

愛知県衛生研究所報

第 75 号 令和 7 年 3 月

目 次

調査研究

愛知県における近年の梅毒の発生動向 - 2023 年現在	1
中村瑞那、塩谷亜矢、浅井結貴、成瀬瑠里子、後藤孝司、平田己円男、小栗 信	
愛知県衛生研究所における新型コロナウイルス感染症に対する検査対応	10
安井善宏、佐藤克彦、小栗 信	
2012 年から 2021 年に愛知県において分離された腸管出血性大腸菌の薬剤感受性	18
高橋佑太、山田和弘、齋藤典子、安井善宏	
液体クロマトグラフ質量分析法を用いた漢方エキス製剤の 一斉確認試験法の開発	26
小林俊也、服部靖子 ¹ 、富田浩嗣、磯貝勝人	
¹ （現所属）衣浦東部保健所	

資料

愛知県水道水質検査外部精度管理調査結果について（R1～R5）	36
加藤千佳、堀田沙希、新美 瞳、原田知美、尾内彩乃 ¹ 、服部靖子 ² 、 長谷川真照 ³ 、宮地斗美、佐藤隆治、棚橋高志、長瀬智哉、 續木洋一 ³ 、池田清栄、渡邊美奈恵 ⁴ 、磯貝勝人	
¹ （現所属）半田保健所、 ² （現所属）衣浦東部保健所、 ³ （現所属）生活衛生課、 ⁴ 退職	
他誌掲載論文抄録	44

Report of Aichi Prefectural Institute of Public Health (Aichi-ken Eisei Kenkyusyoho)

Volume 75, March 2025

Contents

Original Papers

Epidemiological Trends of Syphilis in Aichi Prefecture, as of 2023.	1
Mizuna Nakamura, Aya Shiotani, Yuki Asai, Ruriko Naruse, Takashi Goto, Mineo Hirata, Makoto Oguri	
The role of laboratory diagnosis in coronavirus disease 2019 (COVID-19) at the Aichi Prefectural Institute of Public Health.	10
Yoshihiro Yasui, Katsuhiko Sato, Makoto Oguri	
Antimicrobial susceptibility of enterohemorrhagic Escherichia coli isolated in Aichi Prefecture from 2012 to 2021.	18
Yuta Takahashi, Kazuhiro Yamada, Noriko Saito, Yoshihiro Yasui	
Development of simultaneous identification method for Kampo extract using liquid chromatography/mass spectrometry	26
Shunya Kobayashi, Yasuko Hattori ¹ , Koji Tomita, Masato Isogai ¹ Present affiliation: Kinuuratoubu Health Center	
Report	
External Quality Control Results of Tap Water Quality Inspection in Aichi Prefecture (FY2019 - FY2023)	36
Chika Kato, Saki Hotta, Hitomi Niimi, Tomomi Harada, Ayano Onouchi ¹ , Yasuko Hattori ² , Masateru Hasegawa ³ , Tomi Miyaji, Ryuuji Sato, Takashi Tanahashi, Tomoya Nagase, Hirokazu Tsuzuki ³ , Seiei Ikeda, Minae Watanabe ⁴ , Masato Isogai ¹ Present affiliation: Handa Health Center, ² Present affiliation: Kinuura-Tobu Health Center, ³ Present affiliation: Environmental Health Division, Environmental Health Department, Aichi Prefectural Government, ⁴ Retired	
Summaries of papers accepted to other journals	44

調 査 研 究

愛知県における近年の梅毒の発生動向 - 2023 年現在

中村瑞那、塩谷亜矢、浅井結貴、成瀬瑠里子、後藤孝司、平田己円男、小栗 信

要 旨

日本における梅毒の届出数の急増を受け、今回、愛知県における梅毒の発生動向について解析した。

愛知県においても梅毒の届出数は急増しており、2023 年は 822 例と感染症法施行以来最多であった。先天梅毒の届出数についても 2023 年は 7 例と感染症法施行以来最多であった。先天梅毒以外の症例を病型別にみると、男性では感染早期の患者動向を反映する早期顕症梅毒の割合が近年は 7 割以上と高く、女性においても近年は早期顕症梅毒の割合が最も高くなっていた。男性症例の年齢層は 20 代から 50 代まで幅広く、女性症例では近年は 20 代と 30 代が多かった。愛知県（名古屋市を除く）における男性症例では近年およそ 4 割で性風俗産業の利用歴があり、女性症例では 1~2 割で性風俗産業の従事歴があったことから、性風俗産業と梅毒増加の関連性が推測された。

妊娠の有無が届出項目に追加された 2019 年以降、愛知県（名古屋市を除く）において妊娠症例は毎年みられ、2023 年は 19 例と最多であった。妊娠症例のうち妊娠週数 15 週までの診断例が 7 割以上であったが、28 週以降の妊娠後期に診断された症例も 1 割以上であった。妊婦が適切な抗菌薬治療を受けることで母子感染のリスクを下げるができるため、啓発等による早期の診断治療が望まれる。

