報

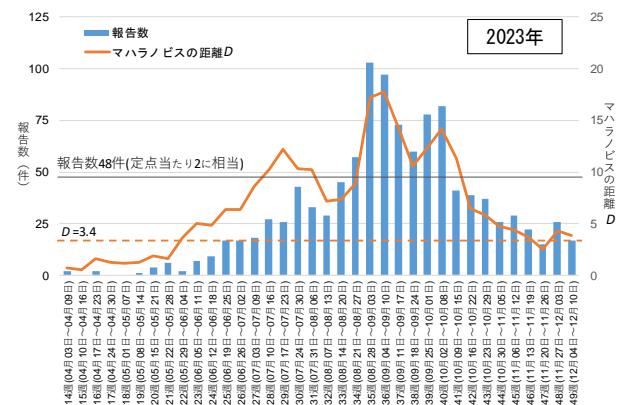


図 11 報告数とマハラノビスの距離  $D$  (広島市)

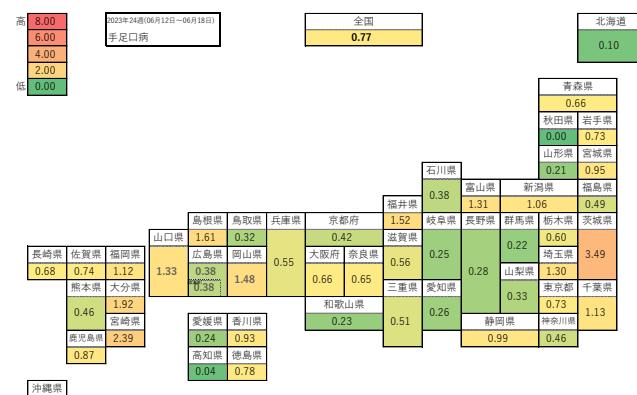


図 12 宝くじ当た川報告数(2022年第34週)

なお、マハラノビスの距離  $D$  の算出や地図データは、感染症サーベイランスシステムから還元された全国データと広島市のデータを基に、広島市感染症情報センターにおいて Excel VBA を用いて自動作成している。

手足口病は、年によっては 4 月から増加傾向がみられるが、2023 年は、この時期の報告数及びマハラノビスの距離  $D$  の上昇は見られなかった。その後、第 24 週までは報告数は 10 件未満で推移した。一方で、マハラノビスの距離  $D$  は第 22 週(5 月 29 日～6 月 4 日)に閾値(3.4)を超え、その後も増加傾向で推移した。

第 25 週(6 月 19 日～25 日)には「広島市の報告数が増加したこと」に加え、「第 24 週のマハラノビスの距離  $D$  が閾値を超えていていること」「第 24 週の岡山県、山口県の定点当たり報告数が比較的高いこと」から、今後も増加傾向が続くと考え、週報のコメント欄で手足口病を取り上げた。

その後も、広島市の報告数の推移や周辺地域の報告数に加えて、MT 法により算出されるマハラノビスの距離  $D$  を、週報のコメント欄で手足口病を取り上げるかの判断材料として活用した。

## ま　と　め

手足口病の流行開始予測に MT 法を適用することで、ある程度の精度で手足口病の流行開始を予測することが可能であった。

また、週報の作成における流行開始予測においては、広島市の報告数の推移や周辺地域の報告数に加えて、MT 法により算出されるマハラノビスの距離  $D$  を活用している。マハラノビスの距離  $D$  は機械的に算出させているため、流行開始の予兆を自動かつ客観的に掴むことが可能である。今後も質の高い感染症情報を発信するために、有効な技術を活用していきたい。

## 謝　　辞

本研究を進めるにあたり、助言をいただいた広島品質工学研究会員に感謝の意を表する。

## 文　　献

- 1) 救仁郷 誠：マハラノビスの距離 入門－MTS 法を理解するために－、品質工学, 9(1), 13～21(2001)
- 2) 立林和夫 他：入門 MT システム、日科技連出版社, 243～249(2008)

## 原因不明感染症事案等における網羅的ゲノム解析法 を用いた病原体検索

川原 康嗣 城 朋実\* 山木戸 聰 宇野 拓也  
児森 清香 青田 達明 田内 敦子 山本 美和子

原因不明の感染症事案については、原因となる病原体を検索するため、通常、ターゲットを絞った検査を行っているが、新興感染症や想定外の病原体が原因である場合、検出することが困難である。このような課題の解決方法として、近年、国立感染症研究所や各地方衛生研究所において、次世代シーケンサーを用いた、検体中に含まれる病原体ゲノムを網羅的に検出する手法の研究が行われている。この度、本市における原因不明感染症事案において、病原体ゲノムを網羅的に検出する手法を用いて病原体検索を行った。本事例においては、関与が疑われる具体的な病原体を示すには至らなかったが、常在菌を含む細菌やウイルス等の遺伝子の網羅的検出を行うことができた。今後、複数検体を用いた検査の実施やデータ解析技術を向上させることにより、本手法が原因不明の感染症事案における病原体検索に活用できる可能性が示唆された。

キーワード： 原因不明感染症、次世代シーケンサー(NGS)、網羅的ゲノム解析、病原体検索

### はじめに

原因不明の感染症事案については、原因となる病原体を検索するため、通常、細菌やウイルスの分離を試みるとともに、呼吸器症状や発疹等、症状に合わせた検査項目で遺伝子検査等を行っている。しかし、これらの方法は、ターゲットを絞った検査であるため、新興感染症や想定外の病原体が原因である場合、検出することが困難である。このような課題の解決方法として、近年、国立感染症研究所(感染研)や各地方衛生研究所において、次世代シーケンサー(NGS)を用いた、検体中に含まれる病原体ゲノムを網羅的に検出する手法の研究が行われており<sup>1), 2)</sup>、オズウイルスの検出事例等が報告されている<sup>3)</sup>。NGSを用いた検査では、一度に得られる情報量が非常に多く、既存の検査法と比較して、細菌やウイルスの分離を必要としないことや、想定外の病原体についても検出可能であること等の利点がある。この度、本市における原因不明の感染症事案について、感染症法における疑似症サーベイランスとして、感染研病原体ゲノム解析研究センターの技術支援の下、網羅的ゲノム解析を行っ

たのでその概要について報告する。

### 方 法

#### 1 材料

同時期に2世帯7名が発熱、発疹、下痢、手足の浮腫、口唇発赤等の症状を呈した原因不明の感染症事案において、抗生物質投与前の患者1名から採取された咽頭拭い液、便、血液(EDTA処理全血)を検査対象とした。検体はいずれも凍結保存された状態で搬入された。咽頭拭い液については融解後の検体を用いてグラム染色を行った。

#### 2 NGS 解析

便は凍結状態のまま、チップの先端に付着する程度の量を400 μLのMagNA pure Bacteria Lysis buffer(Roche)に混合し、液体のサンプルとした。咽頭拭い液及び血液については、自然融解した検体をそのままサンプルとした。MagNA pure Bacteria Lysis buffer 400 μL及びProteinase K solution(wako) 20 μLを加えたZR BashingBead Lysis Tubes(Zymo Research)に、各検体400 μLを混合し、50°Cで30分間反応させた。反応後の検体は、HG-600 Geno/Grinder® 2010(SPEX)を用いて10分間Beads Beatingを行った後、8,000rpmで3分間遠心を行い、上清を核酸精製用のサンプルとし

\*：現 健康福祉局保健部環境衛生課

た。核酸精製は、Maxwell® RSC miRNA Tissue Kit (Promega) を用いて、Maxwell® RSC Instrument (Promega) により行った。ライブラリ調製は、Zymo-Seq Ribo Free Total RNA Library Kit (Zymo Research) を用いて行い、iSeq 100 (Illumina) により網羅的ゲノム解析を行った。

### 3 データ解析

NGS により得られたデータの解析は、MePIC2 パイプライン<sup>4)</sup>を用いて NCBI nt データベースに対し megablast 検索を実施して、病原体候補を Krona chart で表現した。

### 結果と考察

咽頭拭い液をグラム染色した結果、グラム陽性球菌が多く存在することが確認された(図 1)。

各検体について網羅的ゲノム解析を行った結果を表 1 に示した。得られた遺伝子配列(Original Reads)は、便検体で 4,040,752 リードと最も多かった。信頼性の低いリードの除去(Quality Trimming), ヒト由来ゲノムの除去を行った後(After Genome Substrate), データベース上の登録配列にヒットした配列(Blast Hits)は、咽頭拭い液が 113,122 リード, 血液が 2,891 リード, 便が 3,844,985 リードであった。咽頭拭い液及び便では、細菌の割合が圧倒的に高かったが、血液では、細菌及びウイルスはほとんど確認されなかった。血液は本来、細菌もウイルスも存在しないことが想定されるため、正常な状態と考えられた。また、便においては、ヒト由来ゲノムの割合が低いことから、

腸管壁が剥がれて便中に排出されるような激しい胃腸炎症状は呈していないことが推察された。

登録配列にヒットした配列の内訳を Krona chart として図 2 に示した。便では *Bacteroides* 属が主流を占めており、既報<sup>5)</sup>における健常人の常在菌叢と同様の傾向を示していた。また、明らかに高い割合を示す病原体は確認されなかった。咽頭拭い液においては、細菌が多くの割合を占めていたが、健常人の常在菌叢と比較すると、*Gemella haemolysans* の占める割合が高いと推察された。*G. haemolysans* は、上気道、消化管等に常在する、溶血性を示すグラム陽性球菌であり、感染性心内膜炎や腹膜炎等の疾患との関連が報告されている<sup>6), 7)</sup>。本件においても、グラム染色により、グラム陽性球菌が多く存在することが確認されていることから、症状との関連を評価するため、検体から *G. haemolysans* の分離を試みた。しかしながら、検体採取から時間が経過していたこと等の要因により、分離することはできなかった。これらのことから、本件においては、関与が疑われる具体的な病原体を示すには至らなかった。

NGS 検査法は研究途上の手法であり、一般的な病原体鑑別診断法として確立された方法ではないため、判定基準ではなく、結果の評価については、症状やその他の検査結果等とあわせて、総合的に判断する必要がある。そのため、本検査法を有効に活用するためには、臨床データ、検体の採取方法、検査内容、解析結果について、医療機関(主治医)や保健所、衛生研究所等が相互に連携し、情報共有してい

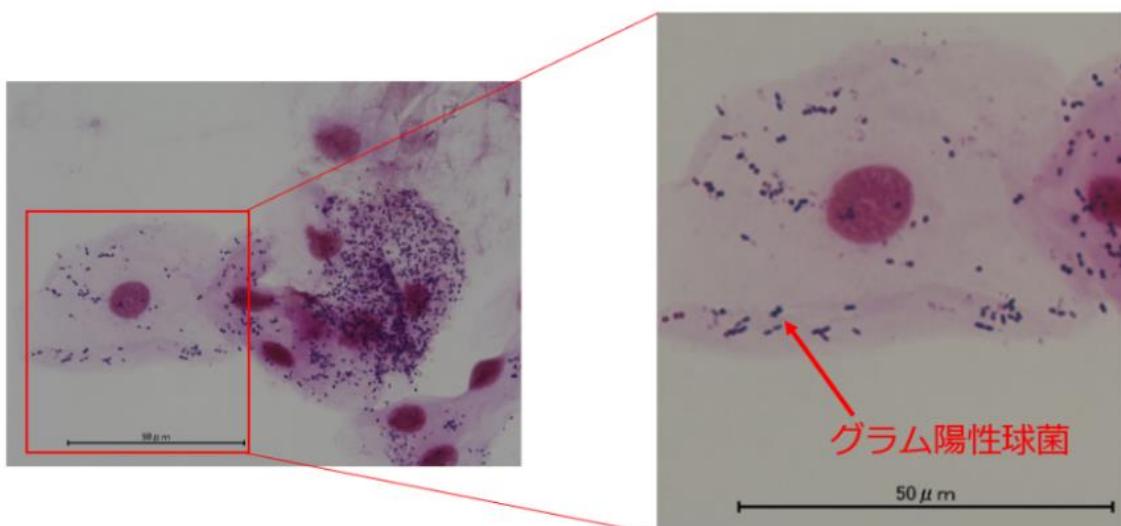


図 1 咽頭拭い液のグラム染色像

表1 網羅的ゲノム解析結果

	Original Reads	Quality Trimming	After Genome Substrate		Blast Hits		
			(Genome Substrate)		(Total)	(Bacteria)	(Virus)
咽頭拭い液	528,770	455,774 (86.2%)	314,334 (59.4%)	141,440 (26.7%)	113,122 (21.4%)	109,749 (20.8%)	564 (0.1%)
血液	999,692	986,820 (98.7%)	974,841 (97.5%)	11,979 (1.2%)	2,891 (0.3%)	154 (0.02%)	0 (0%)
便	4,040,752	4,030,302 (99.7%)	6,191 (0.2%)	4,024,111 (99.6%)	3,844,985 (95.2%)	3,667,839 (90.8%)	28,168 (0.7%)

数字はリード数、( )はOriginal Readsに対する割合を示す。

くことが重要と考えられる。また、本件においては、抗生素質投与前の検体が1名分のみであったため、患者間の比較が行えなかつたが、複数の患者から検体が得られれば、より詳細な検討を行える可能性がある。

今後、当所において検査データの蓄積を行っていくことで、検査技術、解析技術の向上に努めたいと考えている。

### 謝 詞

本研究の遂行に際し、多大なる御指導を賜りました黒田誠先生を始めとする国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センターの先生方に深く感謝いたします。

### 文 献

- 1) 黒田 誠 他：迅速・網羅的病原体ゲノム解析法を基盤とした感染症対策ネットワーク構築に関する研究、平成25年度総括・分担研究報告書(2014)
- 2) 千葉隆司 他：網羅的ゲノム解析法等を用いた健康危害微生物の検出・解析に関する研究、東京都健康安全研究センター研究年

報, 72, 29~41(2021)

- 3) 峰 宗太郎 他：初めて診断されたオズウイルス感染症患者、IASR, 44(7), 109~111(2023)
- 4) Fumihiro T et al.: MePIC, metagenomic pathogen identification for clinical specimens, Jpn. J. Infect. Dis., 67, 62~65(2014)
- 5) Nicola S et al.: Composition of the adult digestive tract bacterial microbiome based on seven mouth surfaces, tonsils, throat and stool samples, Genome Biol., 13(6), R42(2012)
- 6) 豊嶋弘一 他：*Gemella haemolysans*による感染性心内膜炎の1例、感染症誌, 92, 71~75(2018)
- 7) Yoshiro H et al.: *Gemella haemolysans* bacteremia in a patient with secondary peritonitis due to a duodenal ulcer perforation, A case report, IDCases, 12, 133~135(2018)

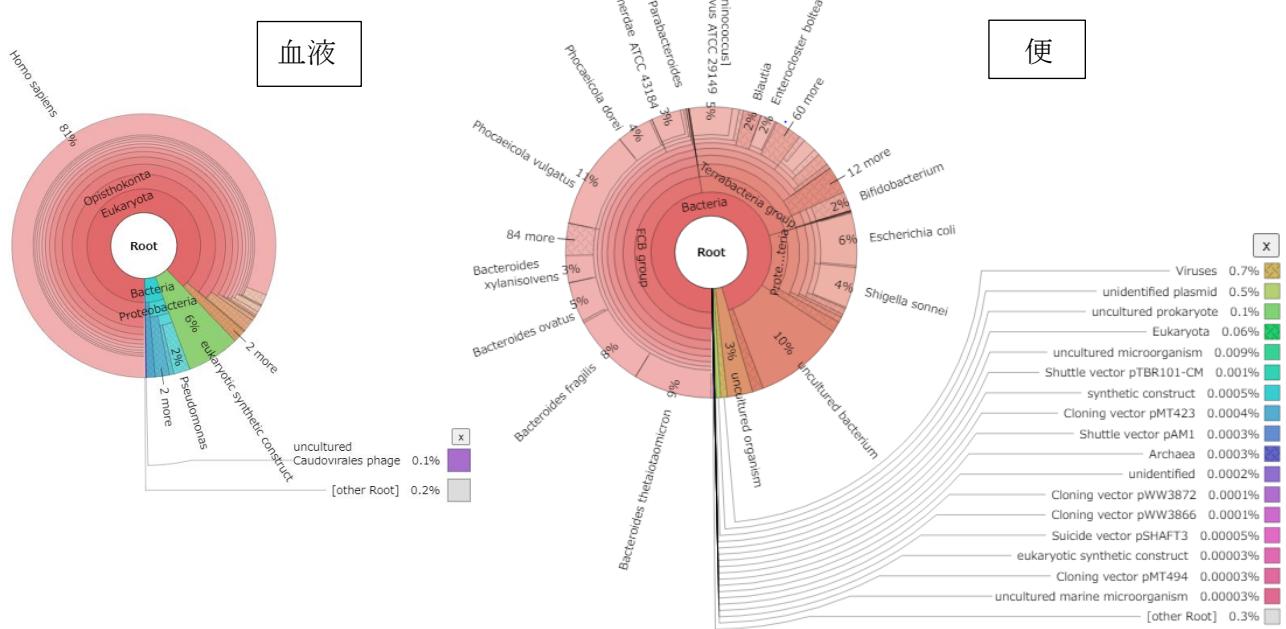
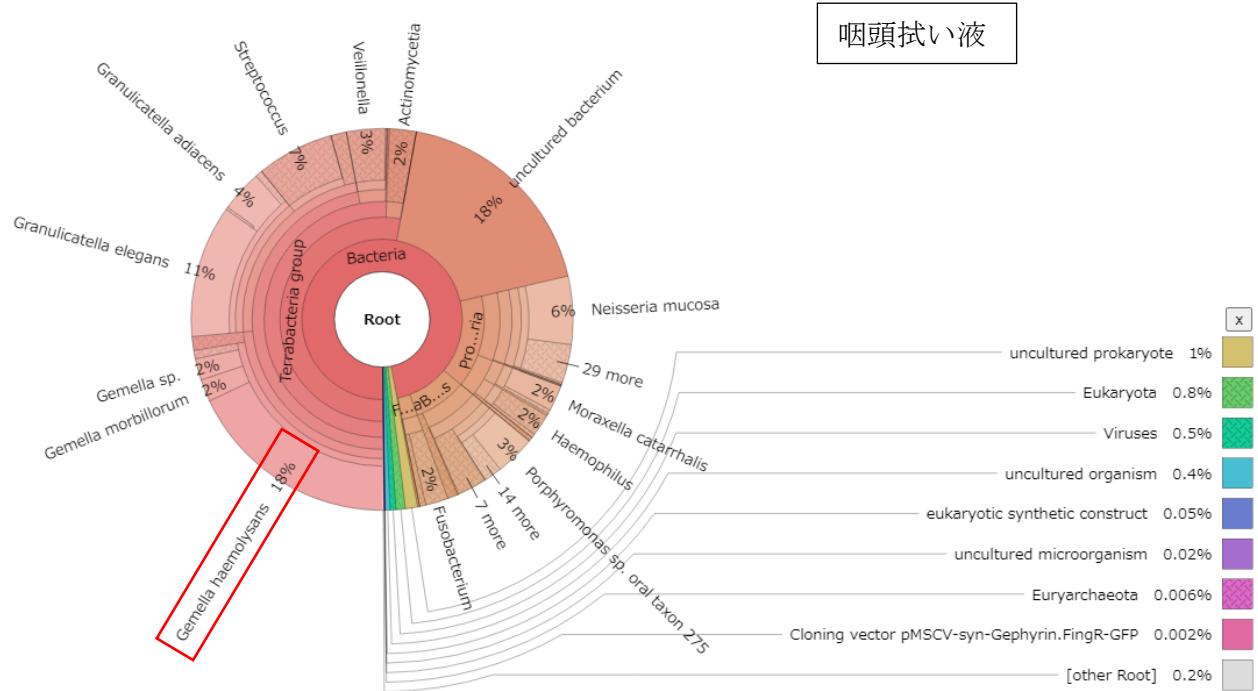


図2 各検体における病原体候補を示したKrona chart

## II 資 料



## 広島市感染症発生動向調査事業における 感染症の発生動向(2023年)

山岡 誠司 小川 秋奈 白田 美由紀 吉岡 英明

### はじめに

本市では広島市感染症発生動向調査事業実施要綱に基づき、衛生研究所に感染症情報センターを設置している。感染症情報センターでは市内の感染症情報を収集・分析し、その結果を感染症週報やホームページ等で市民及び関係機関等へ提供・公開することにより、感染症の発生予防及び蔓延防止に努めている。

2023年の本市における感染症の発生動向をまとめたので報告する。

### 方 法

#### 1 対象疾患

一類感染症(エボラ出血熱等7疾患)、二類感染症(急性灰白髄炎等7疾患)、三類感染症(コレラ等5疾患)、四類感染症(E型肝炎等44疾患)、五類感染症全数把握対象疾患(アメーバ赤痢等24疾患)、五類感染症定点把握対象疾患(インフルエンザ等26疾患)及び新型インフルエンザ等感染症(新型インフルエンザ等4疾患)を対象とした。

なお、新型コロナウイルス感染症(COVID-19)は2023年5月8日から感染症法上の位置付けが五類感染症定点把握対象疾患に位置づけられたため、5月7日までは全数把握対象疾患として、5月8日からは定点把握対象疾患として集計した。

#### 2 患者情報の収集

全数把握対象疾患は、医療機関から届出基準に従って直ちに又は7日以内に、五類感染症定点把握対象疾患は定点医療機関から週又は月単位で、各区保健センターに届出された。届出された患者情報は、各区保健センターから感染症サーベイランスシステムにより感染症情報センターへ伝送され、感染症情報センターは、その情報を中央感染症情報センター(国立感染症研究所)へ伝送するとともに集計を行った。

新型コロナウイルス感染症(COVID-19)は、5月7日までは、医療機関又は各区保健センター等から新型コロナウイルス感染者等情報把握・管理支援システム(HER-SYS)により届出された。患者情報は、本市の新型コロナウイルス感染症担当部署で取りまとめたものを、感染症情報センターで集計

を行った。

なお、市内の患者定点の内訳は、インフルエンザ/COVID-19 定点(小児科定点を含む)37、小児科定点24、眼科定点8、性感染症定点9、基幹定点7である。

#### 3 対象期間

(1) 全数把握及び週報対象の定点把握疾患

2023年1月2日～2023年12月31日(2023年第1週～第52週)

(2) 月報対象の定点把握対象疾患

2023年1月1日～2023年12月31日

### 結 果

#### 1 全数把握対象疾患

2023年は、医療機関等より23疾患の届出があった(表1)。

(1) 腸管出血性大腸菌感染症

毎年、全国では3,000件を超える届出があり、集団感染事例も報告されている。本市では、16件の届出があった。血清型別の内訳は、O26が8件、O157が6件、O103及び型別不能が各1件であった。

(2) エムポックス

2022年5月以降、流行国への海外渡航歴のないエムポックス患者が、世界各国で確認された。国内では、2022年7月に最初の患者が確認され、2023年に入り届出が増加した。本市では、2023年7月に1例目の届出があった。

(3) レジオネラ症

34件の届出があり、1999年の感染症法施行以降の調査において、2018年の39件、2021年の37件に次いで3番目に多かった。性別では男性が91%を占め、年齢別では50代以上が97%を占めた。