キーワード：梅毒、感染症発生動向調査、性感染症

序 文

梅毒は梅毒トレポネーマ（学名：*Treponema pallidum*）による細菌性の性感染症で、世界中に広く分布している¹⁾。梅毒は、適切な治療を受けなければ深刻な健康上の影響を引き起こす可能性があり、特に妊婦が感染した場合には母子感染により流産、死産、先天梅毒等を起こし得る¹⁾。日本では、梅毒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（以下、「感染症法」）に基づく 5 類感染症の全数把握対象疾患に定められ、公衆衛生上重点的に対策すべき疾患として位置付けられている。

近年、日本における梅毒届出数は大きく増加しており、2022 年の届出数は 13,221 例

と 1999 年の感染症法施行以来 1 万例を初めて上回り²⁾、2023 年はそれを更に上回る 15,092 例（速報値）となった³⁾。先天梅毒の届出についても、2023 年は 37 例（出生 10 万人当たり 5.1、速報値）と感染症法施行以来最も多かった^{2,4)}。

梅毒届出数の増加は、米国、欧州、豪州においても確認されている^{5,6,7,8)}。特に米国においては先天梅毒の届出数が大きく増加しており、2015 年に 494 例（出生 10 万人当たり 12.4）⁹⁾であったところ、2019 年には 1,875 例（同 50.0）¹⁰⁾、2023 年は 3,882 例（同 105.8）と報告されている⁶⁾。

このような状況の中で、2022 年、世界保健機関（WHO）は先天梅毒を出生 10 万人当

たり 50 例以下とする目標を設定している¹¹⁾。日本においては、2019 年 1 月から、梅毒の感染拡大の防止や梅毒に関連した周産期転帰の防止の対策に繋がるより正確な実態把握を目指し、梅毒の届出項目として性風俗産業の従事歴・利用歴、妊娠の有無等が追加されたところである。

今回、この追加された届出項目を含め、愛知県における近年の梅毒の発生動向を解析したので報告する。

資料と方法

2023 年 52 週までの梅毒の届出を対象として解析した。なお、年の区切りは診断週を参照した。

全国の男女別届出数について、2022 年以前のデータは国立感染症研究所の感染症発生動向調査事業年報¹²⁾の値を使用した。2023 年のデータは、国立感染症研究所「日本の梅毒症例の動向について」³⁾における値（速報値）を使用した。

愛知県の性別・病型別・年齢層別届出数について、2022 年以前のデータは国立感染症研究所の感染症発生動向調査事業年報¹²⁾の値

を使用した。2023 年のデータは、感染症サーベイランスシステム (National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases: NESID) の登録データ (2024 年 7 月 2 日時点) を使用した。

愛知県（名古屋市を除く）における梅毒の症例の感染経路、性風俗産業の従事歴・利用歴、妊娠の有無及び妊娠週数は、NESID の登録データ (2024 年 7 月 2 日時点) を使用した。なお、感染経路等は「推定」であるものを含めて使用した。

また、妊娠症例に特徴的な疫学の把握のため、国立感染症研究所の報告²⁾に倣い、非妊娠症例を「15～44 歳の女性症例のうち妊娠症例以外の症例」と定義して解析した。

集計解析には解析用統計パッケージ SAS ver. 9.4 を使用した。分析対象の各群における割合の有意差検定はカイ 2 乗検定により行った。

結 果

1. 全国と愛知県の男女別届出数 (図 1)

愛知県における梅毒の届出数は、2014 年 (112 例)、2015 年 (122 例) と増加傾向と

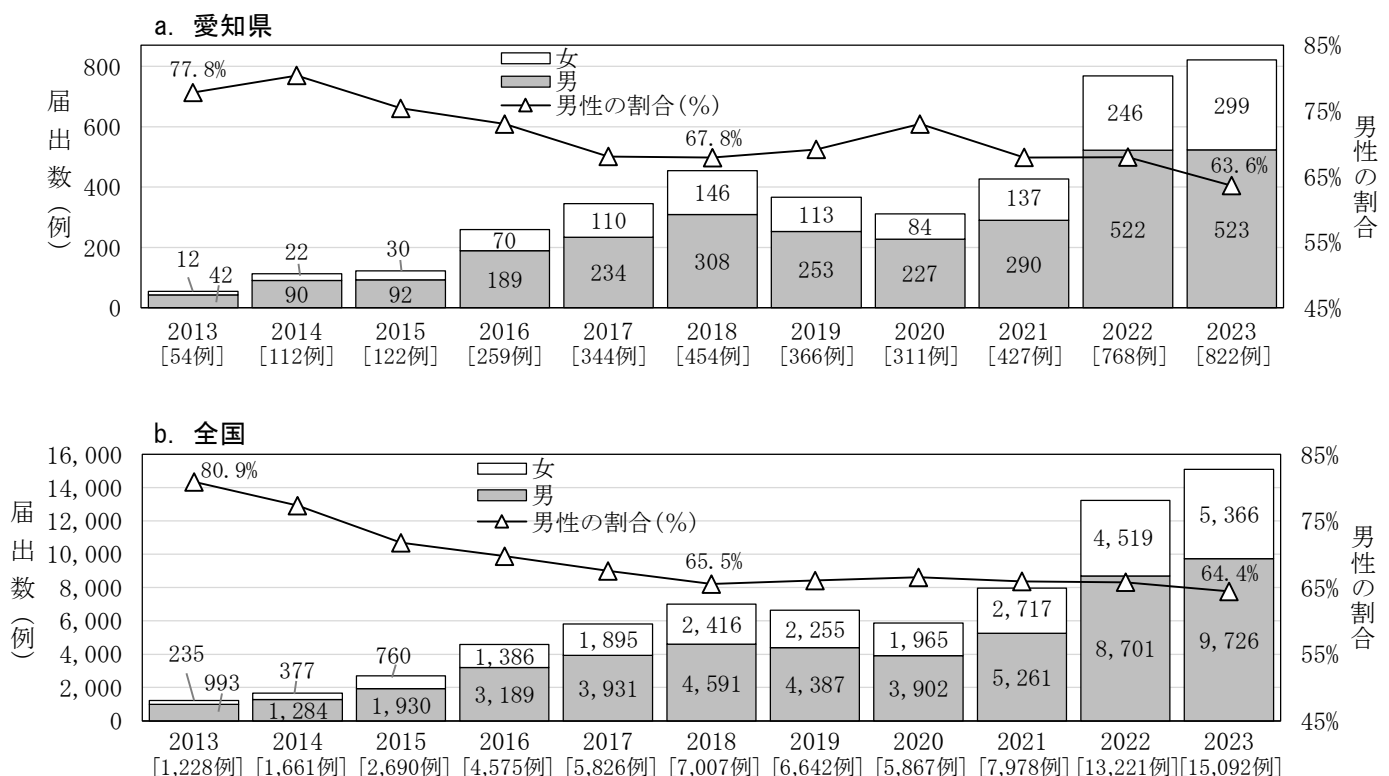


図 1 梅毒の男女別届出数の年次推移

なり、2018 年（454 例）をピークに一時的に減少傾向がみられたが、2021 年（427 例）から再び増加に転じ、2023 年は 822 例となっていた。全国においても、同様の増加傾向がみられた。

届出に占める男性の割合は、2013～2018 年は漸減傾向がみられ、2013 年は愛知県 77.8%、全国 80.9%であったところ、2018 年は愛知県 67.8%、全国 65.5%であった。2018 年以降は、ばらつきはあるが概ね横ばいの傾向がみられ、2023 年は愛知県 63.6%、全国 64.4%であった。

2. 病型別届出数

愛知県における先天梅毒の届出数は、2013 年から 2022 年まで年間 0～2 例であったとこ

ろ、2023 年は 7 例であった（表 1）。

図 2 に、先天梅毒を除く愛知県の梅毒症例の病型別届出数を示す。男性では早期顕症梅毒の割合が特に高く、2016 年以降は各年 71.4～81.6%を占めていた。症例数が 500 件以上となった 2022 年、2023 年においてもこの傾向が継続していた。女性では、無症候（無症状病原体保有者）と早期顕症梅毒の割合が共に高かった。2017～2020 年は無症候の割合（各年 51.2～54.8%）のほうが早期顕症梅毒の割合（各年 41.8～47.6%）より高かったが、2021～2023 年は逆転し、無症候の割合（各年 39.5～42.6%）のほうが早期顕症梅毒の割合（各年 56.6～60.2%）より低かった。

表 1 愛知県における先天梅毒の届出数

年	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	2022	2023
届出数(例)	0	0	1	0	1	0	1	0	2	1	7