(4) 梅毒

272件の届出があり、1999年の感染症法施行以降の調査において最多であった2022年の317件に次いで多かった。性別では男性が65%を占めた。年代別では、男性は20代から50代の幅広い年代に多く、女性は20代が41%と最も多かった。

(5) バンコマイシン耐性腸球菌感染症

複数の医療機関から 11 件の届出があり、1999 年の感染症法施行以降の調査において、2021 年の 15 件、2022 年の 13 件に次いで 3 番目に多かった。患者は全て 60 代以上であった。

#### (6) 新型コロナウイルス感染症(COVID-19)

5 月 7 日までに全数把握対象疾患として、58,304 件の届出があった。2023 年 1 月上旬から感染者数が多い状況であったが、2 月下旬まで減少傾向が続き、その後 5 月上旬までは、ほぼ横ばい傾向で推移した。2023 年 1 月 2 日から 5 月 7 日までの届出件数の推移を図 1 に示す。

## 2 五類感染症定点把握対象疾患

### (1) 週単位報告疾患

インフルエンザ/COVID-19 定点、小児科定点、眼科定点及び基幹定点から毎週報告される 19 疾

表 1 全数把握対象疾患の届出数

類型	疾患名	届出件数
二類	結核	131
三類	腸管出血性大腸菌感染症	16
四類	E 型肝炎	3
	エムポックス	1
重症熱性血小板減少症候群 (SFTS)		2
つつが虫病		6
デング熱		3
日本紅斑熱		3
レジオネラ症		34
五類	アメーバ赤痢	5
	ウイルス性肝炎	6
カルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症		12
急性脳炎		6
クロイツフェルト・ヤコブ病		3
劇症型溶血性レンサ球菌感染症		6
後天性免疫不全症候群		11
侵襲性インフルエンザ菌感染症		4
侵襲性肺炎球菌感染症		18
水痘(入院例に限る。)		5
梅毒		272
バンコマイシン耐性腸球菌感染症		11
百日咳		2
新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) ※		58,304

※ 届出件数は、5 月 7 日までの累計

患の年間累積報告数を表 2 に示す。なお、報告数とは届出された患者数である。定点当たり累積報告数は、インフルエンザが最も多く、次いで感染性胃腸炎、新型コロナウイルス感染症(COVID-19)、A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎、咽頭結膜熱の順に多かった。ただし、新型コロナウイルス感染症(COVID-19)の年間累積報告数は、第 19 週(5 月 8 日～14 日)以降の累計である。

以下に、年間累積報告数が多かった疾患の概要を示す。また、これらの本市と全国における週別定点当たり報告数の推移を図 2 に示す。

#### a インフルエンザ

定点当たり累積報告数は 486.77 人で、前年(0.80 人)から大きく增加了。

2023 年は、報告数が非常に少なかった 2021 年、2022 年とは異なり、第 1 週から流行開始の目安である定点当たり 1.00 人を上回り、流行入りした。夏季には、定点当たり 1.00 人を下回る週が 5 週ほどあったが、2023/2024 シーズンに入った時点(第 36 週)で、既に定点当たり 1.00 人を上回っており、第 49 週にピーク(定点当たり 42.69 人)となった。

#### b 感染性胃腸炎

定点当たり累積報告数は 241.93 人で、前年と比べるとほぼ横ばいであった(前年比 1.09)。感染性胃腸炎は、小児科定点の定点当たり累積報告総数のうち 43% を占め、小児科定点報告対象疾患の中で最も多かった。

#### c 新型コロナウイルス感染症(COVID-19)

定点把握対象疾患となった第 19 週以降增加傾向がみられ、第 36 週にピーク(定点当たり 14.89 人)となった。第 19 週から第 52 週での集計であるが、定点当たり累積報告数は、インフルエンザ、感染性胃腸炎に次ぐ報告数であった。

#### d A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎

定点当たり累積報告数は 111.95 人で、前年と比べて大きく增加了(前年比 5.56)。冬季および春から初夏にかけて報告数が多くなることが多い疾患である。2023 年は第 44 週にピーク(定点当たり 5.04 人)となった。

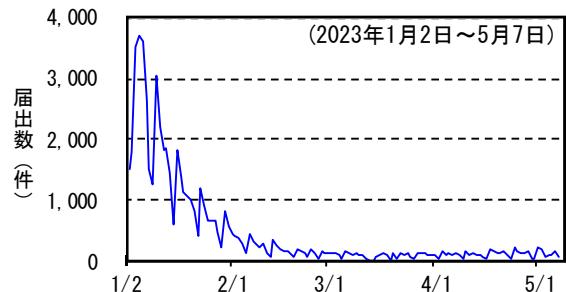


図 1 新型コロナウイルス感染症の日ごとの推移

表2 五類感染症定点把握対象疾患の年間累積報告数  
(週単位報告分)

区分	疾患名	累積報告数	
		報告数	定点当たり
インフルエンザ /COVID-19 定点	インフルエンザ	17,625	486.77
	新型コロナウイルス感染症 (COVID-19)※	6,919	193.02
	計	24,544	679.79
小児科定点	RSウイルス感染症	909	37.95
	咽頭結膜熱	1,377	59.25
	A群溶血性レンサ球菌咽頭炎	2,641	111.95
	感染性胃腸炎	5,744	241.93
	水痘	147	6.15
	手足口病	1,149	48.41
	伝染性紅斑	8	0.32
	突発性発しん	268	11.27
	ヘルパンギーナ	941	39.35
	流行性耳下腺炎	40	1.62
眼科定点	計	13,224	558.20
	急性出血性結膜炎	10	1.28
	流行性角結膜炎	260	32.66
基幹定点	計	270	33.94
	細菌性結膜炎	3	0.42
	無菌性結膜炎	6	0.84
	マイコプラズマ肺炎	1	0.14
	クラミジア肺炎(オウム病を除く)	0	0.00
	感染性胃腸炎(病原体がロタウイルスであるものに限る。)	3	0.42
	計	13	1.82

※累積報告数は、第19週(5月8日～14日)以降の累積

表3 五類感染症定点把握対象疾患の年間累積報告数  
(月単位報告分)

区分	疾患名	累積報告数	
		報告数	定点当たり
性感染症 定点	性器クラミジア感染症	434	48.23
	性器ヘルペスウイルス感染症	144	16.00
	尖圭コンジローマ	103	11.44
基幹定点	淋菌感染症	197	21.88
	計	878	97.55
	メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症	210	30.02
	ペニシリン耐性肺炎球菌感染症	8	1.13
	薬剤耐性緑膿菌感染症	2	0.28
	計	220	31.43

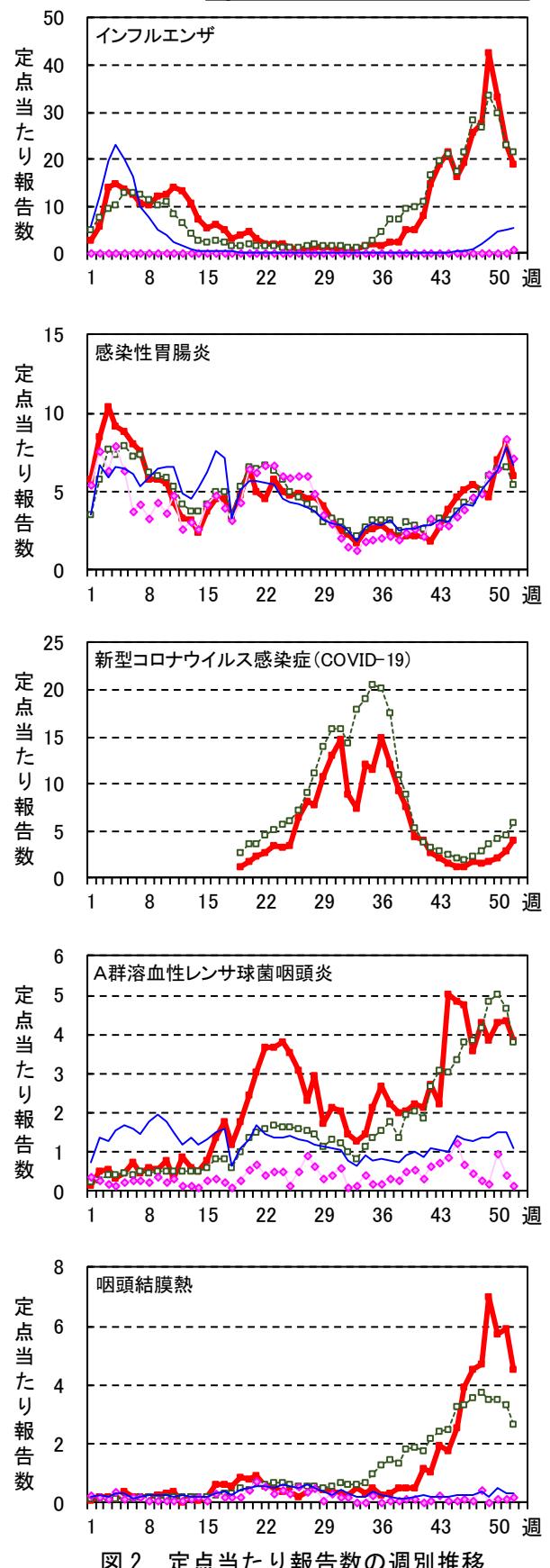
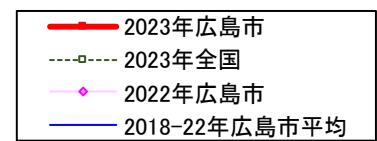


図2 定点当たり報告数の週別推移

e 咽頭結膜熱

定点当たり累積報告数は 59.25 人で、前年と比べて大きく増加した(前年比 5.77)。この年間累積報告数は、1999 年の感染症法施行以降の調査において最多であった。

例年、初夏から秋に流行する疾患であるが、第 49 週に定点当たり 7.00 人のピークとなり、感染症法施行以降の調査において最多であった定点当たり 2.38 人(2013 年第 24 週)を大きく上回った。

(2) 月単位報告疾患

性感染症定点から報告される性感染症 4 疾患及び基幹定点から報告される薬剤耐性菌感染症 3 疾

患の年間累積報告数を表 3 に示す。

a 性感染症

対象 4 疾患の定点当たり累積報告総数は 97.55 人で、前年と比べて同程度であった(前年比 1.00)。定点当たり累積報告数は、性器クラミジア感染症が最も多かった。

b 薬剤耐性菌感染症

対象 3 疾患の定点当たり累積報告総数は 31.43 人で、前年とほぼ同程度であった(前年比 1.04)。定点当たり累積報告数は、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌感染症が最も多かった。

## 食品中のプロピレングリコール試験法の妥当性確認

## 生活科学部

## はじめに

令和5年5月29日付けの厚生労働省通知「「食品中の食品添加物分析法」の改正について」<sup>1)</sup>により、「第2版 食品中の食品添加物分析法」<sup>2)</sup>各条の食品中のプロピレングリコール試験法(以下、通知法)が改正された。

食品衛生法で定められている使用基準への適合判定を目的とした試験を実施するためには、「食品中の食品添加物分析法の妥当性確認ガイドライン」<sup>3)</sup>(以下、ガイドライン)に基づく妥当性確認が求められている。

今回、改正後の試験法について、ガイドラインに基づき妥当性確認を実施したので報告する。

## 方 法

## 1 試料

生めん(中華めん)

## 2 試薬

プロピレングリコール標準品は富士フィルム和光純薬(株)製の食品分析用、添加回収試験用のプロピレングリコールは和光純薬工業(株)製の特級、メタノールは関東化学(株)製の特級を用いた。

## 3 装置及び分析条件

表1に示す。

## 4 試験溶液の調製

通知法に準じて調製した。ただし、抽出に使用す

表1 ガスクロマトグラフ及び分析条件(通知法)

装置	(株)島津製作所製 GC-2010PLUS
カラム	DB-WAX(内径 0.25mm, 長さ 30m, 膜厚 0.25 μm)(アジレント・テクノロジー(株)製)
カラム温度	60°C(2分)→15°C/分で 230°C →230°C(2分)
検出器	FID
注入口温度	220°C
検出器温度	240°C
キャリアガス	He, 1.0mL/分
注入方式	スプリットレス
注入量	1 μL

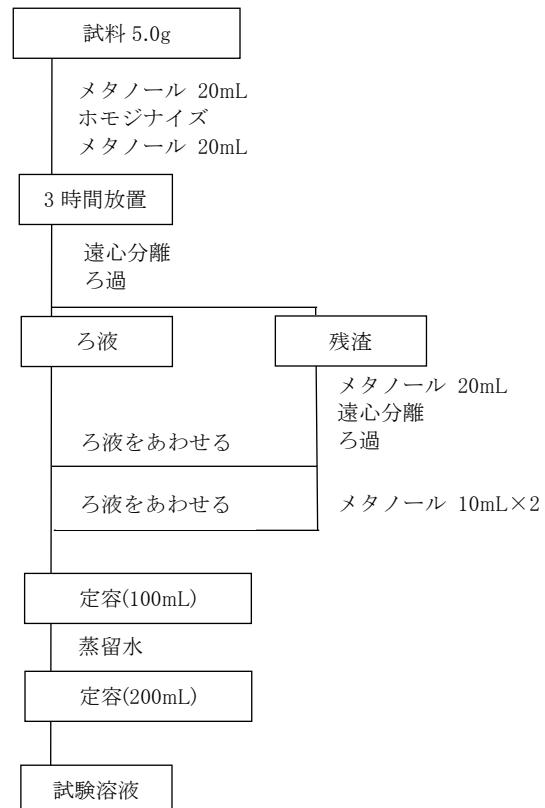


図 試験溶液の調製方法(従来法)

るメタノール液量は、試料体積を含めずに 50mL とした。

## 5 標準溶液の調製

プロピレングリコール標準品をメタノールに溶解し、1000 μg/mL に調製したものを標準原液とした。標準原液をメタノールで希釈し、5~100 μg/mL

表2 ガスクロマトグラフ及び分析条件(従来法)

装置	(株)島津製作所製 GC-14B
カラム	Sunpak-A(内径 3.2mm, 長さ 2.1m)(信和化工(株)製)
カラム温度	180°C
検出器	FID
注入口温度	200°C
検出器温度	230°C
キャリアガス	N <sub>2</sub> , 80mL/分
注入量	1 μL

表3 性能パラメータの目標値

添加濃度	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
基準値 (2.0%)	70～120	<10	<15
定量限界 (0.05%)	70～120	<10	<15

に調製したものを検量線用の標準溶液とした。

## 6 従来の試験法との比較

プロピレンジリコールの表示がある生めんを試料とし, 当所の従来法と通知法による分析結果を比較した。従来法のフローチャート及び分析条件は図及び表2に示す。

## 7 妥当性確認

ガイドラインに従い, 分析者1名が2併行で5日間添加回収試験を行う方法で妥当性を確認した。性能評価には, プロピレンジリコールの表示がない生めんを用いた。添加濃度は, ガイドラインで示された基準値(2.0%)と, 定性試験の精度を確認するため定量限界濃度(0.05%)とした。そのため, 検量線に定量限界に相当する濃度の1/2濃度(5 μg/mL)を追加した。ガイドラインに示された真度及び精度の目標値を表3に示す。なお, 定量限界濃度の添加回収試験の目標値もガイドラインを参考に設定した。

## 結 果

### 1 従来の試験法との比較

結果を表4に示す。通知法, 従来法ともに同等の

表4 実試料の分析結果 (n=3)

試験法	プロピレンジリコール 含量(%)	CV(%)
通知法	1.59	0.83
従来法	1.54	0.68

表5 妥当性確認結果

添加濃度	真度 (%)	併行精度 (RSD%)	室内精度 (RSD%)
基準値 (2.0%)	96.5	2.4	2.4
定量限界 (0.05%)	103.7	1.8	4.0

結果が得られた。また, 工程数や抽出の待ち時間が減ったことにより, 試験溶液の調製に要する時間は従来法に比べ半分程度に短縮された。

## 2 妥当性確認

### (1) 検量線の確認

5～100 μg/mL の濃度範囲で検量線を作成し, 相関係数が0.99以上であることを確認した。

### (2) 選択性

プランク試料を用いて調製した試験溶液を測定し, 定量を妨害するピークがないことを確認した。

### (3) 真度及び精度

真度及び精度の結果を表5に示す。

### (4) 確認結果

すべての性能パラメータが目標値を満たしていることを確認した。生めんの試験において, 通知法を使用基準への適合判定に用いることが可能となった。また, ガイドラインの対象外ではあるものの定量限界濃度で妥当性を確認したことで, 定性試験の精度を担保することができた。

## 文 献

- 厚生労働省通知, 薬生食基発0529第1号, 薬生食監発0529第1号, 令和5年5月29日
- 厚生省通知, 衛化第15号, 平成12年3月30日
- 厚生労働省通知, 健生食基発0308第1号, 健生食監発0308第1号, 令和6年3月8日

## 広島市の細菌性集団食中毒検査状況(令和5年度)

## 生物科学部

## はじめに

令和5年度に本市で発生した主要な細菌性集団食中毒の検査状況について報告する。

## 方 法

保健所で採取した患者便、患者菌株、従事者便、食品及び器具等の拭き取り検体(スワブ)について細菌検査を実施した。また、保健所食品保健課から

入手した食中毒事件の調査概要に基づき、検査結果をとりまとめた。

## 結 果

保健所で調査集計した食中毒事例のうち、検査を実施した細菌性集団食中毒の概要及び検査結果を表に示す。

表 広島市における細菌性集団食中毒の概要及び検査結果(令和5年度)

発生月	原因 施設	患者数*/ 摂食者数	病因物質 原因食品	平均潜伏時間、主症状及び 検査結果
4月	飲食店	8/8	<i>Campylobacter jejuni/coli</i> 鶏レバ刺し(低温調理) (推定)	59時間 11分、下痢、発熱、腹痛等 患者便4検体、患者菌株1検体、食品(参考品)1検体、 スワブ8検体を検査。 患者便2検体から <i>C. coli</i> 、別の1検体から <i>C. jejuni</i> を 検出。患者菌株を <i>C. coli</i> と同定。
6月	飲食店	3/3	<i>Campylobacter jejuni/coli</i> 6月8日夜提供の食事	57時間、腹痛、下痢等 患者便3検体、従事者便2検体、食品(参考品)3検体、 スワブ6検体を検査。 患者便1検体から <i>C. coli</i> 、別の1検体から <i>C. jejuni</i> 、 別の1検体から <i>C. coli</i> 及び <i>C. jejuni</i> を検出。 食品(参考品)1検体から <i>C. coli</i> 、別の1検体から <i>C. jejuni</i> 、別の1検体から <i>C. coli</i> 及び <i>C. jejuni</i> を 検出。
6月	飲食店	3/3	<i>Campylobacter jejuni</i> 6月28日夜提供の食事	83時間 40分、腹痛、下痢、発熱等 患者便3検体、従事者便4検体、スワブ4検体を検査。 患者便3検体から <i>C. jejuni</i> を検出。
7月	飲食店	33/79	<i>Salmonella Enteritidis</i> 7月16日から18日提供の食事	33時間 30分、下痢、発熱、腹痛等 患者便18検体、患者菌株1検体、従事者便4検体、 スワブ8検体を検査。 患者便16検体及びスワブ2検体から <i>S. Enteritidis</i> を 検出。患者菌株を <i>S. Enteritidis</i> と同定。
9月	飲食店	3/11	<i>Campylobacter jejuni</i> 9月15日夜提供の食事	82時間 50分、下痢、発熱、悪寒等 患者便3検体、従事者便2検体、食品(参考品)1検体、 スワブ7検体を検査。 患者便3検体から <i>C. jejuni</i> を検出。

※ 疫学調査の結果、患者と定義された数

## mP-BIT 法及び Penner-PCR 法を用いた *Campylobacter jejuni* 株間の比較解析

池田 伸代 大原 有希絵 千神 彩香 末永 朱美\*  
兼重 泰弘 山本 美和子

### はじめに

カンピロバクター属菌による食中毒は、国内の細菌性食中毒の中で近年最も発生件数が多い食中毒である<sup>1)</sup>。*Campylobacter jejuni*(以下 *C. jejuni*)と *Campylobacter coli*の2菌種が食中毒の病因物質に指定されており、中でも *C. jejuni* はカンピロバクター腸炎の原因の 95~99%を占めている<sup>2)</sup>。感染経路・原因食品の特定のためには、分離菌株の疫学的な解析が重要であり、*C. jejuni* の疫学解析方法として、血清型別試験、パルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE 法)による分子疫学解析などが挙げられる。血清型別試験は耐熱性抗原(HS 抗原)による Penner の血清型別法が多く用いられており、国内では受身血球凝集反応によって型別する市販試薬が利用されてきたが、型別率が 50%程度と低いことが課題であった<sup>3)</sup>。また、PFGE 法は解析能が高く詳細な型別が可能であるが、必要な泳動装置の販売がすでに終了していることから、代替法の検討が必要とされている。近年、PCR によって HS 抗原を検出する Penner-PCR 法、また新たな分子疫学解析手法として Multiplex PCR binary typing(mP-BIT) 法が報告されている。Penner-PCR 法は Penner 血清型の主要な決定因子である莢膜多糖(capsule polysaccharide)の合成遺伝子領域を標的とする PCR 法、mP-BIT 法は病原性や薬剤耐性に関わる 18 遺伝子領域の有無を PCR により判定し型別を行う方法である。当所で分離・収集した *C. jejuni* 株について、Penner-PCR 法及び mP-BIT 法を実施し、事例間における分離株の比較を行ったので報告する。

### 方 法

#### 1 供試菌株

2015 年から 2024 年に分離された *C. jejuni* 株のうち、散発下痢症由来 8 株、収去等鶏肉由来 5 株、集団食中毒等有症事例(食中毒と断定されなかつた事例を含む)21 事例から患者便由来 29 株及び参考食品由来 21 株(鶏肉 20、豚肉 1)の計 63 株を供試

した。

#### 2 Penner-PCR 法

アルカリ熱抽出した DNA 鑄型を用いて、今野らの方法<sup>4)</sup>により 4 系統の multiplex PCR を実施した。

#### 3 mP-BIT 法

山田らの方法<sup>5)</sup>により 2 系統の multiplex PCR を実施し、増幅産物の有無を 1 又は 0 で表したバイナリコードを作成した。これを 10 進法に変換し mP-BIT スコアを算出した。また、Bio-Numerics Ver. 7.5 (Applied Maths) を用いて、バイナリコードから MST (Minimum spanning tree) を作成した。

### 結 果

#### 1 Penner-PCR 法

供試した 63 株は Penner gB 群、gG 群、gK 群、g0 群、gY 群、gZ6 群の 6 遺伝子型に型別された(表 1)。

#### 2 mP-BIT 法

図 1 に、18 の標的遺伝子及び *C. jejuni* 陽性対照として設定された馬尿酸分解酵素遺伝子 *hipO* の有無について、1 を黒、0 を白で示した。供試した 63 株は 21 種類の mP-BIT スコアに分類された。