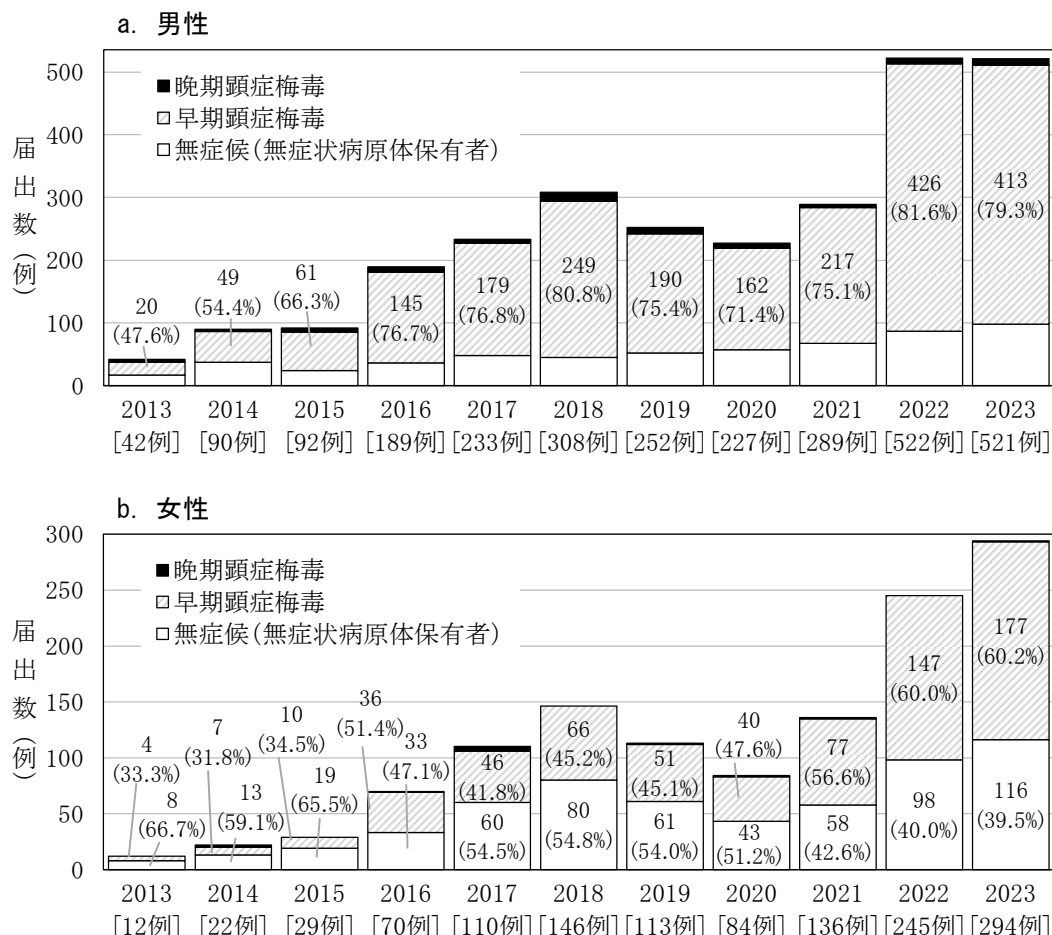


図 2 愛知県における梅毒の病型別届出数（先天梅毒を除く）

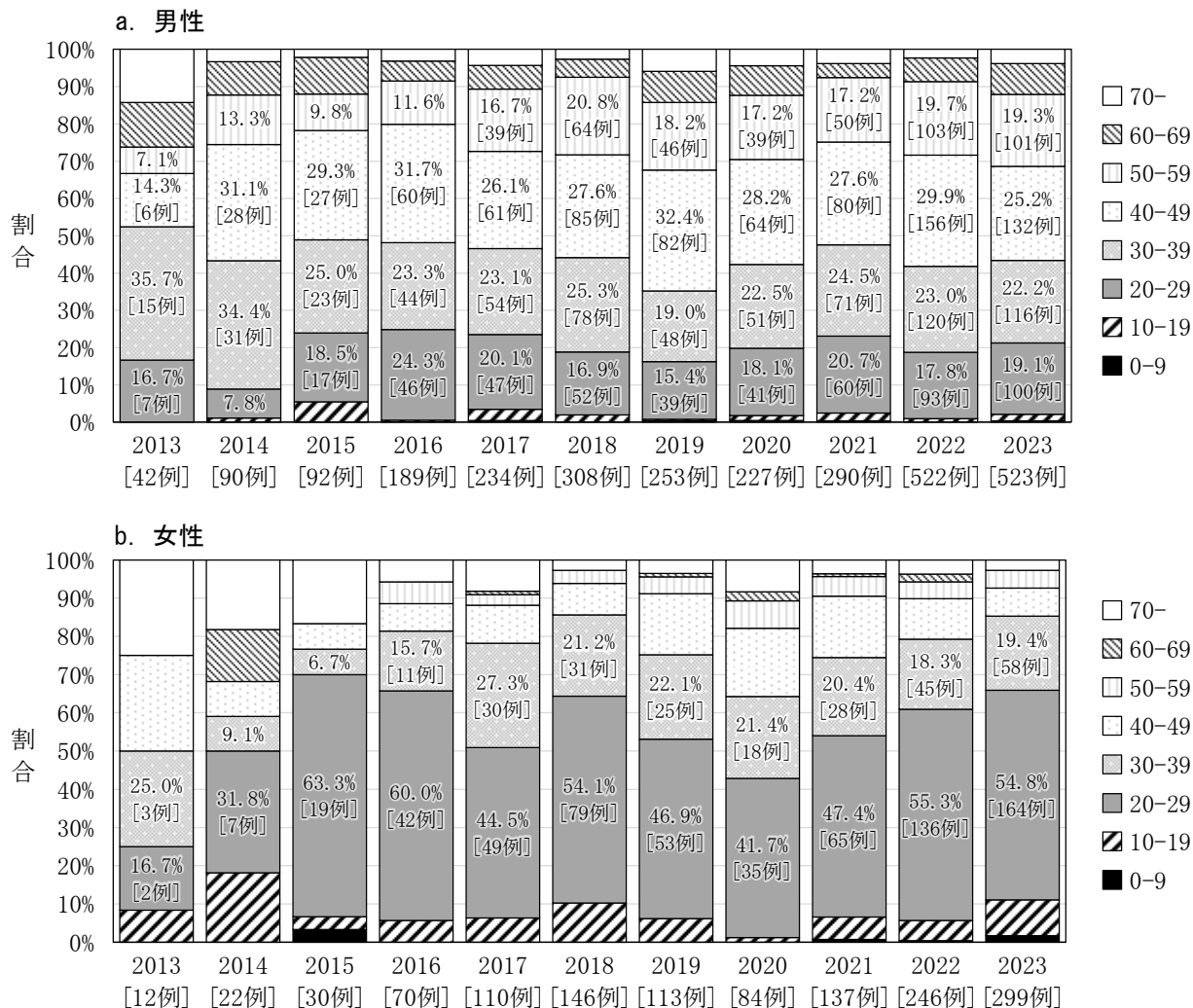


図3 愛知県における梅毒の年齢階層別割合

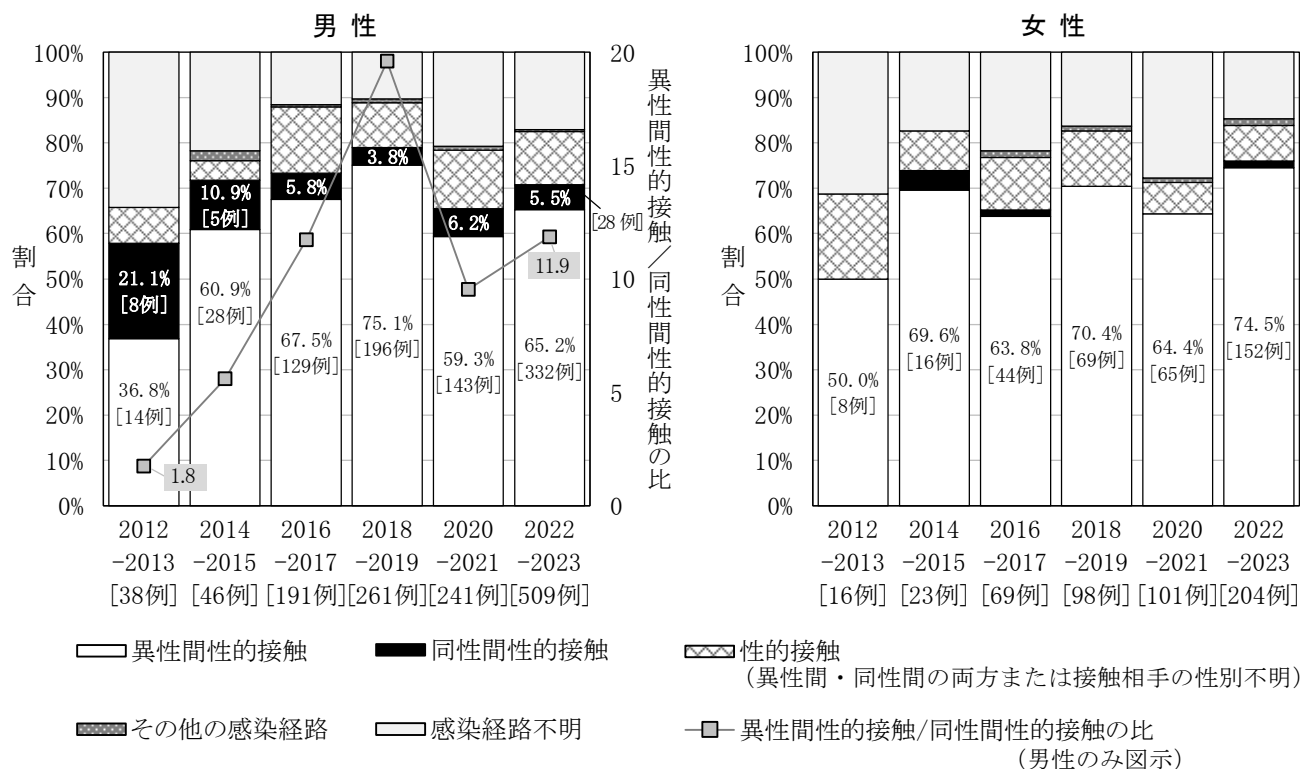


図4 愛知県における梅毒の感染経路別割合
(名古屋市を除く)

3. 年齢層別割合

愛知県における梅毒の届出症例の年齢層別割合について、2013～2023年のデータを図3に示す。

男性では、20代から50代まで幅広い年齢層において届出があった。

女性では、2015年以降は20代の症例が突出して多く各年4割以上を占めており、5割を超える年も多かった。次に割合が高い年齢層は、2016年以降は30代で、各年15.7～27.3%を占めていた。なお、10代の症例については、大半が15～19歳の症例であった(2013～2023年の10代女性の症例は89例、うち86例が15～19歳の症例。データ図示せず)。

4. 感染経路別割合

愛知県(名古屋市を除く)における梅毒の届出症例の感染経路別割合について、2012～2023年のデータ(2年ごとに集計)を図4に

示す。

男女とも2014～2015年以降は異性間性的接触による感染症例の割合が高く、59.3～75.1%であった。男性の感染経路における異性間性的接触/同性間性的接触の比率については、ばらつきはあるが概ね漸増傾向がみられ、2012～2013年は1.8(14例/8例)であったところ、2022～2023年は11.9(332例/28例)であった。

5. 性風俗産業の利用歴及び従事歴

愛知県(名古屋市を除く)の梅毒の届出症例における性風俗産業の利用歴及び従事歴(いずれも直近6ヵ月以内)について、届出項目に追加された2019年から2023年までのデータを図5、図6に示す。

利用歴が「有」の症例は、男性では各年35.4～55.1%、女性では各年0.0～2.2%であった。

従事歴が「有」の症例は、男性では各年0.9～2.8%、女性では各年14.6～19.1%であった。

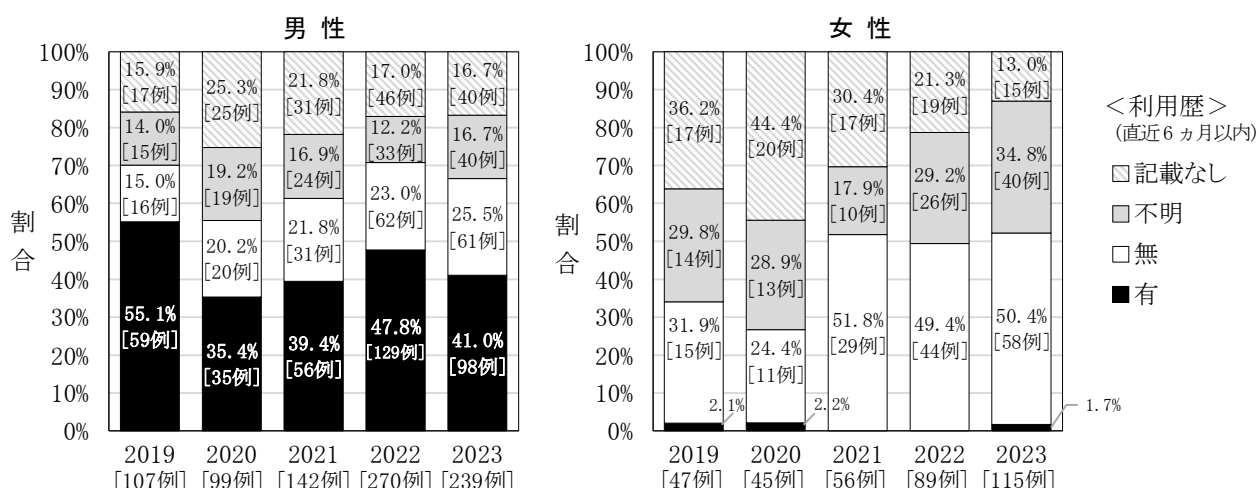


図5 愛知県における梅毒の性風俗産業利用歴別割合(名古屋市を除く)

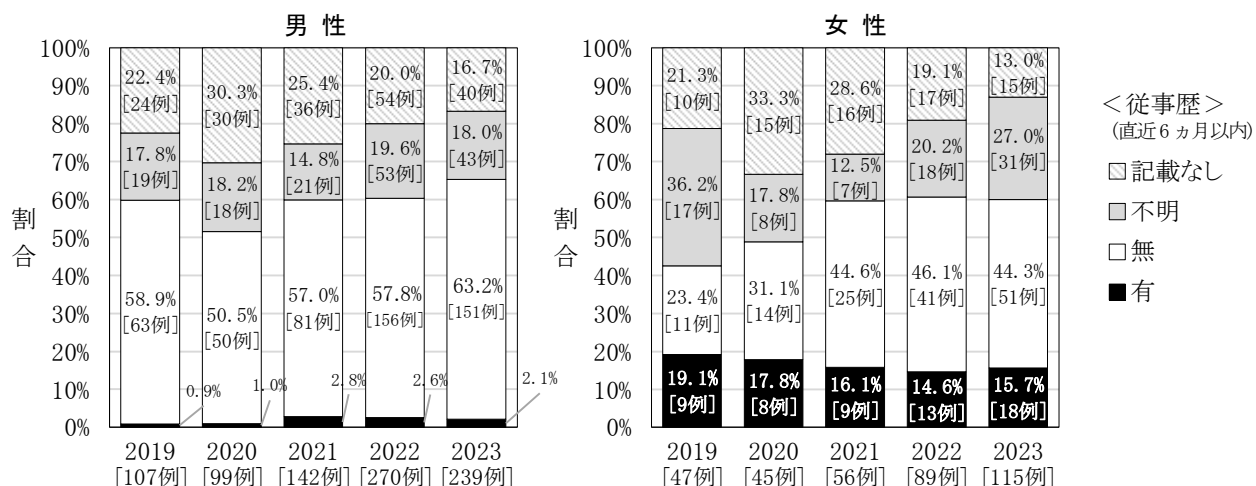


図6 愛知県における梅毒の性風俗産業従事歴別割合(名古屋市を除く)