#### 3 Penner-PCR 法と mP-BIT 法の組み合わせによる比較解析

mP-BIT 法のバイナリコードにより作成した MST に、Penner 遺伝子型を併せて示した(図 2)。Penner gG 群、gK 群、g0 群、gY 群、gZ6 群はそれぞれ、Penner 遺伝子型ごとに保有遺伝子領域の類似した mP-BIT パターンを示した。Penner gB 群は 11 株(15-55 及び 15-311)と 4 株(138-52 及び 138-53)の、それぞれ mP-BIT パターンが類似した 2 つのグループと、そのどちらとも類似しない株が 3 株みられた。

同図中に、同一事例から複数分離された株を同一色で表し、事例記号を円要素に重ねて示した。12 事例から複数の株が分離され、そのうち 8 事例では事例内で同一のパターンを示す株がみられた。

\* : 現 健康福祉局食肉衛生検査所

表1 Penner 遺伝子型ごとの mP-BIT スコアと株数

Penner 遺伝子型	株数	mP-BIT スコア	株数
gB 群	18	15-55	6
		15-311	5
		138-52	3
		138-53	1
		59-127	1
		62-255	1
		8-39	1
gG 群	13	62-31	8
		186-63	3
		190-59	1
		58-63	1
gK 群	4	134-36	2
		134-100	1
		134-228	1
g0 群	13	0-388	7
		0-260	5
		8-260	1
gY 群	7	10-22	5
		10-150	1
		10-19	1
gZ6 群	8	134-128	8

## 考 察

Penner-PCR 法で型別された株は mP-BIT 法により更に詳細に型別された。8 事例において、事例内の複数の株が同じ mP-BIT スコアを示し(表 2)，事例内株間の関連性が示唆された。事例 2020-E については、患者便由来の 3 株が同ースコア(15-311)を示したが、参考食品由来の 4 株は患者便由来と異なる 2 種類のスコア(15-55 及び 134-128)を示した。カンピロバクター食中毒は少ない菌量摂取で発症する感染型食中毒であり、食品中での菌増殖は必須でなく、汚染状況によっては食品から複数の菌種や血清型が分離される場合がある。患者 3 名が同一の mP-BIT スコア(15-311)であったことから、この型の *C. jejuni* が病因物質の可能性が高いが、複数の型の *C. jejuni* が関与していた可能性も否定できない。

Penner gB 群 18 株は 7 種類の mP-BIT スコアに型別され、gG 群、gK 群、g0 群、gY 群、gZ6 群に比べ多様性がみられた。また、Penner gB 群の mP-BIT スコア 15-55, g0 群の mP-BIT スコア 0-388 及び 0-260 は、カンピロバクターリファレンスセンター会

表2 複数株が分離された事例ごとの Penner 遺伝子型と mP-BIT スコア

事例記号	Penner 遺伝子型	mP-BIT スコア	株数
2016-0	g0 群	0-388	2
		15-311	1
2017-A	gB 群	190-59	1
		134-128	1
2017-E	g0 群	8-39	1
		58-63	1
2017-J	gB 群	0-260	1
		15-55	1
2020-E	gB 群	15-311	3
		134-128	2
		62-31	4
2020-H	gG 群	62-31	4
		134-128	3
2022-B	g0 群	0-260	2
		134-128	2
2023-C	gZ6 群	62-31	4
		10-22	3
2023-F	gG 群	186-63	3
		134-128	2
2023-P	gB 群	15-55	2
		138-52	1
2024-A	gB 群		

議の報告でも全国的に多く検出されていることから<sup>6)-8)</sup>、広域的に分布していることが示唆された。

今回、Penner-PCR 法と mP-BIT 法を組み合わせたことにより、事例間の関連性などより詳細な疫学解析を行うことができた。PFGE 法の泳動装置が販売終了となり、代替法としてこれら 2 つの型別法を組み合わせて行うことが有用であると考えられた。

## 文 献

- 1) 食品安全委員会：食品健康影響評価のためのリスクプロファイル～鶏肉等における *Campylobacter jejuni/coli*～(改訂版)，  
[https://www.fsc.go.jp/risk\\_profile/index.data/](https://www.fsc.go.jp/risk_profile/index.data/)  
210622CampylobacterRiskprofile.pdf
- 2) 高橋正樹 他：カンピロバクター感染症，  
IDWR, 7(19), 11~13(2005)
- 3) 甲斐明美 他：カンピロバクターの型別方法の検討と分離株の特徴，厚労科研「国内の病原体サーベイランスに資する機能的な

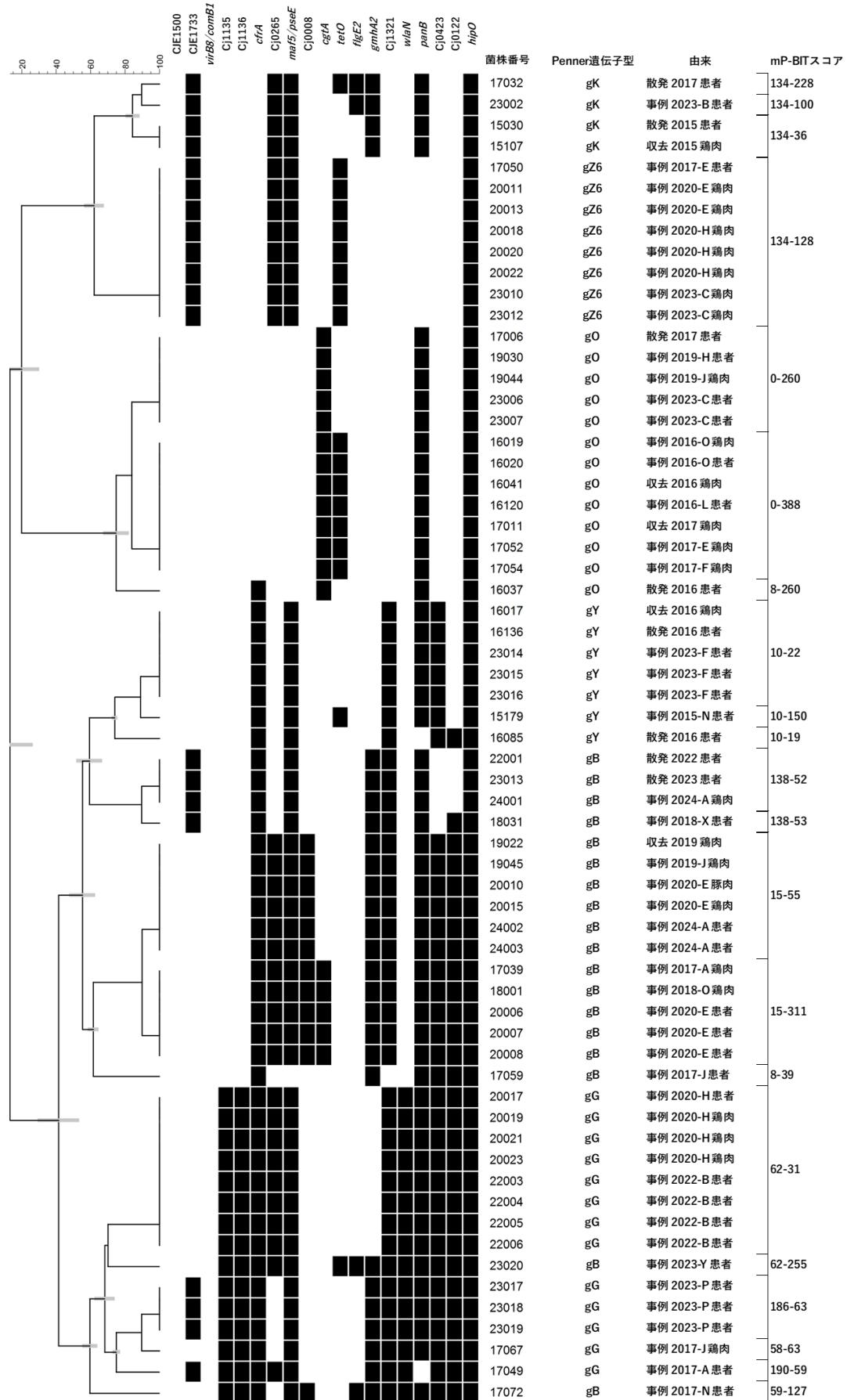


図 1 mP-BIT 法による標的遺伝子の検出結果と mP-BIT スコア

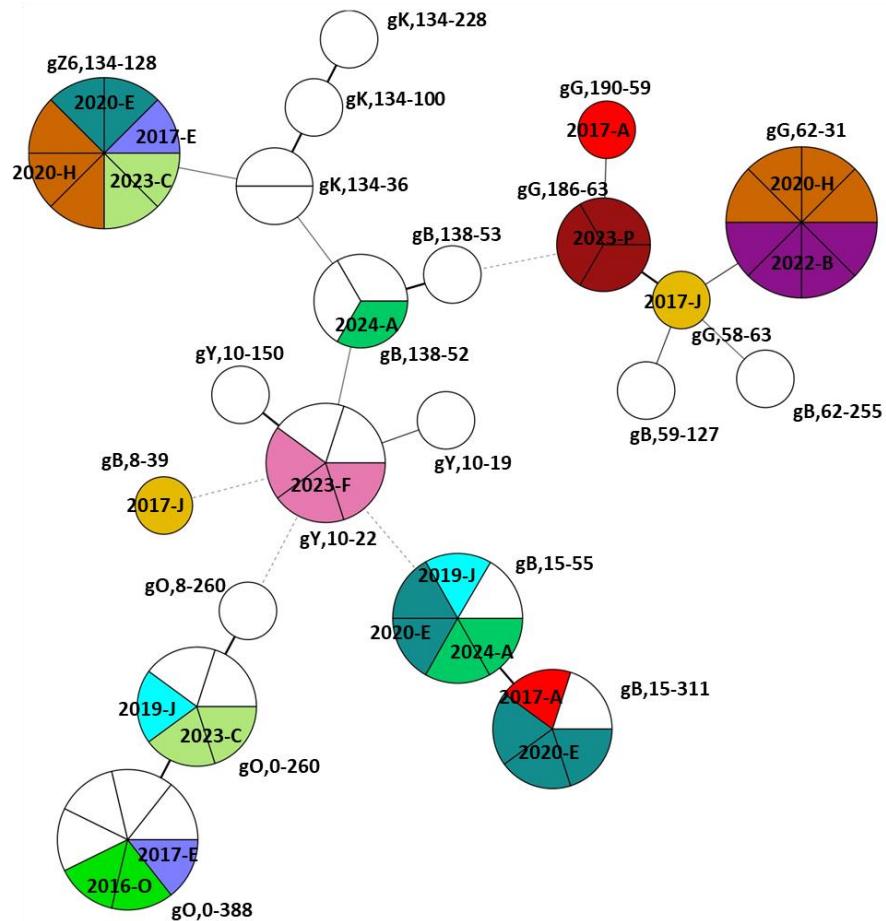


図 2 mP-BIT 法のバイナリコードによる MST と Penner 遺伝子型

ラボネットワークの強化に関する研究」平成 27 年度総括・分担研究報告書, 51 ～ 56 (2016)

4) 今野貴之 他 : 国内の *Campylobacter jejuni* 血清型別に対応した改良 Penner PCR 型別法, 日本食品微生物学会雑誌, 38 (3), 123～128 (2021)

5) Yamada K. et al. : Designing multiplex PCR system of *Campylobacter jejuni* for efficient typing by improving monoplex PCR binary typing method, J. Infect. Chemother., 21 (1), 50～54 (2015)

6) 国立感染症研究所 : 衛生微生物技術協議会令和 4 年度リファレンスセンター会議報告

告, [https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/reference/R4\\_Campyrobacter.pdf](https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/reference/R4_Campyrobacter.pdf)

7) 国立感染症研究所 : 衛生微生物技術協議会令和 5 年度リファレンスセンター会議報告, [https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/reference/R5\\_Campyrobacter.pdf](https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/reference/R5_Campyrobacter.pdf)

8) 国立感染症研究所 : 衛生微生物技術協議会令和 6 年度リファレンスセンター会議報告, [https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/reference/R6\\_Campyrobacter.pdf](https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/reference/R6_Campyrobacter.pdf)

## 広島市域で分離された *Salmonella enterica* Enteritidis の分子疫学解析

大原 有希絵 池田 伸代 千神 彩香 末永 朱美\*  
兼重 泰弘 山本 美和子

### はじめに

サルモネラ属菌は動物の消化管や河川、下水など自然界に広く分布しており、食中毒の原因となるものがある。サルモネラ属菌の血清型は約2500種類以上報告されており、そのうち *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (以下 *S. Enteritidis*) は主に鶏卵やその関連食品から分離される。通常、鶏卵は産卵時に付着した糞便によってサルモネラ属菌に汚染されるが、*S. Enteritidis* は腸管外の臓器に侵入し、卵巣等に保菌されることから、産卵時にすでに内部が汚染されている場合もある<sup>1)</sup>。令和2年度の農林水産省の調査によると、市販鶏卵が *S. Enteritidis* に汚染されている確率は、0.0027%とかなり低い<sup>2)</sup>。2022～2023年に広島市において *S. Enteritidis* が分離された複数の散発感染事例や集団食中毒事例が発生したが、鶏卵との疫学的関連性については不明であった。

今回 2022～2023 年に広島市域で分離された *S. Enteritidis* を対象に、薬剤感受性試験、パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)法による解析及び次世代シーケンサーを用いた全ゲノムシークエンスによる一塩基多型(SNPs)解析を行い、疫学的関連性について検討したので報告する。

### 方 法

#### 1 薬剤感受性試験

2022～2023年に分離された *S. Enteritidis* 全31株(表1)について、渡邊班地研グループ薬剤感受性菌検査プロトコル(サルモネラ属菌及び大腸菌)<sup>3)</sup>に準じて、CLSI ディスク拡散法による薬剤感受性試験を行った。使用した薬剤と判定表は表2のとおりである。なお、耐性以外のものは感受性と判定し、型別を行った。

#### 2 PFGE 解析

散発事例(Aと表記)全11株及び集団事例Bの1株、集団事例Cについては5株(C23002, 23003,

表1 使用菌株

菌株番号	分離年月	由来	事例
A22001	2022.05	患者	散発
A22002	2022.05	患者	散発
A22003	2022.08	患者	散発
A22004	2022.09	患者	散発
B22005	2022.10	患者	集団B
A22006	2022.10	患者	散発
A22007	2022.10	患者	散発
A23001	2023.07	患者	散発
C23002～3	2023.07	スワブ	集団C
C23004～20	2023.07	患者	集団C
A23021	2023.07	患者	散発
A23022	2023.08	患者	散発
A23023	2023.09	患者	散発
A23024	2023.10	患者	散発

23005, 23016, 23018)を対象とし、計17株についてPFGE解析を行った。

国立感染症研究所が示した方法に準拠し実施した。系統樹は、BioNumerics Ver.7.5(Applied Maths)を用いて解析を行い、Dice法(最適化:0.0%, トランヌ:1.0%)による相似係数を算出し、平均距離法(UPGMA)により作成した。類似度95%以上のものを同一とみなし、型別を行った。

#### 3 SNPs 解析

散発事例全11株及び集団事例Bの1株、集団事例Cについては3株(C23002, 23005, 23018)を対象に、計15株解析を行った。

Maxwell RSC Viral Total Nucleic Acid Purification kit(プロメガ)で抽出したゲノムDNAを用いてQiaseq FX DNA Library Kit(Qiagen)によりライプラリー調製を行い、iSeq100(illumina)にて解析を行った。それにより得られたデータをMINTyper<sup>4)</sup> (Center for Genomic Epidemiology (<http://genomicepidemiology.org/services/>))を用いてSNPsを抽出し、系統樹解析を行った。なお、リファレンス配列として *S. Enteritidis* (RefSeq

\*: 現 健康福祉局食肉衛生検査所

表 2 使用した薬剤と判定表

感受性ディスク名	耐性(R) $\leq$ (mm)
アンピシリン(ABPC)	13
セフォタキシム(CTX)	22
ゲンタマイシン(GM)	12
カナマイシン(KM)	13
イミペネム(IPM)	19
ノルフロキサシン(NFLX)	12
シプロフロキサシン(CPFX)	15
ナリジクス酸(NA)	13
ST 合剤(SXT)	10
メロペネム(MEPM)	19
セフタジジム(CAZ)	17
ホスホマイシン(FOM)	10
クロラムフェニコール(CP)	12
セフォキシチン(CFX)	14
アミカシン(AMK)	14
ストレプトマイシン(SM)	11
テトラサイクリン(TC)	11
コリスチン(CL)	12

accession 番号:NC\_011294) を用いた。

## 結 果

### 1 薬剤感受性試験

ナリジクス酸については、A23001 と B22005 の 2 株が感受性で、それ以外の 29 株は全て耐性であった。その他の薬剤については全て感受性であった。

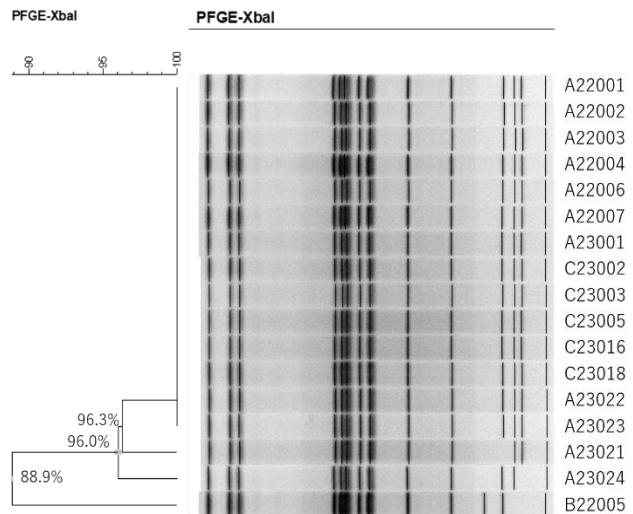


図 1 PFGE 解析結果

### 2 PFGE 解析

結果を図 1 に示す。B22005 以外の 16 株は類似度 96%以上と高い相同意を示した。類似度 95%以上の泳動パターンを同一とする型別を行うと、B22005 とそれ以外の 2 群に分けることができた。

### 3 SNPs 解析

MINTyper にて株間の SNPs の違いに基づき作成された系統樹を図 2 に示す。B22005 は他 14 株と 98~103SNPs、A23001 は他 14 株と 51~103SNPs であった。それ以外の 13 株は 7SNPs 以内であった。また、集団事例 C の 3 株と散発事例 A23021, A23022 の株については SNPs が 0 であった。

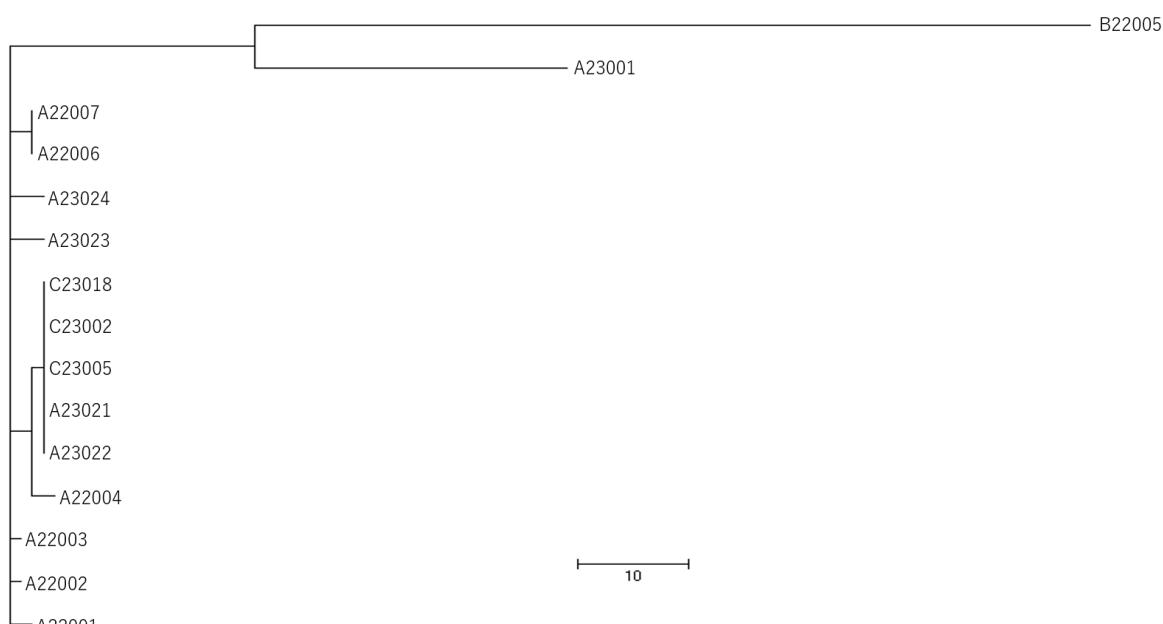


図 2 SNPs 解析結果

## 考 察

薬剤感受性試験では、ナリジクス酸の結果より A23001 と B22005, それ以外の菌株の 2 群に分けられた。また、PFGE 解析では、B22005 とそれ以外の菌株の 2 群に型別することができた。SNPs 解析においては、A23001 と B22005 とそれ以外の 3 群に分けられた。以上より、今回の疫学的解析では A23001 と B22005, それ以外の株の 3 群に型別することができた。B22005 株は他都市食中毒事例株であり、今回の疫学的解析結果と一致した。また、集団食中毒事例 C についても、今回解析を実施した 3 株について SNPs が 0 であり、食中毒の原因となった同一由来株である可能性が高いと考えられた。一方、A23021, A23022 について事例 C の株と SNPs が 0 であったが、PFGE 解析において A23021 は他の SNPs が 0 の株とバンドが完全には一致していなかった。これらの事例は喫食調査において関連性は不明であり、さらに SNPs 解析は可変領域やリードの精度が低いものについては除いて解析を行っていることから、これらの株を同一由来株とする判断は慎重に行うべきであると考える。

*Salmonella enterica*において、同事例株の SNPs が 4 以内であったという報告<sup>5)</sup>や、*S. Enteritidis*において変異頻度が 1 年間 1 ゲノム当たり 1.01SNPs という研究結果もある<sup>6)</sup>ことから、今回確認された SNPs が 7 以内の菌株については、変異頻度を考慮すると遺伝的に近縁と考えられ、広島市域において特定の *S. Enteritidis* 株が派生し流行している可能性が示唆された。

今回の調査では、2022 年～2023 年に分離された菌株について 3 群に型別することができた。また、喫食調査などで関連性が不明であった一部菌株について遺伝的に近縁であることが示唆された。しかし、SNPs 解析は SNPs の数について同事例や近縁株とみなす明確な基準がない上、解析手法としては比較的新しく、菌種によって変異頻度も異なるため、参考にできる先行研究も数が少ない。そこで今後も *S. Enteritidis* のデータを蓄積し、喫食調査やその

他の疫学的解析結果と比較しつつ結果の解釈について探っていく必要があると考えられる。また、今回使用した解析手法以外の方法でも解析を実施し、サルモネラ属菌における分子疫学解析に適した解析方法を模索していきたいと考えている。

## 文 献

- 1) 渡邊治雄 他：食中毒予防必携第 3 版、社団法人日本食品衛生協会、56～62(2013)
- 2) 農林水産省 HP：令和 2 年度市販鶏卵のサルモネラ汚染状況調査([https://www.maff.go.jp/j/syounan/seisaku/kekka/keiran/keiran\\_sal\\_06.html](https://www.maff.go.jp/j/syounan/seisaku/kekka/keiran/keiran_sal_06.html))
- 3) 四宮博人 他：全国地方衛生研究所において分離される薬剤耐性菌の情報収集体制の構築、厚生労働科学研究「食品由来薬剤耐性菌の発生動向及び衛生対策に関する研究」班平成 27 年度～29 年度分担(総合)研究報告書、31～63(2018)
- 4) Malte B Hallgren et al.: MINTyper: an outbreak-detection method for accurate and rapid SNP typing of clonal clusters with noisy long reads, Biology Methods and Protocols, 6(1), bpab008(2021)
- 5) S. Bekal et al.: Usefulness of high-quality core genome single-nucleotide variant analysis for subtyping the highly clonal and the most prevalent *Salmonella enterica* serovar Heidelberg clone in the context of outbreak investigations, J Clin Microbiol, 54, 289～295(2016)
- 6) Xiangyu Deng et al.: Genomic Epidemiology of *Salmonella enterica* Serotype Enteritidis based on Population Structure of Prevalent Lineages, EID Journal, 20, 1481～1489(2014)

## 広島市感染症発生動向調査事業における 細菌検出状況(2023年)

平岡 史帆 山本 泰子 古谷 玲子 青田 達明  
田内 敦子 山本 美和子

### はじめに

当所では感染症法に基づき、医療機関、保健所及び各区保健センターと連携して感染症発生動向調査事業を実施している。感染症法における全数把握対象疾患の患者菌株を収集し、血清学的試験や遺伝子検査等の疫学的解析を行うほか、定点把握対象疾患は、市内の病原体定点医療機関で患者から採取された検体について、細菌分離同定検査や遺伝子検査を実施している。また三類感染症については、感染症法第17条第1項に基づく接触者の細菌検査を実施し、分離された菌株の解析を行っている。

2023年に当所で実施した細菌感染症に係る検査結果について報告する。

### 方 法

#### 1 検査対象

全数把握対象疾患として、腸管出血性大腸菌感染症14事例の16検体(菌株14株及び糞便2検体)、カルバペネム耐性腸内細菌目細菌(CRE)感染症菌株12株、劇症型溶血性レンサ球菌感染症菌株6株、侵襲性肺炎球菌感染症菌株17株、バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)感染症菌株11株について検査を実施した。

定点把握対象疾患として、A群溶血性レンサ球菌咽頭炎、感染症胃腸炎等の患者から採取された咽頭拭い液、糞便等29検体について検査を実施した。

#### 2 腸管出血性大腸菌感染症

血清型別試験は免疫血清「生研」(デンカ)を用いた。抗血清で型別できなかった株については、PCR法によるO抗原、H抗原遺伝子型別を実施した<sup>1)</sup>。

毒素型別試験はDuopath<sup>®</sup> Verotoxins(MERCK)による毒素産生性の確認又は平成23年度国立保健医療科学院短期研修テキスト収載のmMK1, mMK2及びstx2fkプライマーを一部改変したプライマーを用いたPCR法でのベロ毒素遺伝子の検出により実施した。

薬剤感受性試験は、12種類の抗菌薬(アンピシリン(ABPC)、ストレプトマイシン(SM)、カナマイシン(KM)、テトラサイクリン(TC)、ナリジクス酸(NA)、クロラムフェニコール(CP)、グンタマイシン(GM)、

シプロフロキサシン(CPFX)、セフォタキシム(CTX)、ST合剤(SXT)、セフタジジム(CAZ)、ホスホマイシン(FOM))について、Sensi-Disc(BD)を用いたディスク拡散法により実施した。

0157, 026及び0111については、MLVA法<sup>2)</sup>による解析を行い、MLVAシステムヘリピート数等の情報を登録しMLVA typeの還元を受けた。また、全菌株を国立感染症研究所(感染研)に送付した。

#### 3 カルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症

感染研の病原体検出マニュアル<sup>3)</sup>等に準拠し、ディスク拡散法による $\beta$ -ラクタマーゼ産生性スクリーニング試験を行うとともに、PCR法によるカルバペネマーゼ遺伝子、ClassA  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子及びAmpC  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子の確認を行った。更にカルバペネマーゼ遺伝子については、塩基配列を解析し、遺伝子型を決定した。また、カルバペネマーゼ遺伝子が検出されなかった株については、CLSI M100-S27の方法<sup>4)</sup>に準拠し、modified Carbapenem Inactivation Method(mCIM法)を行い、カルバペネマーゼ産生性を確認した。

#### 4 劇症型溶血性レンサ球菌感染症

生化学的性状試験を行い、ストレプトLA NX「生研」(デンカ)によりLancefield群別試験を実施した。更に感染研において血清型別等の詳細な解析を実施した。

#### 5 侵襲性肺炎球菌感染症

生化学的性状試験を行い、米国疾病管理予防センター(CDC)が示す方法<sup>5)</sup>に準拠したマルチプレックスPCR法による遺伝子型別を実施した。

#### 6 バンコマイシン耐性腸球菌感染症

感染研の病原体検出マニュアル等<sup>6, 7)</sup>に準拠し、PCR法による菌種の同定、耐性遺伝子の検出及び薬剤感受性試験による耐性型の推定を行った。また、バンコマイシンに対する最小発育阻止濃度(MIC)を測定した。

#### 7 定点把握対象疾患

A群溶血性レンサ球菌咽頭炎の患者から採取された咽頭拭い液検体は、分離培養を行い *Streptococcus pyogenes*と同定された場合は、免疫血清「生研」(デンカ)を用いたT血清型別を実施

表1 腸管出血性大腸菌感染症分離菌株検査結果

事例番号	届出年月	患者年齢	症状	血清型(遺伝子型)	毒素型	薬剤耐性	感染研MLVA type	感染研MLVA complex
1	2023.1	5歳	無症状	026:H11	VT2	SM, TC	22m2113	22c209
	2023.1	3歳	無症状					
	2023.1	1歳	血便					
2	2023.3	28歳	腹痛, 水様性下痢	026:H11	VT1	ABPC	20m2121	23c201
3	2023.3	54歳	腹痛, 水様性下痢	026:H11	VT1	ABPC	17m2110	23c201
4	2023.3	60歳	腹痛, 水様性下痢, 血便, 発熱	026:H11	VT1	感性	17m2110	23c201
5	2023.3	71歳	腹痛, 下血	026:H11	VT1	感性	17m2110	23c201
6	2023.4	55歳	無症状	OUT:HUT (0gN33:Hg14)	VT1&2	感性	検査対象外	—
7	2023.6	15歳	腹痛, 水様性下痢, 血便, 発熱	0157:HUT(Hg7)	VT2	SM, TC, SXT	21m0028	—
8	2023.6	62歳	無症状	0103:H2	VT1	SM, KM, TC, CP, SXT	検査対象外	—
9	2023.7	35歳	腹痛, 水様性下痢, 血便, 発熱	0157:HUT(Hg7)	VT2	感性	23m0149	—
10	2023.8	26歳	腹痛, 水様性下痢, 血便, 発熱	0157:H7	VT2	SM, TC, CP, SXT	23m0242	23c012
11	2023.8	4歳	血便	0157:H7	VT1&2	感性	23m0333	—
12	2023.9	4歳	腹痛, 水様性下痢, 発熱	026:HUT(Hg11)	VT1	感性	23m2058	—
13	2023.12	9歳	腹痛, 水様性下痢, 血便, 発熱, 溶血性尿毒症症候群(HUS)	0157:HUT(Hg7)	VT1&2	ABPC	22m0160	—
14	2023.12	46歳	腹痛, 水様性下痢	0157:H7	VT2	感性	23m0363	23c055

UT:型別不能

した。

感染性胃腸炎等の患者から採取された糞便検体は、病原大腸菌、赤痢菌、チフス菌、パラチフスA菌、コレラ菌、腸炎ビブリオ、サルモネラ属菌及びカンピロバクター属菌を対象とした分離培養を実施した。下気道炎等の患者から採取された咽頭拭い液等検体は、百日咳菌及び肺炎マイコプラズマを対象とした遺伝子検査を実施した。細菌性髄膜炎の患者から採取された髄液検体は、溶血性レンサ球菌、黄色ブドウ球菌、大腸菌、リステリア及び肺炎マイコプラズマを対象とした遺伝子検査を実施するとともに、血液寒天培地を用いて分離培養を実施した。

## 結果

### 1 腸管出血性大腸菌感染症

表1に結果を示す。血清型(遺伝子型)及び毒素型は、026:H11 VT1が4株、026:H11 VT2が3株、0157:H7 VT2及び0157:HUT(Hg7) VT2が2株、0157:H7 VT1&2、0157:HUT(Hg7) VT1&2、026:HUT(Hg11) VT1、0103:H2 VT1及びOUT:HUT(0gN33:Hg14) VT1&2が各1株であった。

薬剤感受性試験の結果、SM、TC耐性及びABPC耐性が3株、SM、TC、SXT耐性、SM、KM、TC、CP、SXT耐性及びSM、TC、CP、SXT耐性が各1株であった。

MLVA法による解析では、家族内感染事例である

表2 カルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症分離菌株検査結果

事例番号	届出年月	届出医療機関	症状	分離材料	菌種	効果が確認された阻害剤	薬剤耐性遺伝子	mCIM
1	2023. 1	A	敗血症	血液	<i>K. aerogenes</i>	CVA, APB	検出せず	陰性
2	2023. 5	C	胆管炎、腹腔内感染	腹水胆汁	<i>K. pneumoniae</i>	CVA	<i>bla</i> <sub>CTX-M-1 group</sub> , <i>bla</i> <sub>TEM</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV</sub>	陰性
3	2023. 6	B	尿路感染症	尿	<i>E. cloacae</i>	APB	<i>bla</i> <sub>EBC family</sub>	陰性
4	2023. 6	C	菌血症, 胆管炎	血液	<i>K. aerogenes</i>	なし	検出せず	陰性
5	2023. 6	D	尿路感染症	尿	<i>E. coli</i>	SMA	<i>bla</i> <sub>NDM-5</sub> , <i>bla</i> <sub>TEM</sub>	実施せず
6	2023. 6	C	胆管炎	胆汁	<i>E. coli</i>	CVA	<i>bla</i> <sub>CTX-M-9 group</sub>	陰性
7	2023. 8	C	胆管炎	胆汁	<i>E. coli</i>	CVA	<i>bla</i> <sub>CTX-M-1 group</sub>	陰性
8	2023. 8	E	敗血症、胆のう胞内感染	血液	<i>K. pneumoniae</i>	SMA	<i>bla</i> <sub>IMP-6</sub> , <i>bla</i> <sub>SHV</sub> , <i>bla</i> <sub>CTX-M-2 group</sub>	実施せず
9	2023. 10	F	肺炎	喀痰	<i>K. aerogenes</i>	APB, MCIPC	検出せず	陰性
10	2023. 11	F	尿路感染症、敗血症	血液	<i>K. aerogenes</i>	APB, MCIPC	検出せず	陰性
11	2023. 11	F	胆囊炎	胆汁	<i>E. cloacae complex</i>	APB, MCIPC	検出せず	陰性
12	2023. 11	F	胆囊炎	血液	<i>E. cloacae complex</i>	APB, MCIPC	<i>bla</i> <sub>EBC family</sub>	陰性

CVA:クラブラン酸 APB:3-アミノフェニルボロン酸 SMA:メルカプト酢酸ナトリウム MCIPC:クロキサシリン

事例1の026 3株は22m2113とMLVA typeが一致した。また、事例3, 4及び5ではMLVA typeが17m2110と異なる3事例間で一致した。その他の事例ではMLVA typeの一致は認められなかった。

## 2 カルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症

表2に結果を示す。菌種の内訳は *Klebsiella*

*aerogenes* 4株, *Escherichia coli* 3株, *Enterobacter cloacae complex* 及び *Klebsiella pneumoniae* 各2株, *Enterobacter cloacae* 1株であった。このうち、事例5の *E. coli* からカルバペネマーゼ遺伝子である *bla*<sub>NDM-5</sub> 及び ClassA  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子である *bla*<sub>TEM</sub> が検出された。また、

表3 劇症型溶血性レンサ球菌感染症分離菌株検査結果

事例番号	届出年月	患者年齢	Lancefield群別	菌種	T血清型/M血清型	emm遺伝子型
1	2023. 3	81歳	G群	<i>S. dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>	—	<i>stG485. 0</i>
2	2023. 5	86歳	A群	<i>S. pyogenes</i>	T12/型別不能	<i>emm12. 0</i>
3	2023. 9	67歳	A群	<i>S. pyogenes</i>	T12/型別不能	<i>emm12. 0</i>
4	2023. 10	78歳	A群	<i>S. pyogenes</i>	T12/型別不能	<i>emm12. 0</i>
5	2023. 11	62歳	A群	<i>S. pyogenes</i>	T1/型別不能	<i>emm1. 0</i>
6	2023. 12	72歳	A群	<i>S. pyogenes</i>	T1/型別不能	<i>emm1. 0</i>

表4 侵襲性肺炎球菌感染症分離菌株検査結果

事例番号	届出年月	患者年齢	肺炎球菌ワクチン接種歴	遺伝子型
1	2023.1	71歳	不明	23A
2	2023.1	39歳	不明	23A
3	2023.3	44歳	不明	35B
4	2023.4	66歳	不明	15F/15A
5	2023.4	1歳	有:3回(13価結合型)	15B/15C
6	2023.4	45歳	有:不明	23B
7	2023.4	3歳	有:4回(13価結合型)	35B
8	2023.6	1歳	有:4回(13価結合型)	15F/15A
9	2023.6	3歳	有:4回(13価結合型)	15B/15C
10	2023.7	5歳	有:4回(13価結合型)	15B/15C
11	2023.9	42歳	無	3
12	2023.8	71歳	無	19A
13	2023.11	63歳	無	19A
14	2023.11	3歳	有:4回(13価結合型)	22F/22A
15	2023.11	91歳	不明	10A
16	2023.12	3歳	有:3回(種類不明)	35B
17	2023.12	80歳	不明	3

事例8の *K. pneumoniae* からはカルバペネマーゼ遺伝子である *bla<sub>IMP-6</sub>*, ClassA の基質拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼ(ESBL)遺伝子である *bla<sub>CTX-M-2</sub> group* 及び ClassA

$\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子である *bla<sub>SHV</sub>* が検出された。事例2の *K. pneumoniae* 及び事例7の *E. coli* から ESBL 遺伝子である *bla<sub>CTX-M-1</sub> group* が検出され、

表5 バンコマイシン耐性腸球菌感染症分離菌株検査結果

事例番号	届出年月	届出医療機関	症状	分離材料	菌種	耐性遺伝子	耐性型(表現型)	MIC(μg/mL)
1	2023.2	G	尿路感染症	尿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	VanA	>256
2	2023.3	H	腹膜内感染、術後膀胱漏	膿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	VanA	>256
3	2023.3	I	発熱、腸炎、菌血症	便	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	VanA	>256
4	2023.3	J	尿路感染症	尿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	VanA	>256
5	2023.4	K	発熱	腹水	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	VanA	>256
6	2023.7	L	発熱、感冒症状	喀痰	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	VanA	>256
7	2023.8	M	発熱	胆汁	<i>E. raffinosus</i>	<i>vanA</i>	VanA	>256
8	2023.11	N	発熱、尿路感染症	尿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	VanA	>256
9	2023.11	O	発熱、尿路感染症	尿	<i>E. faecalis</i>	<i>vanA</i>	VanA	>256
10	2023.11	O	発熱、尿路感染症	尿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	VanA	>256
11	2023.12	P	発熱、尿路感染症	尿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	VanA	>256

表 6 定点把握対象疾患分離菌株検査結果

検体受付年月	診断名	検体	分離菌	備考
2023.8	A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎	咽頭拭い液	<i>S. pyogenes</i>	T 血清型別不能

*K. pneumoniae* では更に *bla<sub>TEM</sub>* 及び *bla<sub>SHV</sub>* が検出された。事例 6 の *E. coli* からは ESBL 遺伝子である *bla<sub>CTX-M-9</sub> group* が検出され、事例 3 の *E. cloacae* 及び事例 12 の *E. cloacae complex* からは AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子である *bla<sub>EBC family</sub>* が検出された。一方で、*K. aerogenes* 及び事例 11 の *E. cloacae complex* からは β-ラクタマーゼ遺伝子は検出されなかった。カルバペネマーゼ遺伝子が検出された事例 5 の *E. coli* 及び事例 8 の *K. pneumoniae* を除く全ての菌株で mCIM 法を実施し、全株において陰性であった。

### 3 劇症型溶血性レンサ球菌感染症

表 3 に結果を示す。Lancefield 群別が A 群の *S. pyogenes* が 5 株、G 群の *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* (SDSE) が 1 株であった。A 群の T 血清型別は T12 が 3 株、T1 が 2 株であり、M 血清型は型別不能であった。また、菌体表層の M タンパクをコードする塩基配列を基にした遺伝子型別である *emm* 型は SDSE が *stG485.0* であり、その他 T12 3 株が *emm12.0*、T1 2 株が *emm1.0* であった。

### 4 侵襲性肺炎球菌感染症

表 4 に結果を示す。17 株の遺伝子型は、15B/15C 及び 35B が各 3 株、3, 15F/15A, 19A 及び 23A が各 2 株、10A, 22F/22A 及び 23B が各 1 株であった。

### 5 バンコマイシン耐性腸球菌感染症

表 5 に結果を示す。11 株のうち *Enterococcus faecium* が 9 株であり、*Enterococcus faecalis* 及び *Enterococcus raffinosus* が各 1 株であった。全ての株は耐性遺伝子として *vanA* を保有しており、いずれの菌株においても表現型は VanA 型、MIC 値は 256µg/mL より高値であった。

### 6 定点把握対象疾患

表 6 に結果を示す。A 群溶血性レンサ球菌咽頭炎の患者から採取された咽頭拭い液から、T 血清型が型別不能である *S. pyogenes* が分離された。

## まとめ

2023 年の全国における腸管出血性大腸菌血清型別検出割合は、0157 が 65.6% と最も多く、次いで 026 が 7.9% であった<sup>8)</sup>。一方で、本市においては 026 が 6 事例 8 検体、0157 が 6 事例 6 検体と、検

体数に対する血清型別の割合はそれぞれ 50% 及び 37.5% であった。また、OUT:HUT 株について遺伝子による型別を行ったところ、0gn33:Hg14 であった。

MLVA type 17m2110 は異なる 3 つの事例間で一致が認められたが、保健所が実施した喫食調査等による患者調査の結果、事例間での関連性は不明であった。感染研では、MLVA type が近縁であるものをまとめて MLVA complex として番号を付している。MLVA complex 22c209 は 2022 年から 2023 年にかけて全国で 74 株検出され、横浜市では生食用馬肉による食中毒由来株からも検出されている<sup>9)</sup>。家族内感染である事例 1 も 22c209 であったが、他都市及び食中毒事例との関連性は不明であった。

CRE 感染症分離菌株のうち、カルバペネマーゼ遺伝子を保有していたのは *E. coli* 及び *K. pneumoniae* 各 1 株であり、それぞれ NDM-5 及び IMP-6 であった。全国における海外型カルバペネマーゼ遺伝子である NDM 型の検出数は 2019 年から 2021 年の各年で 16~23 株であるが、海外渡航歴のない患者からの分離が増加していると報告されている<sup>10)~12)</sup>。本市では、過去 3 年間 NDM 型の検出はなく、また本事例は海外渡航歴のない患者からの分離であり、国内での感染が疑われるため今後の発生動向を注視する必要がある。

侵襲性肺炎球菌感染症分離菌株の届出数は、2021 年は 7 件、2022 年は 6 件であったが、2023 年は 2 倍以上となる 17 件の届出があった。新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) 流行時の 2020 年から 2021 年にかけて、全国的に罹患率が大きく減少したことが報告されている<sup>13), 14)</sup>。一方で、COVID-19 の五類感染症移行に伴う感染対策緩和による、侵襲性肺炎球菌感染症の罹患率及び死亡者数の増加が懸念されており<sup>14)</sup>、本市においても届出数に影響を及ぼした可能性が考えられる。また、8 件の事例についてワクチン接種が確認されているが、これらの患者から検出された菌株の遺伝子型はワクチンに含まれていない型であった。現行のワクチンに含まれない血清型による罹患者数増加が指摘されていることから、より多くの血清型を含む新たなワクチンの開発が行われている<sup>15)</sup>。

VRE 感染症は 2020 年から届出件数が増加してお

り、2023年も11株と多くの届出があった。また、平成29年厚生労働省通知(健感発0328第4号)による病原体サーベイランス開始以降初めて *E. faecalis* 及び *E. raffinosus* が検出された。全国におけるVREの内訳は、*E. faecium* が70~90%の割合を占めており、*E. faecalis* 及び *E. raffinosus* はそれぞれ3~7%及び0~1%程度である<sup>16)</sup>。2020年以降、本市で分離されたVREは全て *vanA* 遺伝子を保有する *E. faecium* であったが<sup>17)-19)</sup>、今回初めて *vanA* 遺伝子を保有する *E. faecalis* 及び *E. raffinosus* が分離された。*vanA* 遺伝子はプラスミド上に存在しており、プラスミドは水平伝播することが知られている<sup>20)</sup>。このことから菌種を超えて *vanA* 遺伝子が広がっている可能性も示唆された。VREの感染経路の把握及び感染拡大を防ぐため、今後はプラスミド解析等を用いたより詳細な解析を行う必要があると考えられる。

### 謝 辞

広島市感染症発生動向調査事業にご協力いただきました医療機関の関係各位に深謝いたします。

### 文 献

- 1) 国立感染症研究所 腸管出血性大腸菌(EHEC)検査・診断マニュアル 2022年10月版
- 2) Izumiya H et al.: New system for multilocus variable-number tandem repeat analysis of the enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains belonging to three major serogroups: 0157, 026, and 0111, *Microbiol Immunol*, 54, 569~577(2010)
- 3) 国立感染症研究所 病原体検出マニュアル「薬剤耐性菌 カルバペネム耐性腸内細菌目細菌」2020年6月版
- 4) CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, M100 27th, 37(1), 122~127(2017)
- 5) CDC: PCR Deduction of Pneumococcal Serotypes, <https://www.cdc.gov/strep-lab/php/pneumococcus/serotyping-using-pcr.html> (参照:2019.6.1)
- 6) 国立感染症研究所 病原体検出マニュアル「薬剤耐性菌 バンコマイシン耐性腸球菌」 2020年6月版
- 7) Nomura T et al.: New colony multiplex PCR assays for the detection and discrimination of vancomycin-resistant enterococcal species, *J Microbiol Methods*, 145, 69~72(2018)
- 8) 腸管出血性大腸菌感染症 2024年3月現在、病原微生物検出情報, 45(5), 71~73(2024)
- 9) 横浜市保健所 他: 腸管出血性大腸菌026:H11 22c209の広域発生事例について、病原微生物検出情報, 45(5), 75(2024)
- 10) 国立感染症研究所薬剤耐性研究センター他: カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(carbapenem-resistant Enterobacteriaceae:CRE)病原体サーベイランス, 2019年, 病原微生物検出情報, 42(6), 123~124(2021)
- 11) 国立感染症研究所薬剤耐性研究センター他: カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(carbapenem-resistant Enterobacteriaceae:CRE)病原体サーベイランス, 2020年, 病原微生物検出情報, 43(9), 215~216(2022)
- 12) 国立感染症研究所薬剤耐性研究センター他: カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(carbapenem-resistant Enterobacteriaceae:CRE)病原体サーベイランス, 2021年, 病原微生物検出情報, 44(8), 130~131(2023)
- 13) 菅秀 他: 小児侵襲性肺炎球菌感染症(IPD)の発生動向および起炎菌血清型変化の解析, 病原微生物検出情報, 44(1), 11~12(2023)
- 14) 富山県衛生研究所 他: 新型コロナウイルス感染症(COVID-19)流行後の成人侵襲性肺炎球菌感染症の血清型別罹患率と臨床像, 病原微生物検出情報, 44(1), 13~14(2023)
- 15) 新橋玲子: 肺炎球菌ワクチン, 臨床と微生物, 50(6), 49~53(2023)
- 16) 国立感染症研究所実地疫学研究センター他: 感染症法に基づくバンコマイシン耐性腸球菌(Vancomycin-resistant Enterococci: VRE)感染症の届出状況, 2021年
- 17) 青田達明 他: 2020年に広島市で分離されたバンコマイシン耐性腸球菌感染症由来菌