表 2 愛知県における梅毒の妊娠症例数（名古屋市を除く）

年	2019	2020	2021	2022	2023	合計
妊娠症例数	9	5	6	6	19	45
女性症例数（全年齢）	113	84	137	246	299	879
女性症例に占める妊娠症例の割合	8.0%	6.0%	4.4%	2.4%	6.4%	5.1%

6. 妊娠症例

妊娠の有無が届出項目に追加された 2019 年から 2023 年までの、愛知県（名古屋市を除く）におけるデータを解析した。

（a）妊娠症例数及び妊娠週数

期間中の女性症例 879 例のうち、妊娠症例は 45 例（5.1%）であった（表 2）。妊娠症例の届出は毎年みられ、2023 年は 19 例と最多であった。

妊娠期別にみると、妊娠初期（0～13 週）の診断例が 25 例/45 例（55.6%）、妊娠中期のうち 15 週まで（14～15 週）の診断例が 7 例/45 例（15.6%）と、7 割以上が妊娠週数 15 週までに診断されていた（表 3）。また、妊娠後期（28 週以降）に診断された症例は 6 例/45 例（13.3%）であった。

（b）病型（図 7）

妊娠症例では無症候の割合が 84.4%（38 例/45 例）と、非妊娠症例の 26.4%（61 例/231 例）と比較して有意に高かった（ $p<0.01$ ）。

（c）年齢層（図 8）

妊娠症例の年齢は、非妊娠症例の定義に用いた年齢範囲（15～44 歳）に収まっており、20～24 歳（33.3%）、30～34 歳（31.1%）、25～29 歳（22.2%）の割合が高かった。非妊娠症例と比較すると、15～19 歳、20～24 歳、25～29 歳の割合はほとんど同じであったが、非妊娠症例では 30～34 歳の割合が 15.2%と妊娠症例より有意に低かった（ $p<0.05$ ）。

（d）性風俗産業の従事歴（図 9）

性風俗産業従事歴（直近 6 ヶ月以内）が「有」であった症例の割合は、妊娠症例では 13.3%（6 例/45 例）と、非妊娠症例の 19.5%（45 例/231 例）と比較して低かったが、有意な差はなかった（ $p>0.05$ ）。なお、従事歴の有無が分からない症例（「不明」または「記載なし」）の割合については、妊娠症例が 55.6%（25 例/45 例）と非妊娠症例の 35.9%（83 例/231 例）より有意に高かった（ $p<0.05$ ）。

表 3 愛知県の梅毒の妊娠症例における診断時妊娠期別割合（2019-2023 年、名古屋市を除く）

妊娠期	届出数	（割合）
初期（0-13 週）	25	（55.6%）
中期（14-15 週）	7	（15.6%）
中期（16-27 週）	5	（11.1%）
後期（28-35 週）	5	（11.1%）
後期（36 週-）	1	（2.2%）
不明	2	（4.4%）
合計	45	（100.0%）