株の検査と分子疫学解析, 広島市衛生研究所年報, 40, 119~122 (2021)

18) 田内敦子 他: 広島市における細菌感染症の検査結果(2021年), 広島市衛生研究所年報, 41, 61~66 (2022)

19) 古谷玲子 他: 広島市感染症発生動向調査

事業における細菌検出状況(2022年), 広島市衛生研究所年報, 42, 89~94 (2023)

20) 富田治芳 他: バンコマイシン耐性腸球菌, 日本臨床微生物学雑誌, 24(3), 10 ~ 24 (2014)

## 2019 年から 2023 年までに広島市内で検出された バンコマイシン耐性腸球菌の分子疫学解析

青田 達明 平塚 貴大\* 山本 泰子 平岡 史帆  
古谷 玲子 田内 敦子 山本 美和子

### は じ め に

バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)感染症は、バンコマイシンに耐性を示す腸球菌を原因とする感染症であり、感染症法上の全数把握対象五類感染症に分類される。医療機関において患者から VRE が分離され届出基準を満たしていると判断した場合、医師は最寄りの保健所へ VRE 感染症患者の発生を届け出こととなっている。平成 29 年 3 月の厚生労働省通知(健感発 0328 第 4 号)では、VRE 感染症の届出があった場合、医療機関に対して患者検体等の提出を求め、試験検査の実施等に努めるよう示された。この通知に基づき、本市においても VRE 感染症発生時には遺伝子検出等の検査を実施している。また、VRE は院内感染の原因となる薬剤耐性菌であり、平成 26 年 12 月の厚生労働省通知(医政地発 1219 第 1 号)において、患者発生時は保菌も含めて 1 例目の発見をもって、アウトブレイクに準じた厳重な感染対策を実施するよう示されている。

本市における VRE 感染症の届出件数は、2019 年までは年間 0 又は 1 件であったが、2020 年以降は急増し、2020 年から 2023 年までの届出件数は累計 45 件に上った。このうち、2023 年は 11 件の届出があり、2022 年までの届出状況と同様に市内の複数医療機関からの患者発生であった。

今回、2023 年 4 月以降新たに収集した VRE 菌株 7 株を加え、2019 年から 2023 年までの 5 年間に収集した 45 株について、菌種同定及びバンコマイシン耐性遺伝子検出試験を実施するとともに、次世代シーケンサー(NGS)を用いた全ゲノム解析を実施し、菌株間の遺伝的関連性について詳細な解析を行ったので報告する。

### 方 法

#### 1 供試菌株

2019 年から 2023 年までの間に、市内 15 医療機関から届出があった VRE 感染症 46 件のうち、患者から分離された VRE 菌株 45 株を用いた。内訳は、

\* : 広島県立総合技術研究所保健環境センター

2019 年 1 株、2020 年 6 株、2021 年 16 株、2022 年 11 株、2023 年 11 株であった(表 1)。

#### 2 菌種同定及びバンコマイシン耐性遺伝子の検出

国立感染症研究所及び Nomura らの Multiplex PCR 法<sup>1), 2)</sup>を用いて、菌種特異的遺伝子の検出による菌種同定及びバンコマイシン耐性遺伝子の検出試験を実施した。鑄型 DNA の調製はアルカリ熱抽出法で行い、DNA 合成酵素は、TaKaRa Ex Taq® Hot Start Version(TaKaRa)を使用した。

#### 3 NGS による全ゲノム配列の取得

被検菌の抽出前処理として、ビーズによる菌体破碎を 2 時間実施し、1 時間のリゾチーム処理に続けて一晩のプロテナーゼ K 処理を実施した。ゲノム DNA は、Maxwell® RSC Viral Total Nucleic Acid Purification Kit(Promega)を用い、自動核酸精製装置 Maxwell® RSC 48(Promega)により抽出した。

ライプラリーの調製は、QIAseq FX DNA Library Kits(QIAGEN)を使用し、ゲノム DNA の断片化及びアダプター配列の付加を行った。ライプラリーの精製は、AMPure XP(Beckman Coulter)を用いた。PCR 法によるライプラリーの増幅後、アガロースゲル電気泳動によりサイズ分画、精製を行った。複数サンプルのライプラリーをプールし希釈したものをローディングサンプルとした。

シーケンス反応は iSeq™ 100 シーケンサーシステム(illumina)を使用し、全ゲノム配列情報を取得した。

#### 4 全ゲノムデータを用いた MLST 解析及び SNPs 解析

解析ソフトウェア Geneious Prime(Biomatters)を用いて、取得したリードデータを参照配列に対してアライメントし、各検体の全ゲノム配列を決定した。*Enterococcus faecium*の参照配列は、Accession No. CP059755 を使用した。決定した全ゲノム配列を用いて、Multi locus sequencing typing(MLST)法によるタイピング解析を実施した。Sequence Type(ST)の型別は、解析ウェブサイト PubMLST(<https://pubmlst.org/organisms/>)を用いた。

表 1 VRE 感染症届出概要及び分離菌株解析結果

No.	届出年/月	医療機関	年齢	分離材料	菌種	耐性遺伝子	ST	CC	菌株記号
1	2019/11	A	79 歳	ポートカテーテル	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	78	17	A-1
2	2020/7	B	92 歳	喀痰	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	B-1
3	2020/7	B	63 歳	腹水	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	B-2
4	2020/8	C	58 歳	尿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	C-1
5	2020/9	D	91 歳	尿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	D-1
6	2020/10	D	92 歳	尿, 便	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	D-2
7	2020/11	E	81 歳	胆汁	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	E-1
8	2021/4	F	48 歳	膿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	F-1
9	2021/4	D	79 歳	喀痰	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	D-3
10	2021/4	E	75 歳	膿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	E-2
11	2021/4	F	75 歳	喀痰	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	547	17	F-2
12	2021/5	A	77 歳	便	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	A-2
13	2021/6	A	87 歳	尿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	A-3
14	2021/6	F	74 歳	足壊疽部	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	F-3
15	2021/6	F	75 歳	尿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	203	17	F-4
16	2021/6	A	58 歳	腹水	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	A-4
17	2021/6	G	73 歳	尿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	G-1
18	2021/6	A	81 歳	血液, 便	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	A-5
19	2021/7	F	77 歳	喀痰	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	F-5
20	2021/7	F	88 歳	尿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	F-6
21	2021/8	H	74 歳	血液	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	H-1
22	2021/11	A	63 歳	胆汁	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	A-6
23	2021/12	E	67 歳	ドレーン先端	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	E-3
24	2022/1	F	91 歳	喀痰	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	F-7
25	2022/2	F	66 歳	喀痰	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	17	17	F-8
26	2022/2	A	60 歳	腹水	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	A-7
27	2022/6	J	72 歳	尿					検体無し
28	2022/6	F	58 歳	尿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	F-9
29	2022/6	I	74 歳	尿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	I-1
30	2022/7	E	76 歳	尿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	E-4
31	2022/7	E	84 歳	腹水	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	E-5
32	2022/8	I	98 歳	尿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	I-2
33	2022/8	B	77 歳	血液, 便	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	B-3
34	2022/8	J	88 歳	尿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	J-1
35	2022/9	I	77 歳	尿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	I-3
36	2023/2	K	74 歳	尿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	K-1
37	2023/3	B	76 歳	膿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	B-4
38	2023/3	G	88 歳	便	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	G-2
39	2023/3	L	77 歳	尿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	L-1
40	2023/4	B	73 歳	腹水	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	B-5
41	2023/7	F	65 歳	喀痰	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	547	17	F-10
42	2023/8	M	69 歳	胆汁	<i>E. raffinosus</i>	<i>vanA</i>			M-1

表 1 VRE 感染症届出概要及び分離菌株解析結果(続き)

No.	届出年/月	医療機関	年齢	分離材料	菌種	耐性遺伝子	ST	CC	菌株記号
43	2023/11	N	83 歳	尿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	N-1
44	2023/11	O	72 歳	尿	<i>E. faecalis</i>	<i>vanA</i>	4		0-1
45	2023/11	O	70 歳	尿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	547	17	0-2
46	2023/12	N	90 歳	尿	<i>E. faecium</i>	<i>vanA</i>	80	17	N-2

染色体ゲノム中の一塩基多型(SNPs)解析は、解析ウェブサイト Galaxy (<https://usegalaxy.org>) 内のツールを使用した。fastp<sup>3)</sup>を用いて FASTQ ファイルのクオリティチェック、アダプター配列の除去等の前処理を行った後、snippy<sup>4)</sup>により各検体と参照配列との比較作業を行い、塩基置換部位及び挿入・欠損部位の検出を行った。更に、snippy-core<sup>4)</sup>を用いて複数の検体の snippy 出力データから coreSNPs アライメントを作成し、それを参照配列へ反映させ各検体の完全長ゲノムのアライメントを作成した。この完全長ゲノムアライメントについて、他ツールとの互換性を上げるために、snippy-clean\_full\_aln<sup>4)</sup>を用いて処理を行った。得られたデータについて、Gubbins<sup>5)</sup>を使用し組換え領域の検出・除去を行った。組換え領域除去後の coreSNPs アライメントを基に、SNP distance matrix<sup>6)</sup>により各検体間の SNPs 数の総当たり表を作成した。

## 結 果

### 1 VRE 感染症の届出状況

15 医療機関のうち、患者発生が 1 回で収束したのは 5 医療機関(C, H, K, L, M)であった(図)。そ

の他の 10 医療機関では複数の患者が発生していた。

### 2 菌種同定及びバンコマイシン耐性遺伝子の検出

PCR 法による菌種同定及びバンコマイシン耐性遺伝子検出試験の結果、検出された菌種は 45 株中 43 株が *E. faecium* であり、*E. raffinosus* 及び *E. faecalis* がそれぞれ 1 株であった。また、全株からバンコマイシン耐性遺伝子である *vanA* が検出された(表 1)。

### 3 MLST 解析

*E. faecium* 43 株の ST の内訳は、ST80 が 37 株、ST547 が 3 株であり、ST17, ST78 及び ST203 がそれぞれ 1 株であった。これら 5 種類の ST は全て Clonal Complex(CC)17 に分類された。また、*E. faecalis* は ST4 に分類された(表 1)。

### 4 SNPs 解析

ST80 に分類された *E. faecium* 37 株の SNPs 解析の結果を、検体間の総当たり表で示した(表 2)。SNPs 数の最小は 0 箇所であり、異なる医療機関から分離された菌株同士においても SNPs 数が 0 箇所となる菌株が複数見られた。また、SNPs 数の最大は、27 箇所(I-2, K-1)であった。

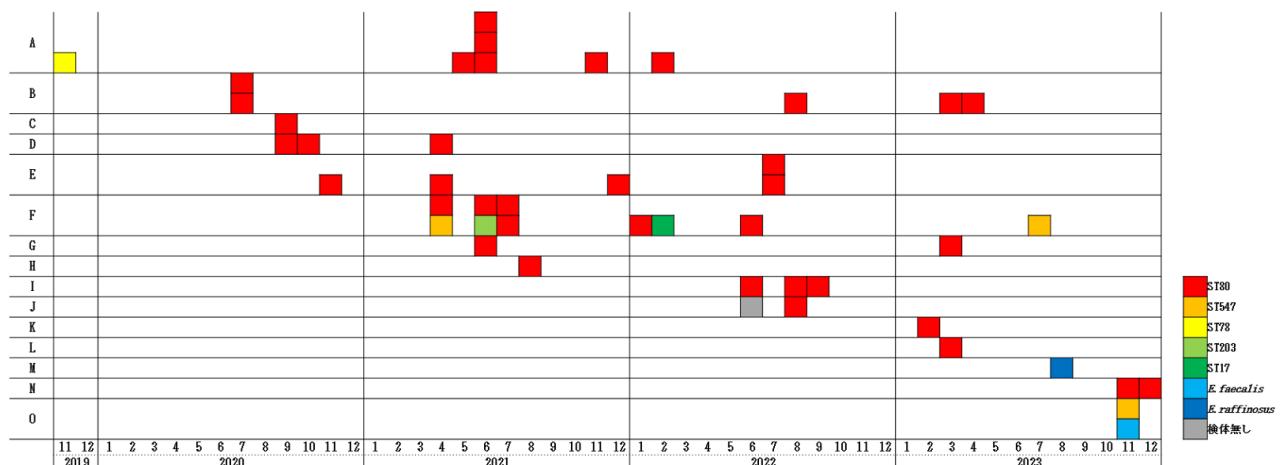


図 医療機関別 VRE 感染症届出件数推移

表2 *E. faecium* ST80 の SNPs 解析結果

	A-2	A-3	A-4	A-5	A-6	A-7	B-1	B-2	B-3	B-4	B-5	C-1	D-1	D-2	D-3	E-1	E-2	E-3	E-4	E-5	F-1	F-3	F-5	F-6	F-7	F-8	G-1	G-2	H-1	I-1	I-2	I-3	J-1	K-1	L-1	M-1	N-2		
A-2 (2021)	0	0	0	0	0	0	7	5	5	8	7	6	6	5	8	5	5	3	5	7	9	5	5	7	6	5	6	4	10	9	8	22	8	1	3	9	3	14	
A-3 (2021)	0	0	0	0	0	0	0	7	5	5	6	7	6	4	7	4	3	5	6	9	5	5	7	4	5	6	4	10	9	8	21	8	1	3	9	3	14		
A-4 (2021)	0	0	0	0	0	0	0	7	5	5	8	7	8	5	8	5	3	5	7	9	5	5	7	8	5	6	4	10	9	8	23	8	1	4	9	4	14		
A-5 (2021)	0	0	0	0	0	0	0	8	6	6	9	8	7	7	5	8	6	4	6	7	10	6	6	8	7	5	6	5	11	10	8	23	8	1	4	9	4	14	
A-6 (2021)	0	0	0	0	0	0	0	8	6	6	8	8	7	7	5	8	5	4	6	7	10	6	6	8	7	5	6	5	10	9	7	22	7	1	3	8	4	13	
A-7 (2022)	0	0	0	0	0	0	0	8	6	6	9	8	7	7	5	8	5	4	6	7	10	6	6	8	7	5	6	5	10	9	7	23	8	1	3	9	4	14	
B-1 (2020)	7	7	7	8	8	8	0	2	4	6	6	5	4	4	7	3	3	4	7	8	4	4	8	6	4	5	2	3	7	7	20	7	3	10	8	12	13		
B-2 (2020)	5	5	5	8	8	8	2	0	2	4	4	3	2	2	5	1	1	2	5	6	7	10	6	6	8	2	4	2	3	1	7	6	1	8	6	10	11		
B-3 (2022)	5	5	6	6	6	4	2	0	5	2	3	3	2	4	1	1	2	5	7	2	2	5	7	2	4	4	2	3	1	7	6	21	6	1	7	7	9	12	
B-4 (2023)	8	7	8	9	8	9	6	4	5	0	6	6	4	5	4	5	8	11	5	4	7	7	5	5	4	1	3	3	18	3	4	11	0	12	6				
B-5 (2023)	7	7	8	8	8	6	4	2	6	0	5	5	4	6	4	3	4	7	7	4	4	8	6	4	5	3	8	8	8	21	7	3	10	8	12	13			
C-1 (2020)	6	8	7	7	7	5	3	3	6	5	0	4	3	6	2	1	3	5	6	3	1	5	5	3	4	2	3	8	7	22	7	2	9	8	11	13			
D-1 (2020)	6	8	7	7	7	4	2	3	6	5	4	0	3	6	2	2	3	6	7	3	3	5	5	3	4	2	3	8	7	22	7	2	8	8	10	13			
D-2 (2020)	5	4	5	5	4	2	2	4	4	3	3	0	5	1	1	2	5	6	2	2	4	4	2	3	1	6	6	6	5	20	5	1	6	6	8	11			
D-3 (2021)	8	7	8	8	7	5	4	5	6	6	6	5	0	5	4	5	8	9	5	5	7	7	5	6	4	6	3	6	21	6	4	11	7	12	12				
E-1 (2020)	5	4	5	6	5	3	1	1	4	4	2	2	1	5	0	0	1	4	5	2	2	3	4	2	2	1	7	6	5	20	5	0	8	7	9	12			
E-2 (2021)	3	3	4	4	3	1	1	4	3	1	2	1	4	0	0	1	3	5	1	0	3	3	1	2	0	6	5	4	18	4	0	3	8	6	10				
E-3 (2021)	5	5	6	8	8	4	2	5	4	3	3	2	5	1	1	0	5	7	2	4	4	4	2	3	1	7	5	5	19	5	1	8	6	10	10				
E-4 (2022)	7	6	7	7	7	7	5	5	8	7	5	6	5	8	4	3	5	0	7	5	4	7	7	5	6	4	10	9	8	23	8	3	4	10	10	14			
E-5 (2022)	9	9	10	10	10	8	6	7	7	11	7	6	9	5	5	7	0	6	7	8	7	8	6	6	5	11	14	8	23	8	5	12	11	14	14				
F-1 (2021)	5	5	6	6	6	4	2	2	5	4	3	3	2	5	2	1	2	5	6	0	2	4	4	2	3	1	7	6	6	21	6	1	8	7	10	12			
F-2 (2021)	5	5	6	8	8	4	2	5	4	3	3	2	5	1	0	5	7	2	4	4	4	2	3	1	6	6	6	5	20	6	1	7	6	9	11				
F-3 (2021)	5	5	6	8	8	4	2	5	4	3	3	2	5	2	0	2	4	7	2	0	4	4	2	3	1	6	6	6	21	6	1	8	7	10	15				
F-5 (2021)	7	7	8	8	8	6	4	4	7	8	5	5	4	7	3	3	4	7	8	4	4	7	8	4	0	6	4	5	3	9	7	3	22	8	3	9	9	12	14
F-6 (2021)	6	7	6	7	7	6	4	4	7	6	5	5	4	7	4	3	4	7	8	4	4	8	4	0	6	4	5	3	9	8	3	22	8	3	9	9	11	14	
F-7 (2022)	5	4	5	5	4	2	2	5	4	3	3	2	5	2	1	2	5	6	2	2	4	4	0	3	1	7	5	6	20	6	1	7	6	9	11				
F-9 (2022)	6	5	6	8	8	5	3	3	5	5	4	4	3	6	2	2	3	6	6	3	3	5	5	3	0	2	7	7	5	19	5	2	8	7	9	10			
G-1 (2021)	4	4	5	5	5	2	0	1	4	3	2	1	4	1	0	1	4	5	1	1	3	3	1	2	0	6	5	5	20	5	0	7	6	9	11				
G-2 (2023)	10	9	10	9	10	8	6	7	1	8	3	8	6	7	6	7	6	7	10	11	7	6	9	9	7	7	6	0	5	3	18	3	6	13	1	14	5		
H-1 (2021)	9	9	10	9	10	7	5	6	3	8	7	6	3	6	5	5	4	3	6	7	6	6	7	5	7	5	7	7	0	11	0	5	11	3	11	10			
I-1 (2022)	8	6	8	8	7	8	7	5	6	3	6	7	7	5	6	5	4	5	8	8	6	6	8	8	6	5	5	3	7	0	11	0	5	11	3	11	10		
I-2 (2022)	22	20	21	23	22	23	20	19	21	18	21	22	20	21	20	18	19	23	21	21	22	22	20	19	20	18	22	11	0	11	20	27	19	28	25				
I-3 (2022)	8	6	8	8	7	8	7	5	6	3	7	7	5	6	5	4	5	8	6	6	8	6	8	6	5	5	3	7	0	11	0	5	12	3	11	10			
J-1 (2022)	1	0	1	1	1	1	3	1	1	4	3	2	2	1	4	0	0	1	4	5	1	1	3	3	1	2	0	6	5	5	20	5	0	5	6	5	11		
K-1 (2023)	3	3	3	4	3	3	10	8	7	11	10	9	8	6	11	8	3	8	10	12	8	8	9	9	7	8	7	13	12	11	27	12	5	0	12	1	18		
L-1 (2023)	9	7	9	9	8	9	3	8	6	7	0	8	3	8	6	7	6	8	10	11	7	6	9	9	6	7	6	1	2	3	19	3	6	12	0	11	5		
M-1 (2023)	3	4	3	4	4	4	12	10	9	12	11	10	8	12	9	8	10	11	14	10	12	11	9	9	9	14	11	11	26	11	5	1	11	0	17				
N-2 (2023)	14	12	14	13	14	13	11	12	6	13	13	11	12	10	10	14	14	12	15	14	11	10	11	5	7	10	25	10	11	18	5	17	0						

網掛け付のSNPs数が17箇所以上

## 考 察

2019 年以降本市では毎年 VRE 感染症患者が発生している。2023 年も 11 件と多くの届出があり、複数の医療機関で患者が発生していることから、本市において VRE の流行が継続している状況が窺えた<sup>7)</sup>。解析した 45 株のうち 43 株が *E. faecium* であり、MLST 解析では 37 株が ST80 に分類された。2023 年に分離された 11 株のうち 7 株も ST80 であったことから、ST80 の流行が継続していることが示唆された。

ST80 について、ゲノム上の塩基置換箇所を検出する解析法である SNPs 解析を実施した結果、同一医療機関からの分離菌株だけではなく、異なる医療機関からの分離菌株同士でも SNPs 数が 0 箇所となつた。SNPs 数と菌株間の関連性については、全ての菌種に一律で適用出来る基準値は無く、また、菌種ごとの基準値も明確には決められていないのが現状である。一方で、*E. faecium* においては、菌株間の関連性があるとみなされる SNPs 数は 16 箇所以下とする報告<sup>8)</sup>もあることから、本市で分離された ST80 の多くが、互いに関連性があることが示唆された。しかし、SNPs 解析の結果のみで菌株間の関連性を議論することは、結果の誤った解釈に繋がる恐れがある。SNPs 解析を含む分子疫学解析の結果は、丁寧な疫学調査から得られた患者情報と突き合わせ、疫学調査の結果を補完する材料として使用することが望ましいと考えられる。

*E. faecium* については、ST80 に分類された 37 株の他、ST547, ST17, ST7, ST203 が分離されている。更に、2023 年は異なる菌種である *E. faecalis* 及び *E. raffinosus* も分離された。一方で、これら 45 株の VRE が保有するバンコマイシン耐性遺伝子は全て *vanA* であった。*vanA* は伝達性プラスミド上に存在し、菌と菌との接合により水平伝達をすることが報告されている<sup>9)</sup>。伝達性プラスミドを介し菌種や ST を越えた *vanA* の水平伝達が起こると、菌種を同定するだけでは感染の拡がりを捉えられなくなり、院内感染経路の解明や感染対策がより困難となる。Segawa らの報告<sup>10)</sup>において、2021 年までに本市及び周辺自治体の医療機関において分離された VRE 菌株の一部は、同一骨格を有するプラスミド上に *vanA* を保有していることが明らかとなった。同一由来株の拡散とともに、*vanA* が組み込まれたプラスミドの水平伝達が示唆されることから、*E. faecium* だけでなく *E. faecalis* 及び *E. raffinosus* を含め、詳細なプラスミド解析を実施する必要

があると考えられる。

薬剤耐性は世界的に深刻な健康上の脅威として、WHO や G7 等でも重要な課題として取り上げられている<sup>11), 12)</sup>。我が国においても、2016 年に初めて薬剤耐性(AMR)対策アクションプランが策定され、政府一体となって薬剤耐性対策に取り組んでいる。新たに発表された薬剤耐性(AMR)対策アクションプラン(2023-2027)<sup>13)</sup>では、ヒトに関する微生物の薬剤耐性率の項目で初めて VRE の成果指標が定められ、2027 年の VRE 感染症の罹患数を 80 人以下に維持することが掲げられた。この目標値を維持するためには、本市を含む医療圏内での VRE のまん延を抑え込み、発生件数を 2019 年以前の水準に戻す必要がある。VRE は保菌していても通常は無症状であるため、積極的に検査を実施しなければ、保菌者の早期発見は難しい。患者周辺の保菌者の存在も想定し、標準予防策や手指衛生の徹底を始めとした接触予防策等の院内感染対策が求められる。また、医療機関同士の連携も重要であり、転院時等は患者からの VRE の検出状況を共有するといった対応も必要と考えられる。更に、入退院や転院に伴う患者の移動は、自治体の枠を越えて行われることも多い。自治体間の協力も重要な対策のひとつであり、患者発生状況の共有や、医療機関への定期的な情報還元等で自治体の枠組みを越えた対応を図る必要がある。VRE の流行を終息させるため、医療機関と行政が互いに協力して対策を講じなければならない。

## 文 献

- 1) 国立感染症研究所薬剤耐性研究センター第一室：病原体検出マニュアル薬剤耐性菌令和 2 年 6 月改訂版 Ver2.0
- 2) Nomura T et al. : New colony multiplex PCR assays for the detection and discrimination of vancomycin-resistant enterococcal species, J Microbiol Methods, 145, 69~72 (2018)
- 3) Chen S et al. : Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor, Bioinformatics, 34(17), i884~890 (2018)
- 4) Seemann T: <https://github.com/tseemann/snippy>
- 5) Croucher NJ: Rapid phylogenetic analysis of large samples of recombinant bacterial whole genome sequences

using Gubbins, Nucleic Acids Research, 43(3), e15 (2015)

6) Seemann T: <https://github.com/tseemann/snp-dists>

7) 青田達明 他: 広島市内で検出されたバンコマイシン耐性腸球菌の分子疫学解析, 広島市衛研年報, 42, 83~88 (2023)

8) Schürch AC et al.: Whole genome sequencing options for bacterial strain typing and epidemiologic analysis based on single nucleotide polymorphism versus gene-by-gene based approaches, Clinical Microbiology and Infection, 24, 350~354 (2018)

9) 富田治芳 他: バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE), 第5回薬剤耐性制御のための教育セミナー資料集, 108~121 (2016)

10) Segawa T et al.: Genomic analysis of inter-hospital transmission of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* sequence type 80 isolated during an outbreak in Hiroshima, Japan, Antimicrob Agents Chemother, 68(5), e01716~23 (2024)

11) World Health Organization: <https://www.who.int/news-room/spotlight/10-global-health-issues-to-track-in-2021>

12) Group of Seven: G7 Hiroshima Leaders' Communiqué, 1~40 (2023)

13) 国際的に脅威となる感染症対策の強化のための国際連携等関係閣僚会議: 薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプラン (2023-2027), 1~95 (2023)

## 広島市感染症発生動向調査事業における ウイルス検出状況(2023年)

宇野 拓也 増 朋実\* 山木戸 聰 児森 清香  
川原 康嗣 山本 美和子

### はじめに

感染症発生動向調査事業の目的は、「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」に規定する感染症の発生動向に関する情報を迅速に収集、分析及び提供・公開していくことにより、予防、医療、研究等において的確な感染症対策を確立することにある<sup>1)</sup>。そこで、2023年の広島市感染症発生動向調査の病原体検索結果についてまとめたので報告する。

### 方 法

2023年1月から12月までに病原体定点医療機関を受診した患者237人から採取した咽頭拭い液、糞便、髄液、尿等296検体を検査材料として用いた。

ウイルス分離は細胞培養法で行い、細胞はHEp-2, RD-A, Vero, A549を用いた。ただし、インフルエンザウイルスの分離についてはMDCKを使用した。分離されたウイルスは中和試験により血清型を同定し、難中和株はシークエンスにより遺伝子型を決定した。また、細胞培養法では分離できないウイルスも存在するため、必要に応じてPCR検査を併用して実施した。さらに、胃腸炎等の消化器疾患患者から採取された糞便のウイルス検査では、イムノクロマト法も追加して実施した。

### 結 果

#### 1 月別検出状況

2023年の月別ウイルス検出数を表1に示した。患者237人の検査を実施し、116人から134株のウイルスが検出された。検出された主なウイルスの内訳は、インフルエンザウイルスA(H3)型が16株と最も多く、7月及び8月にも1株ずつ検出された。次いでアデノウイルス3型が8月から12月にかけて14株、アデノウイルス56型が7月から11月にかけて12株、ライノウイルスが5月から11月にかけて10株検出された。

#### 2 臨床診断名別検出数

臨床診断名別ウイルス検出数を表2に示した。以

下に主な臨床診断名について検出数を記す。

##### (1) インフルエンザ

26人の患者から採取された検体を検査し、26人から31株のウイルスが検出された。その主な内訳は、インフルエンザウイルスA(H3)型が16株、インフルエンザウイルスA(H1N1)pdm09型が4株、ライノウイルスが3株、ヒトメタニューモウイルス、アデノウイルス3型が各2株であった。

##### (2) 咽頭結膜熱

1人の患者から採取された検体を検査し、1株のアデノウイルス3型が検出された。

##### (3) 感染性胃腸炎

16人の患者から採取された検体を検査し、9人から10株のウイルスが検出された。その内訳は、アデノウイルス1型、同2型が各2株、コクサッキーウイルスB5型、エコーウイルス25型、サポウイルス、ノロウイルスGII、アストロウイルス、ヒトヘルペスウイルス7型が各1株であった。

##### (4) 手足口病

4人の患者から採取された検体を検査し、4人から5株のウイルスが検出された。その内訳は、エンテロウイルス71型が2株、コクサッキーウイルスA10型、同A16型、RSウイルスが各1株であった。

##### (5) ヘルパンギーナ

6人の患者から採取された検体を検査し、6人から7株のウイルスが検出された。その内訳は、コクサッキーウイルスA2型が4株、コクサッキーウイルスB2型、エンテロウイルス71型、アデノウイルス3型が各1株であった。

##### (6) 流行性角結膜炎

118人の患者から採取された検体を検査し、40人から40株のウイルスが検出された。その主な内訳は、アデノウイルス56型が12株、アデノウイルス37型が9株、アデノウイルス3型が8株、アデノウイルス54型、同64型が各3株であった。

##### (7) 無菌性髄膜炎

7人の患者から採取された検体を検査し、3人から3株のウイルスが検出された。その内訳は、コクサッキーウイルスB5型が2株、コクサッキーウィ

\* : 現 健康福祉局保健部環境衛生課

表1 月別ウイルス検出数

検出病原体	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	計
	月	月	月	月	月	月	月	月	月	月	月	月	
コクサッキーウイルス A2 型					1	2	2						5
コクサッキーウイルス A10 型												1	1
コクサッキーウイルス A16 型		1											1
コクサッキーウイルス B2 型										1	1	1	2
コクサッキーウイルス B5 型						1	3	1					5
エコーウイルス 25 型								1					1
エンテロウイルス 71 型						2				1			3
ライノウイルス					3	3	1	1	1		1		10
パレコウイルス(未型別)									1				1
パレコウイルス 1 型										2			2
パレコウイルス 3 型									2				2
インフルエンザウイルス A(H1N1) pdm09 型									1		2	1	4
インフルエンザウイルス A(H3)型	3	2	2	2	2		1	1		1	2		16
インフルエンザウイルス B 型			1										1
パラインフルエンザウイルス 3 型						2	2						4
RS ウイルス			1	1	1	3							6
ヒトメタニューモウイルス								1			1		2
ヒトコロナウイルス HKU1						1							1
サポウイルス											1	1	
ノロウイルス G II	1					1							2
アストロウイルス						1					1		2
アデノウイルス 1 型				1		1			1				3
アデノウイルス 2 型	1					1					1	1	3
アデノウイルス 3 型								2		2	2	8	14
アデノウイルス 5 型						1							1
アデノウイルス 6 型					1								1
アデノウイルス 8 型										1	1		2
アデノウイルス 37 型	1				1	1		5			1		9
アデノウイルス 53 型		1	1										2
アデノウイルス 54 型								1			1	1	3
アデノウイルス 56 型								1	2		2	7	12
アデノウイルス 64 型								3					3
ヒトボカウイルス						2							2
EB ウイルス								1					1
ヒトヘルペスウイルス 6 型	1					1			1		1		4
ヒトヘルペスウイルス 7 型	1										1		2
計	9	3	5	6	18	14	16	11	9	8	20	15	134
陽性患者数	9	3	5	6	10	11	15	11	7	8	18	13	116
検査患者数	17	15	11	11	24	20	24	25	15	23	31	21	237

表2 臨床診断名別ウイルス検出数

検出病原体	インフルエンザ	咽頭結膜熱	感染性胃腸炎	A群溶連菌咽頭炎	手足口病	ヘルパンギーナ	流行性角結膜炎	細菌性結膜炎	無菌性結膜炎	RSウイルス感染症	流行性耳下腺炎	突発性発しん	他の発疹性疾患	他の消化器疾患	他の神経系疾患	他の呼吸器疾患	その他の疾患	計
																		5
コクサッキーウイルス A2型													1					5
コクサッキーウイルス A10型							1											1
コクサッキーウイルス A16型							1											1
コクサッキーウイルス B2型								1		1								2
コクサッキーウイルス B5型	1		1							2			1					5
エコーウイルス 25型					1													1
エンテロウイルス 71型							2	1										3
ライノウイルス		3											6		1			10
パレコウイルス(未型別)																		1
パレコウイルス 1型													1	1				2
パレコウイルス 3型																		2
インフルエンザウイルス A(H1N1)pdm09型	4																	4
インフルエンザウイルス A(H3)型	16																	16
インフルエンザウイルス B型	1																	1
パラインフルエンザウイルス 3型													4					4
RSウイルス	1					1					2		2					6
ヒトメタニューモウイルス	2																	2
ヒトコロナウイルス HKU1													1					1
サポウイルス		1																1
ノロウイルス GII			1										1					2
アストロウイルス	1		1															2
アデノウイルス 1型		2					1											3
アデノウイルス 2型		2											1					3
アデノウイルス 3型	2	1				1	8						1					14
アデノウイルス 5型													1					1
アデノウイルス 6型													1					1
アデノウイルス 8型							2											2
アデノウイルス 37型							9											9
アデノウイルス 53型							2											2
アデノウイルス 54型							3											3
アデノウイルス 56型							12											12
アデノウイルス 64型							3											3
ヒトボカウイルス													2					2
EBウイルス													1					1
ヒトヘルペスウイルス 6型												1	1		1	1		4
ヒトヘルペスウイルス 7型				1											1			2
計	31	1	10	0	5	7	40	0	3	2	0	1	20	6	2	1	5	134
陽性患者数	26	1	9	0	4	6	40	0	3	2	0	1	12	5	2	1	4	116
検査患者数	26	1	16	3	4	6	118	1	7	3	2	1	13	11	7	3	15	237

表3 検体別ウイルス検出数

検出病原体	咽頭拭い液	糞便	結膜拭い液	唾液	尿	その他	計
コクサッキーウイルス A2 型	5						5
コクサッキーウイルス A10 型	1						1
コクサッキーウイルス A16 型	1						1
コクサッキーウイルス B2 型	1			1			2
コクサッキーウイルス B5 型	4	3		2	2		11
エコーウイルス 25 型		1					1
エンテロウイルス 71 型	3						3
ライノウイルス	10						10
パレコウイルス(未型別)		1					1
パレコウイルス 1 型	1	1					2
パレコウイルス 3 型	2						2
インフルエンザウイルス A(H1N1)pdm09 型	4						4
インフルエンザウイルス A(H3)型	16						16
インフルエンザウイルス B 型	1						1
パラインフルエンザウイルス 3 型	4					1	5
RS ウイルス	6						6
ヒトメタニューモウイルス	2						2
ヒトコロナウイルス HKU1	1						1
サボウイルス		1					1
ノロウイルス G II		2					2
アストロウイルス		2					2
アデノウイルス 1 型		2	1				3
アデノウイルス 2 型		3					3
アデノウイルス 3 型	6		8				14
アデノウイルス 5 型		1					1
アデノウイルス 6 型		1					1
アデノウイルス 8 型			2				2
アデノウイルス 37 型			9				9
アデノウイルス 53 型			2				2
アデノウイルス 54 型			3				3
アデノウイルス 56 型			12				12
アデノウイルス 64 型			3				3
ヒトボカウイルス	2						2
EB ウイルス	1						1
ヒトヘルペスウイルス 6 型	3					1	4
ヒトヘルペスウイルス 7 型	2						2
計	76	18	40	3	2	2	141
陽性検体数	62	16	40	3	2	2	125
検査検体数	91	43	119	22	18	3	296

ルス B2 型が 1 株であった。

#### (8) RS ウィルス感染症

3 人の患者から採取された検体を検査し, 2 人から 2 株の RS ウィルスが検出された。

#### (9) 突発性発しん

1 人の患者から採取された検体を検査し, 1 株のヒトヘルペスウィルス 6 型が検出された。

### 3 検体別検出数

検体別ウィルス検出数を表 3 に示した。

#### (1) 咽頭拭い液

検査した 91 検体のうち, 62 検体から 76 株のウィルスが検出された。その主な内訳は, インフルエンザウィルス A(H3)型が 16 株, ライノウィルスが 10 株, RS ウィルス, アデノウィルス 3 型が各 6 株, コクサッキーウィルス A2 型が 5 株, コクサッキーウィルス B5 型, インフルエンザウィルス A(H1N1)pdm09 型, パラインフルエンザウィルス 3 型が各 4 株であった。

#### (2) 粪便

検査した 43 検体のうち, 16 検体から 18 株のウィルスが検出された。その内訳は, コクサッキーウィルス B5 型, アデノウィルス 2 型が各 3 株, ノロウイルス GII, アストロウイルス, アデノウィルス 1 型が各 2 株, エコーウィルス 25 型, パレコウイルス(未型別), 同 1 型, サポウイルス, アデノウィルス 5 型, 同 6 型が各 1 株であった。

#### (3) 結膜拭い液

検査した 119 検体のうち, 40 検体から 40 株のウィルスが検出された。その内訳は, アデノウィルス 56 型が 12 株, アデノウィルス 37 型が 9 株, アデノウィルス 3 型が 8 株, アデノウィルス 54 型, 同 64 型が各 3 株, アデノウィルス 8 型, 同 53 型が各 2 株, アデノウィルス 1 型が 1 株であった。

#### (4) 隆液

検査した 22 検体のうち, 3 検体から 3 株のウィルスが検出された。その内訳は, コクサッキーウィルス B5 型が 2 株, コクサッキーウィルス B2 型が 1 株であった。

### 考

### 察

新型コロナウイルス感染症の影響で医療機関からの検体搬入数が減少していたが, 2023 年 5 月に新型コロナウイルス感染症が 5 類感染症に移行し, 検体搬入数が増加したため, 検査検体数が昨年(211 件)と比べて 296 件と増加した。

表 1 及び 2 のとおり, インフルエンザウィルス A(H3)型が最も多く検出され, 全体の検出数の約 1 割を占めていた。インフルエンザウィルスは例年冬季に多く検出されるが, 2023 年は 7 月及び 8 月にも検出され, 例年とは異なる傾向を示しており, 全国の流行状況と一致していた<sup>2)</sup>。また, アデノウィルス 3 型は, 8 月以降流行性角結膜炎や咽頭結膜熱等の患者から検出されており, 全国的にも同様の状況が見られた<sup>3)</sup>。2021 年, 2022 年には本市で検出されておらず<sup>4)</sup>, 流行の拡大が懸念される。

引き続き感染症の発生動向を注視し, ウィルス検出状況や流行時期の変化等を迅速かつ適切に把握していく必要がある。

### 謝 詞

広島市感染症発生動向調査事業に御協力いただきました医療機関の関係各位に深謝いたします。

### 文 献

- 1) 広島市感染症発生動向調査事業実施要綱
- 2) 国立感染症研究所 : インフルエンザウィルス分離・検出報告数 シーズン比較 2016/17~2023/24 シーズン  
[https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/rapid/inf3/2024\\_2w/in1j\\_240513.gif](https://www.niid.go.jp/niid/images/iasr/rapid/inf3/2024_2w/in1j_240513.gif)
- 3) 国立感染症研究所 : IASR 速報グラフ ウィルス アデノ  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/typhi-m/iasr-reference/510-graphs/1535-iasrgv-adeno.html>
- 4) 広島市 : 広島市感染症情報センター, 病原体検出情報, 年次別検出数  
<https://www.city.hiroshima.lg.jp/site/in-fectious-disease-byogen/>

## 流行性角結膜炎患者からのヒトアデノウイルス 新規リコンビナント株の検出

山木戸 聰 埴 朋実<sup>1</sup> 宇野 拓也 児森 清香  
川原 康嗣 山本 美和子 花岡 希<sup>2</sup>

### は じ め に

ヒトアデノウイルス(HAdV)はAからGの7種に分類され、現在110以上の型の報告がある。51型までは血清型として報告してきたが、HAdVは同種の異なる型との間で遺伝子組換体(リコンビナント)を生じることが知られており、52型以降については全塩基配列の決定により遺伝型として報告されている<sup>1)</sup>。

流行性角結膜炎(EKC)は、HAdVのうちD種の感染を主な原因とする眼感染症で、1~2週間の潜伏期の後、結膜の浮腫、充血、眼瞼浮腫、流涙、眼脂等の症状を呈する。

この度、感染症法に基づく感染症発生動向調査で採取された検体から、HAdV新規リコンビナント株が分離されたので報告する。

### 方 法

#### 1 材料

本市の眼科定点医療機関により令和5年12月に採取されたEKC患者の結膜拭い液1検体について解析を実施した。

#### 2 ウィルス分離及び中和試験

国立感染症研究所の病原体検出マニュアル<sup>2)</sup>(以

下マニュアル)に従い、検体をA549細胞に接種し、初回接種から2回の継代後、細胞変性効果(CPE)を確認して回収し分離株とした。得られた分離株について、HAdV中和用抗血清(デンカ)を用いて中和試験を実施した。

#### 3 3領域における部分塩基配列解析

分離株からDNAを抽出し、マニュアルに準じて、HAdVの主要な構造タンパクをコードするペントンベース(P)、ヘキソン(H)、ファイバー(F)の3領域についてダイレクトシーケンスにより部分塩基配列を決定した。各領域の部分塩基配列について、マニュアルに記載の参照株に対してMEGA11<sup>3)</sup>を用いた相同性解析を実施した。

#### 4 全ゲノム解析

抽出DNAについてQIAseq FX DNA library kit(Qiagen)を用いてライブライアリを調製し、iSeq 100(Illumina)でシーケンシングを実施した。出力されたリードデータについては、Geneious Prime(Biomatters)を用いてトリミング及びde novoアセンブリを行った。得られたウイルスの全ゲノム配列について、各領域での参照株との相同性を可視化するため、Simplot++<sup>4)</sup>による解析を実施した。

表 HAdV各領域の部分塩基配列における相同性

ペントンベース領域		ヘキソン領域		ファイバー領域	
型	Accession No.	型	Accession No.	型	Accession No.
64型 (99.7%, 1052塩基)	EF121005	8型 (99.9%, 830塩基)	AB448769	53型 (100%, 988塩基)	FJ169625
109型 (98.0%, 1061塩基)	OM830314	24型 (83.5%, 838塩基)	JN226751	85型 (100%, 988塩基)	LC314153
42型 (97.2%, 1062塩基)	JN226761	44型 (82.5%, 833塩基)	JN226763	8型 (99.8%, 988塩基)	AB448769
22型 (97.1%, 1062塩基)	FJ404771	53型 (82.2%, 830塩基)	FJ169625	54型 (96.8%, 988塩基)	AB333801

\*1：現 健康福祉局保健部環境衛生課

\*2：国立感染症研究所感染症危機管理研究センター

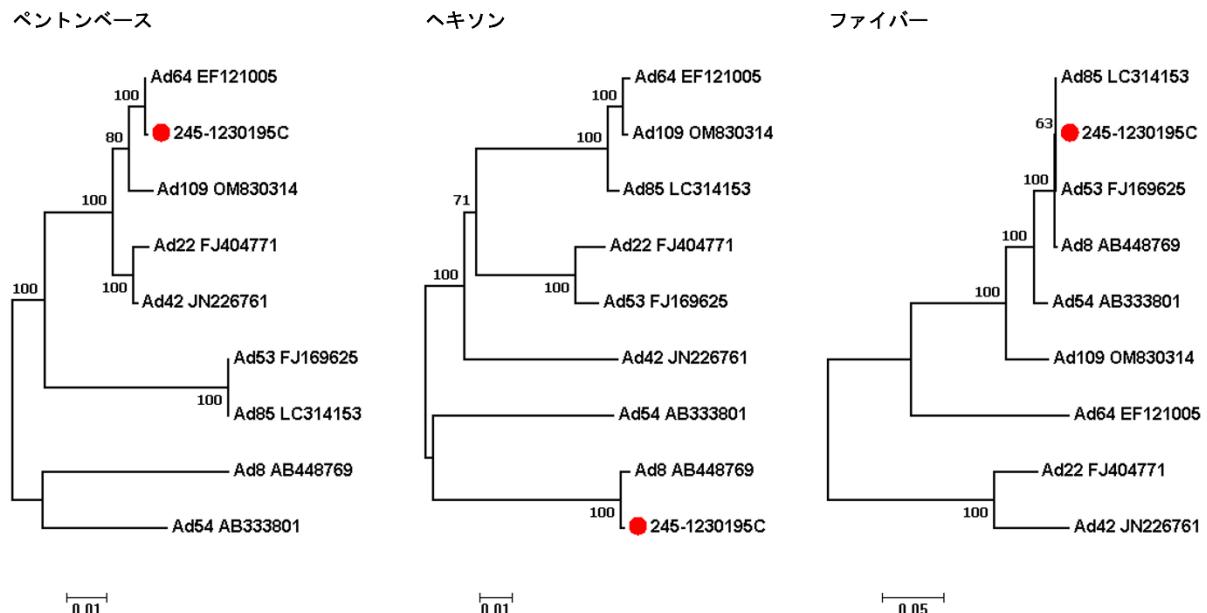


図 1 HAdV 各領域の部分配列による系統樹解析

### 結 果

#### 1 中和試験

中和用抗血清による中和試験の結果、HAdV-8 と同定された。

#### 2 3 領域における部分塩基配列解析

ペントンベース、ヘキソン、ファイバーの各領域

において高い相同意を示した株を表に示した。最も高い相同意を示した型で病原体検出マニュアル記載の PHF 表記を行うと、[P64H8F53] 又は [P64H8F85] となった。また、各領域の系統樹解析の結果を図 1 に示した。

#### 3 全ゲノム解析

Simplot++ 解析の結果は図 2 のとおり、ペントン

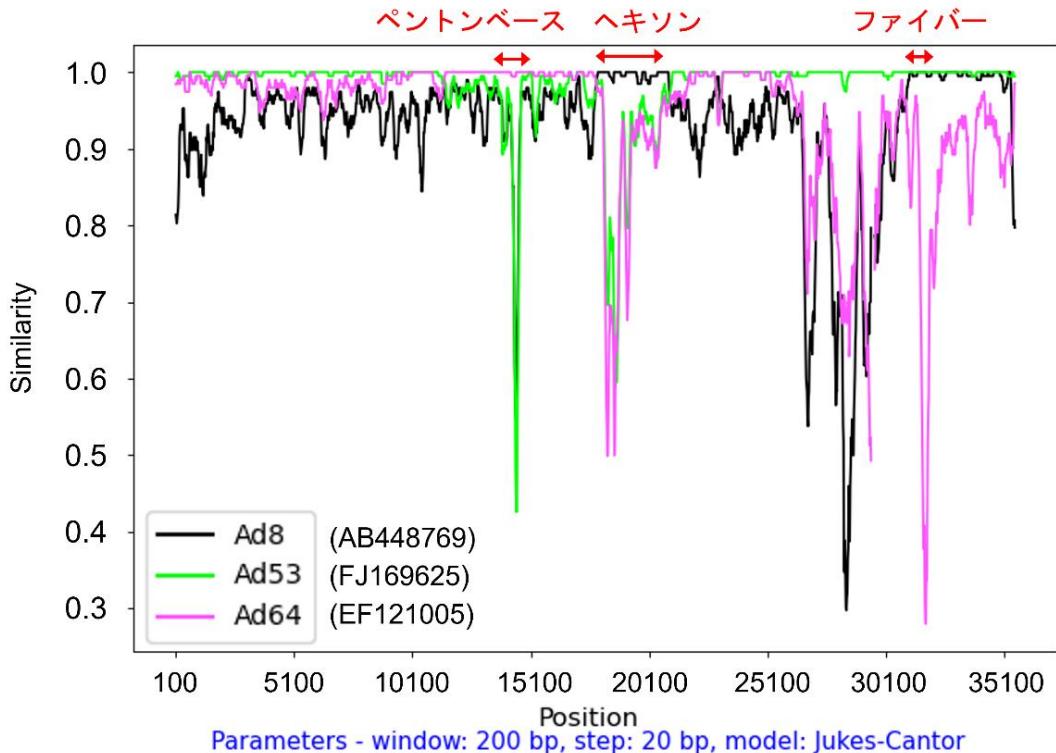


図 2 HAdV 新規リコンビナント株を基準とした Simplot++による解析

ベース領域の上流及び下流の領域にかけては HAdV-64[P22H19F37]、ヘキソン領域は HAdV-8、それ以外の領域については HAdV-53[P37H22F8]と高い相同意を示した。

## 考 察

HAdV のリコンビナント発生状況を取りまとめている Human Adenovirus Working Group の Web サイト (<http://hadvwg.gmu.edu/>) 上では、2024 年 4 月 5 日時点で、表に示した型の組合せによるリコンビナントの報告はなく、今回の分離株は新規リコンビナントであると考えられた。

PHF の 3 領域以外での組換え状況の把握を目的として全ゲノム解析を実施したところ、ペントンベース領域の上流及び下流の領域についても 64 型と高い相同意を示しており、ペントンベース領域と同様に組換えが起こったことが推察された。これらの領域ではカプシドや核タンパク質の形成に関与する pIIIa, pVII, pV, pX, pVI などのタンパク質がコードされている<sup>5)</sup>。また、これらの領域及びヘキソン領域を除いては HAdV-53[P37H22F8]との相同意が高く、今回分離された株は HAdV-53 由来のリコンビナント株であることが示唆された。

2024 年 6 月の Wang らの報告<sup>6)</sup>において、中国で急性呼吸器感染症と診断された新生児から分離されたウイルス株が HAdV-115[P22H8F8]として登録された。この株は、ペントンベース領域の上流から下流にかけては HAdV-64[P22H19F37]、ヘキソン領域は HAdV-8、ファイバー領域を含むその他の領域は HAdV-53[P37H22F8]からなるリコンビナントとされ、PHF 表記では当所分離株と同様に[P64H8F53]と記載することができる。報告では組換え前の型での表記を優先し[P22H8F8]としているものの、当所分離株と同型の株と推察された。同年 7 月 18 日時点では塩基配列が未公開となっているため、公開され次第、当所分離株との配列比較を実施する予定である。

近年、国内外で複数の HAdV リコンビナントが報告されており<sup>7), 8)</sup>、今回得られた株のようにリコン

ビナント株がさらなる組換えを起こしている状況にある。今後も新たな組換えが多く発生すると予想され、状況に応じてゲノム解析等を活用しながら、検出状況について注視する必要があると考える。

## 文 献

- 1) Seto D et al.: Using the Whole-Genome Sequence To Characterize and Name Human Adenoviruses, *J Virol*, 85(11), 5701～5702(2011)
- 2) 国立感染症研究所 感染症疫学センター、咽頭結膜熱・流行性角結膜炎 検査・診断マニュアル(第 4 版)
- 3) Tamura K et al.: MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11, *Mol Biol Evol*, 38(7), 3022～3027(2021)
- 4) Samson S et al.: SimPlot++: a Python application for representing sequence similarity and detecting recombination, *Bioinformatics*, 38(11), 3118～3120(2022)
- 5) Russell W.C: Adenoviruses: update on structure and function, *J Gen Virol* 90, 1～20(2009)
- 6) Wang F et al.: High-Frequency Recombination of Human Adenovirus in Children with Acute Respiratory Tract Infections in Beijing, China, *Viruses*, 16(6), 828(2024)
- 7) 廣瀬絵美 他:ヒトアデノウイルス 89 型と 5 型の新規組換え型株の検出—愛知県, IASR, 42(4), 78～79(2021)
- 8) Akello JO et al.: Genomic analyses of human adenoviruses unravel novel recombinant genotypes associated with severe infections in pediatric patients, *Sci Rep*, 11, 24038(2021)

## 広島市で初めて確認されたエムポックスウイルス 検出事例

宇野 拓也 城 朋実\* 山木戸 聰 児森 清香  
川原 康嗣 山本 美和子

### はじめに

エムポックスは感染症法上の4類感染症に指定されている。ポックスウイルス科オルソポックスウイルス属エムポックスウイルス(MPXV)による疾患であり、発熱、頭痛、リンパ節腫脹、発疹などの症状を呈するが、まれに発熱やリンパ節腫脅などの前駆症状が見られない場合もある。多くの場合2～4週間症状が持続し、その後自然軽快するが、小児例やばく露の程度、患者の健康状態、合併症などにより重症化することもある。これまで主にアフリカ大陸で発生が報告されていたが、2022年5月以降、欧米を中心とした流行も発生している<sup>1)</sup>。

国内では、2022年7月に1例目の患者が確認され、2023年に入り報告数が増加している<sup>1)</sup>。2023年7月、本市においてエムポックス疑い症例の報告があった。患者から採取された水疱内容物について、ウイルス分離及び遺伝子検査を行い、分離株について次世代シーケンサー(NGS)によるゲノム解析を行ったので、その結果を報告する。

### 方 法

#### 1 材料

第15病日の患者の異なる部位の皮膚病変部から採取した水疱内容物3検体(2234201V1～V3)を試料に供した。

### 2 リアルタイムPCRによるMPXVの検出

採取した水疱内容物3検体に適量のPBS(−)を混合後、4500rpmで3分間遠心分離を行った後、遠心上清についてQIAamp DNA Mini Kit(QIAGEN社)を用いてDNAを抽出した。国立感染症研究所の病原体検出マニュアル(エムポックス)<sup>2)</sup>に従い、オルソポックスウイルス属に共通するA3L遺伝子及びH2R遺伝子をターゲット領域とするSYBR Green法、MPXVのF3L遺伝子をターゲット領域とするTaqMan Probe法の二種類のリアルタイムPCRを実施した。水痘帶状疱疹ウイルス(VZV)との鑑別をするために、VZVのORF38遺伝子をターゲット領域としたTaqMan Probe法によるリアルタイムPCRも併せて実施した。

また、SYBR Green法では解離曲線(Melt Curve)解析を行い、非特異的な增幅の有無を確認した。

#### 3 培養細胞によるMPXVの分離

ウイルス分離は、病原体検出マニュアル(エムポックス)<sup>2)</sup>に従い、VeroE6細胞(アフリカミドリザル腎臓由来細胞)を用いた。細胞の維持培地は2%牛胎児血清及び抗生物質添加MEM培地を使用した。方法2で処理した検体の上清を細胞に接種後、34°C炭酸ガス5%条件下で培養し、細胞変性効果(CPE)を確認した。分離株については、DNAを抽出し二種類のリアルタイムPCRによりMPXVの遺伝子の存在

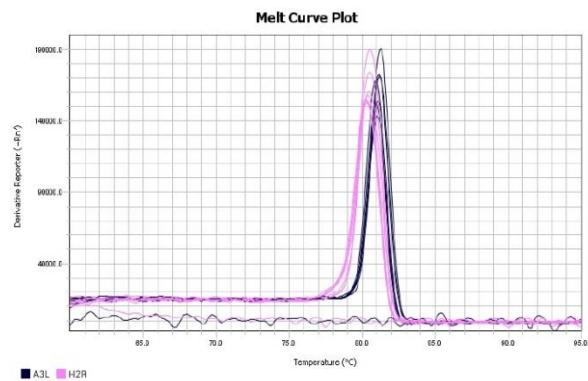
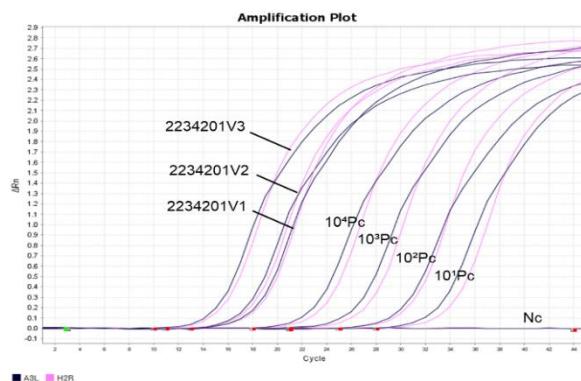


図1 リアルタイムPCR結果(SYBR Green法)  
増幅曲線(左)と解離曲線(右)

\*:現 健康福祉局保健部環境衛生課

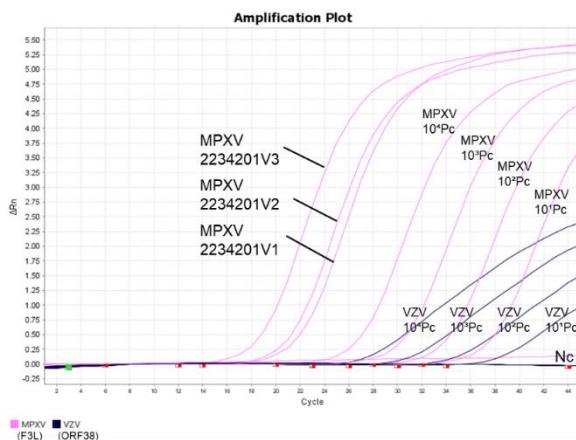


図2 リアルタイムPCR結果(TaqMan Probe法)増幅曲線

の有無を調べた。

#### 4 NGSによるゲノム解析

分離株の抽出DNAについて、QIAseq FX DNA Library CDI Kit (QIAGEN社)によりライプラリ調製を行った。磁気ビーズ精製は、AMPure XP Bead-Based Reagent (Beckman Coulter社)を用いて行った。調製したライプラリの濃度測定、濃度調整を行った後、iSeq 100 (Illumina社)によりリードを取得した。取得したリードデータは Geneious Prime (Biomatters社)により参考株 (LC753968)へのマッピングを行い、得られた塩基配列を用いて Nextclade (<https://clades.next-strain.org/>) による型別を行った。また、国内外の参考株と併せて系統樹解析を行った。

### 結果及び考察

#### 1 リアルタイムPCRによるMPXVの検出

SYBR Green法の結果を図1に示した。3検体すべてにおいて、A3L遺伝子及びH2R遺伝子のいずれ

も蛍光シグナルの立上がりが認められた。また、解離曲線解析では MPXV のスタンダードと  $T_m$  値が同じであることを確認した。次に、TaqMan Probe法の結果を図2に示した。F3L遺伝子の蛍光シグナルの立上がりが認められ、ORF38遺伝子の蛍光シグナルの立上がりが認められなかったことから、エムボックス陽性と判定した。

SYBR Green法及びTaqMan Probe法のいずれにおいても、MPXV遺伝子が  $1.9 \times 10^5 \sim 2.5 \times 10^6$  コピー ( $/3 \mu L$ ) 検出されており、非常に多くのウイルスが存在していることが示唆された。

#### 2 培養細胞によるMPXVの分離

検体接種5日目にCPEが確認された(正常なVeroE6細胞及びCPEが認められた同細胞を図3に示した)。分離株から抽出したDNAを用い、二種類のリアルタイムPCRによりMPXVであることを確認した。

今回使用した検体は発症15日経過時に採取されたものであった。皮膚病変部検体についてリアルタ



図3 正常なVeroE6細胞(左)とCPEが認められたVeroE6細胞(右)

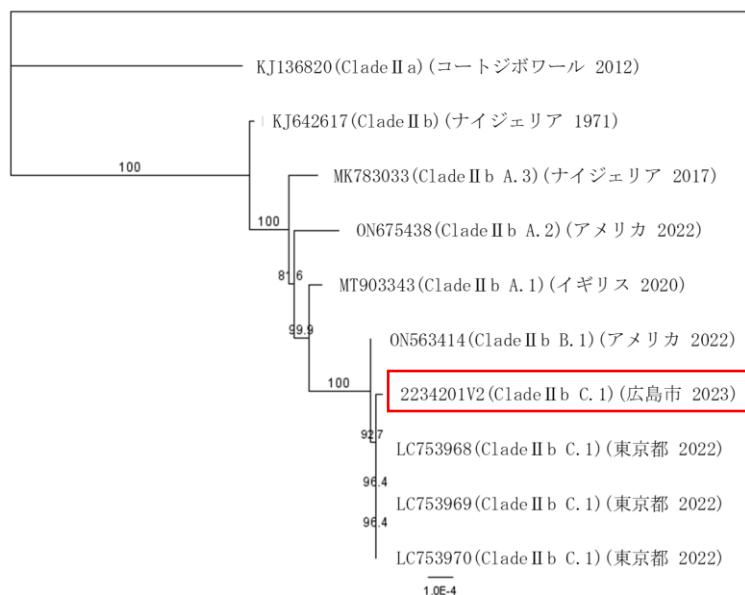


図 4 全長配列による分子系統樹(約 20 万塩基)

イム PCR を行った結果、コピー数が多いことが示された。PCR による MPXV 遺伝子の検出可能期間は、皮膚病変部では発症から中央値で 25 日間という報告<sup>3)</sup>がある。長期間 MPXV 遺伝子が検出されたことや、また、今回の培養結果などから、皮膚病変部では長期間に渡り MPXV のウイルス分離が可能であることが示唆された。

### 3 NGS によるゲノム解析

ゲノム解析により得られたデータを、Geneious Prime を用いて参照株にマッピングした結果、19 万 7376bp の塩基配列が得られた。MPXV の全長配列は約 20 万 bp であり、概ね全長配列を得ることができたと考えられた。MPXV には、コンゴ盆地系統群(クレード I)と西アフリカ系統群(クレード IIa 及び IIb)がある。得られた塩基配列を Nextclade で解析した結果、今回本市で検出された MPXV はクレード IIb の C.1 系統であることが分かった。また、他都市で得られた配列と合わせて系統樹解析を行った結果(図 4)、2022 年に東京都で検出された株と近縁の株であることが示唆された。

日本を含む東アジア、東南アジアからの報告は、2023 年 8 月をピークに減少しているものの、報告は継続しており<sup>4)</sup>、今後も発生動向に注視する必要があると考えている。

### 文 献

- 1) 広島市：感染症情報／エムポックス(サル痘), <https://www.city.hiroshima.lg.jp/site/infectious-disease-joho/292060.html> (2023)
- 2) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル(エムポックス) (2023)
- 3) Suñer C et al.: Viral dynamics in patients with monkeypox infection: a prospective cohort study in Spain, The LANCET Infectious Diseases 23(4), 445 ~453 (2023)
- 4) 国立感染症研究所：複数国で報告されているエムポックスについて(第 7 報) (2024)

## ノロウイルス GII.4 の全ゲノム解析手法の検討

児森 清香 埴 朋実\* 山木戸 聰 宇野 拓也  
川原 康嗣 山本 美和子

### はじめに

ノロウイルス (NoV) はカリシウイルス科に属する一本鎖プラス鎖 RNA ウィルスで、ゲノムの全長は約 7,600 塩基、構造は図 1 のとおりである<sup>1)</sup>。

当所では、NoV が原因として疑われる食中毒が発生した際に、患者等の検体を用いてリアルタイム PCR を行い、遺伝子検出を行っている。また、コンベンショナル PCR により、ORF1 の RdRp コード領域から ORF2 の N/S 領域まで(約 600 塩基)の遺伝子配列情報をもとに遺伝子型別を行っている。

RdRp 領域は、検体に含まれるウイルス量が少ないと解析できない場合があるが、N/S 領域(約 300 塩基)では、配列の保存性が比較的高いことからほぼすべての検体で解析可能である。しかし、N/S 領域は感染源が異なると推察される別の案件においても塩基配列が一致することがある<sup>2)</sup>ため、感染源を推察するためには他の領域を含めたさらに長い配列を解析することが必要になる。

そこで、遺伝子型別の報告数が多い NoVG II.4 を対象として、次世代シーケンサー (NGS) を用いたアンプリコンシーケンスによる全ゲノム解析手法を検討し、全長配列と N/S 領域の塩基配列の不一致塩基数について比較したのでその結果を報告する。

### 方 法

#### 1 材料

2022 年 7 月から 2023 年 2 月に本市で発生した食中毒疑い事案において、NoVG II.4 が検出された 2 事例(事例 A 及び事例 B)から患者便及び従事者便計 5 検体を試料に供した。

#### 2 NGS 解析

既報<sup>3)</sup>を参考に、10%便乳剤を 12,000rpm で 5 分遠心後、QIAamp Viral RNA Mini Kit (QIAGEN) により RNA 抽出、Recombinant DNase I (TaKaRa) により DNase 処理、SuperScript III Reverse Transcriptase (Invitrogen) により逆転写反応を行い、cDNA を得た。PrimeSTAR GXL DNA Polymerase (TaKaRa) を用いて PCR を行い、電気泳動で増幅を確認した。増

幅不良の箇所についてはプライマーを改変して再度行った(表 1)。

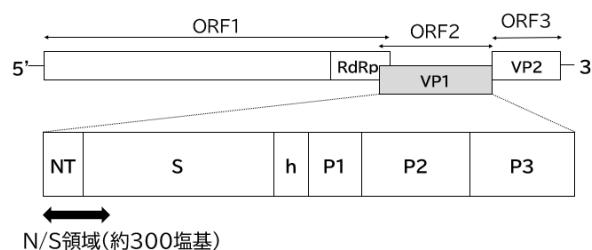
PCR の増幅産物について、QIAseq FX DNA Library Kit (QIAGEN) を用いてライブラリを調製し、iSeq 100 (Illumina) により全ゲノムシーケンスを行った。得られたデータは Genious Prime (Biomatters) を使用してトリミング後、参照株 (JX459908.1) へのマッピングにより全長配列を得た。各試料から得られた全長配列をアライメントし、検体間での不一致塩基数を比較した。また、ORF2 の N/S 領域における塩基配列(302 塩基)についても同様に比較した。

### 結 果

試料に供した 5 検体について、7,421 塩基の配列が得られた。不一致塩基数を比較した結果を表 2 に示す。不一致塩基数は、N/S 領域における塩基配列では各事例内で 0~2 塩基、事例 A と事例 B の間で 2~4 塩基であったが、全長配列では各事例内で 10~32 塩基、事例 A と事例 B の間で 90~115 塩基であった。

### 考 察

今回は、既報をもとにプライマーを設計し、増幅不良が生じたプライマーを独自に改変することにより、NoVG II.4 について概ね全長配列を得ることができた。得られた全長配列における不一致塩基数と N/S 領域の塩基配列における不一致塩基数を比較したところ、全長配列の方が事例ごとの差がより明確であった。各事例の解析検体数は 2~3 検体であるが、事例間では事例内と比較して不一致塩基数が多いことから、N/S 領域で配列が一致する事例間の検体においても、NGS を用いた全ゲノム解析によ



N/S領域(約300塩基)

図 1 ノロウイルスのゲノム構造

\* : 現 健康福祉局保健部環境衛生課

表1 プライマー一覧

	Primer	Sequence (5' to 3') **	Amplicon size (bp)
1	4F40v2*	AACAAACGACATCGCAAAATC	358
	4R450v2*	GTATAAGACCTCGTCCACGTA	
2	4F404	AAGGAGGCCACTGACTGGAACAATTCTGGAAATGTGGG	538
	4R945	AAGGGGGCAATCATCGCAGACACATCTGGG	
3	4F404	AAGGAGGCCACTGACTGGAACAATTCTGGAAATGTGGG	1047
	4R1450v2*	ACNACAGGTCTYGGYCTGCTGG	
4	4F961	TGGACACCCCCAGATGTGTCGATG	490
	4R1450v2*	ACNACAGGTCTYGGYCTGCTGG	
5	4F1371v2*	CTYTCAACCAARTCTGCYTCACC	679
	4R2050v2*	CTCTCATGGAGTARCCCTGATGC	
6	4F1797v2*	ATCACYACYAAYCTRCYAAACCC	256
	4R2050v2*	CTCTCATGGAGTARCCCTGATGC	
7	4F1797v2*	ATCACYACYAAYCTRCYAAACCC	881
	4R2675	TACTCTTCATCACTGAGACCTTGCTTGAGAAGGCTG	
8	4F2216	TGAGAGTTGGGAGGCAGCTCAAGGATGTC	457
	4R2675	TACTCTTCATCACTGAGACCTTGCTTGAGAAGGCTG	
9	4F2216v2*	ACAATGARAGTTGGRARRCAGC	1139
	4R3340v2*	AACWGTGCGCCCYTGRATYTTCATGGT	
10	4F2707	TCAAGCAAAGGTCTCAGTGATGAAGAG	633
	4R3340	CCTCCAACAGTGCGCCCTGAATTTCATGGTTGC	
11	4F3135v3*	TGCCGATTGAGATTCCCAA	760
	4R4000v4*	GCCAAYTTCCCTGTGAAGGA	
12	4F3540v2*	GGAAACACTGTCATATGTGCCAC	457
	4R4000v3*	TCTTCRAACATYAGRTTGGCCTTGGARGCYTG	
13	4F3540v2*	GGAAACACTGTCATATGTGCCAC	964
	4R4505v2*	ARAGRGTGAGRAGCCAGTGGC	
14	4F3970	CGGAAAAACGACTGCTGGAACGGGG	533
	4R4505v2*	ARAGRGTGAGRAGCCAGTGGC	
15	4F4404	TCCTCAGAACACATTGGCTCAGGTAGTCGCAGAAG	709
	4R5115	ACGAGGTTGGCTGTGGACCCATCAGATG	
16	4F4926	CTGGGAGAGGCCGCACTCCACGGCCC	521
	4R5445	TCAGTTGGAAAATTGGTGGACTGCTGC	
17	4F5323	GGGTGAGATACTATGGAGCGCGC	701
	4R6030	CCCAGAGGGCTGGGATTCTTCTG	
18	4F5686	ATGATGTCTTCACAGTCTTGTG	338
	4R6030	CCCAGAGGGCTGGGATTCTTCTG	
19	4F5686	ATGATGTCTTCACAGTCTTGTG	824
	4R6515	ACCCCTACCTGTCTGGATTCAAATC	
20	4F6545	AGATTTGTGAATCCAGACACAGGTAGGG	460
	4R7000	AGCCTTGTATGGGGCGTTGATTGCCACG	
21	4F6545	AGATTTGTGAATCCAGACACAGGTAGGG	984
	4R7530	TTTTTTTTTTTTAAAGACCTAAAGAAAGGAAAGATAATCAATTGTC	
22	4F6920*	GAGATGCTCCAAGCACAAATTGAGGC	606
	4R7530	TTTTTTTTTTTTAAAGACCTAAAGAAAGGAAAGATAATCAATTGTC	
23	4F6030*	CAGAAGAAATCCAGCCCTCTGGG	840
	4R6920	GCCTCAATTGTGCTGGAGCATCTC	
24	4F6515v2*	TGGCTCTGCTAAGATTGTG	983
	4R7499*	CTTTTCACATTACACCCGTGA	

\* : 改変プライマー \*\* : 塩基は N(A, T, C または G), Y(T または C), R(A または G), W(A または T) とする

表2 検体間の不一致塩基数の比較

		事例 A		事例 B		
		2222111F	2222112F	2230420F	2230422F	2230427F
事例 A	2222111F					
	2222112F		32 (2)			
事例 B	2230420F	98 (2)	115 (4)			
	2230422F	94 (4)	115 (4)	10 (0)		
	2230427F	90 (4)	114 (4)	13 (0)	11 (0)	

()内は N/S 領域の部分配列塩基における不一致塩基数を示す

り事例ごとの差を明確にすることが可能であると推察される。現時点では解析方法や判断基準について統一的な見解は示されていないが、全ゲノム配列を解析することは原因究明のための判断材料の一つになりうるといえる。実際には塩基配列の挿入・欠失や疫学調査の結果等を総合的に勘案し、判断することが重要と考えられる。

今回実施したアンプリコンシーケンス解析は、遺伝子型ごとにプライマーを設計する必要があること、プライマー結合部位の変異により增幅不良となることなどの課題がある。

NGS による全ゲノム解析の手法は未だ検討段階であり、今後も新たな手法が報告されると思われる。それらを取捨選択し、適切に活用していくこ

とが必要であると考える。

## 文 献

- 1) 片山和彦 : 1. ウイルス ノロウイルス総説 2020, ウイルス, 70(2), 117~128 (2020)
- 2) 阿部勝彦 他 : 2006 年 5 月~2008 年 4 月に広島市で流行したノロウイルス G II/4 の分子疫学について, 広島市衛研年報, 27, 35~40 (2008)
- 3) Kundu S et al. : Next-Generation Whole Genome Sequencing Identifies the Direction of Norovirus Transmission in Linked Patients, Clin Infect Dis, 57(3), 407~414 (2013)

## 河川マイクロプラスチックの市内河川における 排出実態調査結果(2023年度)

環境科学部

### はじめに

海洋環境等への影響が懸念されるマイクロプラスチック(5mm未満の微細なプラスチック)について、発生源対策の検討のため、陸域から海域へ流出するマイクロプラスチックの分布実態を把握する必要がある<sup>1)</sup>。陸域から海域への主な流出経路である河川を対象として、広島市内におけるマイクロプラスチックの排出実態調査を昨年度に引き続き実施したため、結果を報告する。

また、戸坂上水道取水口は、採水がしやすい地点ではあるが、河川左岸の取水口から採水しているため、マイクロプラスチックの個数濃度を適切に反映しているか懸念があった。このため、下流の祇園新橋の流心でも調査したため、併せて報告する。

### 方 法

#### 1 調査地点

調査は、戸坂上水道取水口(太田川・左岸)及び祇園新橋(太田川・流心)において実施した(図1)。

#### 2 調査日

2023年10月4日

#### 3 調査方法

調査は「河川・湖沼マイクロプラスチック調査ガイドライン」<sup>1)</sup>に準じて実施した。その概要は、以下のとおり。

口径30cm、目開き0.3mmのろ水計つきプランクトンネットを、水面直下に沈む程度の位置へ降ろし、採取量が10m<sup>3</sup>以上となるよう通水し、試料を採取した。

過酸化水素水を用いた酸化処理による有機物の除去及びヨウ化ナトリウムを用いた比重分離によって試料を前処理し、実体顕微鏡を用いて試料を観察し、マイクロプラスチック候補粒子を分取した。



図1 調査地点

候補粒子の長径、色及び形状を記録したのち、フーリエ変換赤外分光光度計(FT-IR ATR法)を用いて長径1mm以上の粒子のプラスチック種別を同定し、個数密度を算出した。

### 結果

調査結果を表1に示す。戸坂上水道取水口では0.14個/m<sup>3</sup>、祇園新橋では0.12個/m<sup>3</sup>のマイクロプラスチックが検出された。

戸坂上水道取水口と祇園新橋のマイクロプラスチックの個数密度は同程度だったことから、次年度以降も戸坂上水道取水口で採取することとする。

### 謝 辞

本調査の実施にあたり、分析機器の貸与等にご協力いただいた広島県環境県民局環境保全課、広島県立総合技術研究所に深謝いたします。

### 文 献

1) 環境省水・大気環境局水環境課：河川・湖沼マイクロプラスチック調査ガイドライン(令和5年3月)

表1 マイクロプラスチック調査結果

採水地点	個数密度	プラスチックの種別及び個数	形状/色/長径
戸坂上水道取水口	0.14 個/m <sup>3</sup>	ポリプロピレン 2個	膜・シート状/緑/2.2mm 繊維状/緑/1.9mm
祇園新橋	0.12 個/m <sup>3</sup>	ポリプロピレン 1個 ポリエチレン 1個	膜・シート状/白/1.8mm 膜・シート状/緑/1.4mm

### III 抄 錄



学会発表(所属については発表時のものを掲載した。)

MT 法による広島市における手足口病の  
流行開始予測

山岡誠司　臼田美由紀　小中ゆかり\*

第 31 回品質工学研究発表大会

2023. 6. 29～30 東京都

広島市感染症情報センターは、衛生研究所内に設置されており、市内の医療機関からの患者情報等を収集・分析し、全国情報と併せて保健所や医療機関等に情報提供することにより、感染症の発生及びまん延の防止に寄与している。

定点医療機関から毎週報告される五類感染症の一つである手足口病の広島市における流行開始の予測に、品質工学の MT 法を適用した。

また、MT 法の流行開始予測の項目である広島市や近県等の報告数の有用性も再検討して、予測精度を向上させた。

\* : 健康福祉局保健部環境衛生課

MT 法を活用した広島市における手足口病の

流行開始予測について

山岡誠司　臼田美由紀　吉岡英明

第26回地域保健研究会(第1分科会)

2024. 2. 2 広島市

広島市感染症情報センターは、衛生研究所内に設置されており、市内の医療機関からの患者情報等を収集・分析し、全国情報と併せて保健所や医療機関等に情報提供することにより、感染症の発生及びまん延の防止に寄与している。

定点医療機関から毎週報告される五類感染症の一つである手足口病の広島市における流行開始の予測に、品質工学の MT 法を適用した。

また、広島市感染症週報で、注意喚起として、手足口病を取り上げる際の判断材料に、MT 法による流行開始予測を活用した。

着色料分析において試料の偏りにより

追加試験を要した事例について

森本章嗣　鳩岡未沙子　馬部文恵

吉岡英明

第37回生活衛生関係業績発表会

(兼地域保健研究会第二分科会)

2024. 2. 1 広島市

当所では指定添加物 12 種類に加え、違反事例の多い禁止着色料 4 種類の計 16 種類の着色料の定性試験を、高速液体クロマトグラフにより行っている。

青色 1 号を含有すると記された欧州産の収去品(キャンディ)について、収去された 3 袋のうち 1 袋の測定を行ったところ、封入されていた 4 色のキャンディからは青色 1 号が検出されなかった。

2 袋目を開封し再試験を行ったところ、1 袋目には梱包されていなかった色のキャンディが封入されており、そのキャンディから青色 1 号が検出されたため、多種類梱包されている食品は、成分に大きく偏りがある可能性があることが示唆された。

LC-MS/MS による農作物中の残留農薬

一斉試験法の妥当性評価

大平浩史　馬部文恵　吉岡英明

第37回生活衛生関係業績発表会

(兼地域保健研究会第二分科会)

2024. 2. 1 広島市

当所では令和 4 年 1 月に残留農薬試験等に使用する LC-MS/MS を更新したため、残留農薬試験において妥当性評価が必要となった。その際、内部標準物質を用いた内部標準法によるマトリックス効果の補正を検討した。

農薬 223 成分及び内部標準物質 7 成分を測定対象として、ばれいしょ等の 6 作物を試料として用いて、平成 22 年の厚生労働省の通知「食品中に残留する農薬等に関する試験法の妥当性評価ガイドライン」に基づき、妥当性評価を実施した。その結果、内部標準法による定量では絶対検量線法と比べ検量線の相関がよく、農薬 57 成分が適用可能になった。

2017～2023 年に広島市で分離された

*Campylobacter coli* の

分子疫学的解析

千神彩香 大原有希絵 池田伸代

末永朱美 山本美和子

第37回生活衛生関係業績発表会

(兼地域保健研究会第二分科会)

2024. 2. 1 広島市

2017 年から 2023 年に広島市で分離された *Campylobacter coli* 及び *Campylobacter jejuni* を用いて, mP-BIT 法及び PFGE 法による分子疫学的解析を実施し, 株間のパターンを比較すると同時に, これら 2 手法による解析能の比較を行った。多くの株は事例ごとにパターンが分かれる傾向があったが, 異なる事例で分離された株が遺伝的に近縁である可能性を示唆する結果も見られた。2 手法とも概ね事例ごとにパターンが分かれたが, *Campylobacter jejuni* の解析結果と比較すると, *Campylobacter coli* においては, mP-BIT 法は PFGE 法に比べ解析能がやや劣ると考えられた。

mP-BIT 法及び Penner-PCR 法を用いた

*Campylobacter jejuni* 株間の

比較解析

池田伸代 大原有希絵 千神彩香

末永朱美 山本美和子

第37回生活衛生関係業績発表会

(兼地域保健研究会第二分科会)

2024. 2. 1 広島市

当所で分離・収集した *Campylobacter jejuni* (以下 *C. jejuni*) 株について, 近年報告された Penner-PCR 法及び Multiplex PCR binary typing (mP-BIT) 法を実施し, 同一事例内又は異なる事例間の分離株の比較解析を行った。Penner-PCR 法で型別された株は mP-BIT 法により更に詳細に型別され, 複数検体からの分離株が同じ遺伝子型を示し, 株間の関連性が強く示唆された事例があった。一方で参考食品から多様な遺伝子型が検出され複数型の *C. jejuni* による汚染が否定できない事例もあった。また, Penner 遺伝子型によつては mP-BIT スコアの多様性に差がある可能性が示唆された。

cgMLST 法により同一由来と確認された

腸管出血性大腸菌感染症事例

山本美和子 青田達明 山本泰子

田内敦子 山岡誠司

第66回中国地区公衆衛生学会

2023. 8. 23～24 鳥取市

疫学調査により同一感染が疑われたが, MLVA 法において同一由来と確認できなかった腸管出血性大腸菌感染症 1 事例を含む 3 事例について, 次世代シーケンサーを用いた cgMLST 法により解析した結果, 同一事例内は遺伝的関連性が高く, 事例間は関連性が低いことが示唆された。cgMLST 法は MLVA 法の解析結果と疫学的関連性に相違がみられる場合や, PFGE 法の代替法として実施することが有効であると思われる。

浴槽水のレジオネラ属菌検査における

迅速検査法 (LC EMA-qPCR) 実施結果と

培養検査法との比較

古谷玲子 山本泰子 平岡史帆

青田達明 田内敦子 山本美和子

第37回生活衛生関係業績発表会

(兼地域保健研究会第二分科会)

2024. 2. 1 広島市

本市ではこれまで浴槽水等のレジオネラ属菌検査を培養法のみで実施してきたが, 培養法と併用したスクリーニング検査として LC EMA-qPCR 法 (以下, LC 法) を実施し, その結果を比較した。浴槽水 17 検体中, 培養法では全ての検体においてレジオネラ属菌は検出されなかったが, LC 法では 3 検体からレジオネラ属菌の遺伝子が検出された。LC 法の結果を CFU 換算したところ, 培養法では検出下限値以下であった。培養法と LC 法の結果の乖離が起こる可能性を考慮したうえで, 検査法を選択し結果を活用しなければならない。

複数医療機関で分離されたパンコマイシン耐性

腸球菌の分子疫学解析結果

青田達明 山本泰子 平岡史帆

古谷玲子 田内敦子 山本美和子

第26回地域保健研究会(第1分科会)

2024. 2. 2 広島市

2019年から2023年11月までに、本市医療機関で分離されたVRE感染症由来菌株44株について、菌種同定試験及び耐性遺伝子検出試験に加え、次世代シーケンサーを用いた詳細な分子疫学解析を行った。44株中42株が *E. faecium* となり、*E. faecalis*及び*E. raffinosus*が各1株であった。44株は全て *vanA* 遺伝子を保有していた。*E. faecium* のMLST解析の結果、ST80が36株、ST547が3株、ST17、ST78及びST203が各1株であった。更に、*E. faecium* のSNPs解析の結果、ST80に分類された36株は互いに遺伝的に近縁であることが判明した。このことから、市域の医療機関において遺伝的関連の高い株が拡散していることが推測された。

次世代シーケンサーを用いたノロウイルスの遺伝子解析(クローニングの代替法として)

川原康嗣 埃 朋実 福永 愛

山木戸 聰 宇野拓也 藤井慶樹\*

山本美和子

第66回中国地区公衆衛生学会

2023. 8. 23~24 鳥取市

カキ中に存在するノロウイルスの遺伝子型解析を行う際など、複数の遺伝子型の混在が疑われる場合は、必要に応じてクローニングを行った後、サンガーフラスによる遺伝子型解析を行っている。しかしながら、当手法では、PCRの影響により優勢に存在する遺伝子型が検出されやすく、存在比の低い遺伝子型が検出されにくいくことなどの課題がある。そこで、クローニングの代替法として、次世代シーケンサーを活用した遺伝子型解析について検討を行った結果、存在比の低い遺伝子型を含めた複数の遺伝子型が混在するノロウイルスの型別解析を行えることが示唆された。

\* : 経済観光局食肉市場

ノロウイルス食中毒疑い事案における全ゲノム

解析による感染経路の推定

山木戸 聰 埃 朋実 福永 愛

宇野拓也 児森清香 川原康嗣

山本美和子

第37回生活衛生関係業績発表会

(兼地域保健研究会第二分科会)

2024. 2. 1 広島市

ノロウイルス食中毒疑い事案において、遺伝子型別に使用するORF2のN/S領域(約300塩基)は、感染源が異なると推測される別事例でも塩基配列が一致することがある。そこで今回、他の領域を含む全ゲノム解析を行い、感染経路の推定における有用性について検討した。

本市で発生した食中毒疑い事案3例について解析した結果、解析対象とした7421塩基における不一致塩基数は同一事例内で10~32塩基と少なく、別事例間では56~130塩基と多くなる傾向があった。現時点では解析方法や判断基準について統一的な見解が示されていないが、全長配列における不一致塩基数が感染源の同一性に関する判断材料になりうることが示唆された。なお、実際には疫学調査の結果等を勘案して、総合的に判断を行う必要がある。

原因不明感染症事案等における網羅的  
ゲノム解析法を用いた病原体検索  
川原康嗣 塙 朋実 山木戸 聰  
宇野拓也 児森清香 青田達明  
田内敦子 山本美和子  
第26回地域保健研究会(第1分科会)

2024. 2. 2 広島市

原因不明の感染症事案については、原因となる病原体を検索するため、通常、ターゲットを絞った検査を行っているが、新興感染症や想定外の病原体が原因である場合、検出することが困難である。このような課題の解決方法として、次世代シーケンサー(NGS)を用いた検体中に含まれる病原体ゲノムを網羅的に検出する手法で病原体検索を行った。本事例においては関与が疑われる具体的な病原体を示すには至らなかつたが、常在菌を含む細菌やウイルス等の遺伝子を網羅的に検出することができた。今後、複数検体を用いた検査の実施やデータ解析技術を向上させることにより、本手法が原因不明の感染症事案における病原体検索に活用できる可能性が示唆された。

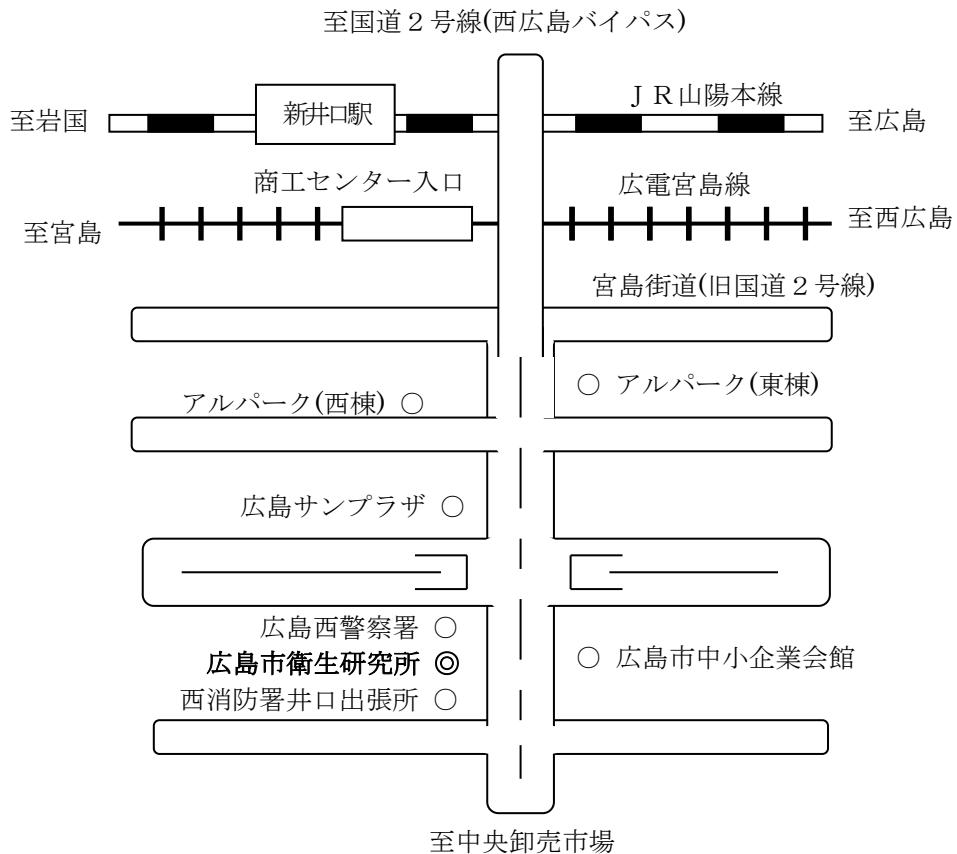
2023 年度広島市内河川 PFOS, PFOA  
調査結果について  
田坂葉子 田代慎二朗 宮野高光  
佐々木珠生 花木陽子  
第37回生活衛生関係業績発表会  
(兼地域保健研究会第二分科会)

2024. 2. 1 広島市

環境局環境保全課からの依頼を受け、2023 年度 11 月に広島市内河川 8 地点(八幡川 2 地点、瀬野川水系 6 地点)の PFOS, PFOA を調査した。

瀬野川水系の調査は、上流域の調査を管轄する東広島市と調査日を合わせ、9 地点を一斉に行つた。

八幡川 2 地点は PFOS が 0.5・2.5ng/L, PFOA が 0.4・1.8ng/L, 合算値は 1.0・4.3ng/L, 瀬野川水系 6 地点は PFOS が 1.9~45ng/L, PFOA が 1.6~7.3ng/L, 合算値は 3.5~53ng/L であった。瀬野川本流 4 地点は PFOS, PFOA ともに上流になるほど濃度が上昇し、広島市境界地点では指針値である 50ng/L を超過した。同 4 地点では PFOS 濃度が高く、合算値に対する割合は 77~85% であった。八幡川 2 地点及び瀬野川支流 2 地点の合算値は 5ng/L 未満であった。



交通 J R 西日本 山陽本線新井口駅下車 徒歩 10 分  
 広 島 電 鉄 宮島線商工センター入口下車 徒歩 10 分  
 広 島 バ ス J R 広島駅発 商工センター行(25 番路線)  
 商工センター三丁目下車 徒歩 2 分

登録番号	広H0-2024-342
名称	広島市衛生研究所年報 第43号(令和5年度)
主管課 所在地	健康福祉局 卫生研究所 広島市西区商工センター四丁目1番2号 (〒733-8650) TEL (082)277-6575 FAX (082)277-0410 <a href="https://www.city.hiroshima.lg.jp/site/eiken/">https://www.city.hiroshima.lg.jp/site/eiken/</a>
発行年月	令和6年12月