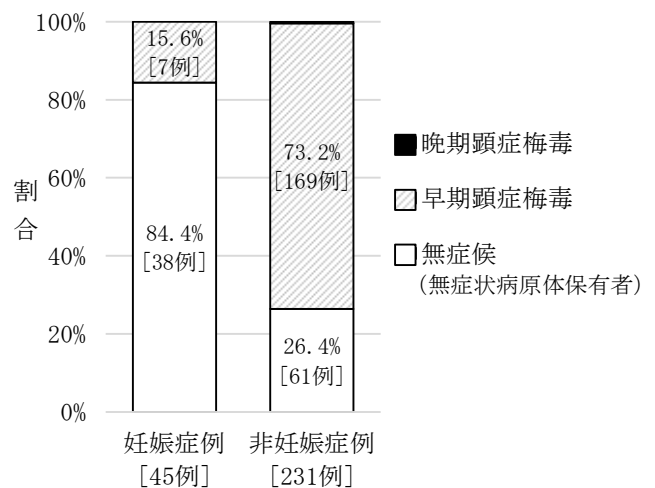


図 7 愛知県における梅毒の妊娠症例及び非妊娠症例（15～44 歳）の病型別割合（2019-2023 年、名古屋市を除く）

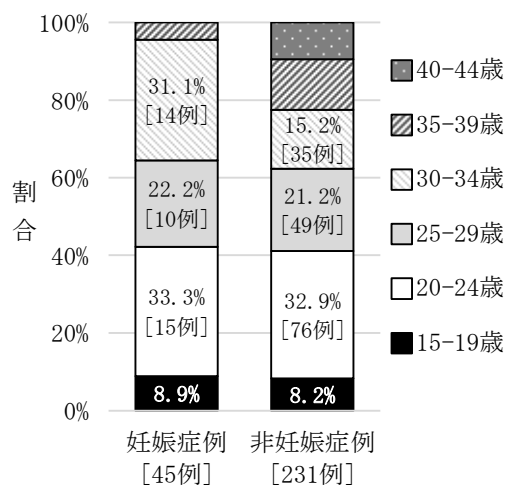


図 8 愛知県における梅毒の妊娠症例及び非妊娠症例（15～44 歳）の年齢層別割合（2019-2023 年、名古屋市を除く）

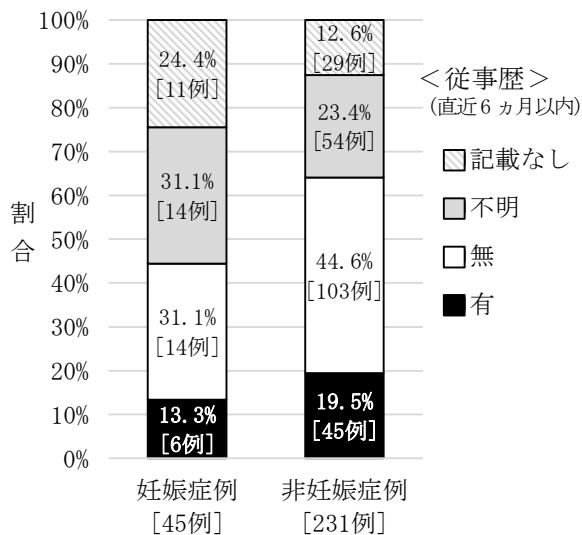


図9 愛知県における梅毒の妊娠症例及び非妊娠症例（15～44歳）の性風俗産業従事歴別割合（2019～2023年、名古屋市を除く）

考 察

梅毒の届出数は、愛知県においても急増しており、2023年は822例と感染症法施行以来最多¹²⁾となった。サーベイランス上の届出数増加については、啓発による検査数の増加等により感染者が診断されやすくなったことによる見かけ上の増加を考慮する必要があるが、本稿では感染早期の患者動向を反映する早期顕症梅毒が男女ともに大半を占めていたこと、特に女性では早期顕症梅毒の割合が近年増加していたこと、更に受診行動や検査方針等の影響を受けにくい先天梅毒の届出数も2023年は7例（出生10万人当たり14.5）⁴⁾と感染症法施行以来最も多かった¹²⁾ことから、最近新規に感染した症例による真の増加であると考えられた。

全国及び愛知県において、症例における男性の割合の漸減傾向、つまり女性の割合の増加傾向が確認されたが、この要因として、異性間性的接触による感染機会の増加が考えられる。全国では、男性において2015年から異性間性的接触による感染症例数が同性間性的接触による感染症例数を上回り、その後男女ともに異性間性的接触による感染症例の増加が顕著になったことが報告さ

れている¹³⁾。本稿においても、男性症例の感染経路における異性間性的接触/同性間性的接触の比率は漸増傾向がみられ、これが異性間性的接触による感染を主とする女性症例の増加に関連していることが推測される。男性では性風俗産業の利用歴が「有」である症例の割合が各年4割前後と高く、女性では従事歴が「有」である症例が各年1～2割を占めていたことから、異性間性的接触による感染増加と性風俗産業との関連も推測される。

女性症例において、近年は20代、30代の年齢層の割合が高かった。このような年代の女性症例の増加に伴い懸念されるのは、妊婦の感染増加、ひいては先天梅毒の増加である。本稿における愛知県（名古屋市を除く）の妊娠症例数は、妊娠の有無が届出項目となった2019年以降、2023年が最も多かった。妊娠症例では無症候の割合が8割以上と高かったこと、妊娠週数15週までに診断されていた例が7割以上であったことから、通常妊娠初期に行う妊婦健診の初期スクリーニング検査により発見された症例が多いことが推測された。一方で、妊娠後期に診断された症例も1割以上存在していた。感染した妊婦が適切な抗菌薬治療を受けることで母子感染のリスクを下げることができるため^{14, 15)}、啓発等による早期の診断治療が望まれる。

ところで、本稿においては性風俗産業の従事歴について妊娠症例と非妊娠症例に有意な差は見られなかったが、全国においては非妊娠症例について従事歴「有」である症例の割合が高く、妊娠症例の2倍以上であったと報告されている²⁾。一方で「性風俗産業の従事歴の情報が確認できた割合」について妊娠症例のほうが低い傾向も指摘されており²⁾、本稿においても同様の傾向が確認できた。従事歴の有無の情報は患者への聞き取り調査によるものであり、妊娠症例においては妊婦への配慮等から調査が困難であることが多い可能性も考えられ、データの解釈には注意を要すると考えられる。

妊娠症例に限らず、性風俗産業の従事歴・利用歴、感染経路等の情報は基本的に症例

からの聴取に基づくものである点に留意が必要であるが、これらの疫学情報は感染状況の実態を把握するにあたって貴重な情報である。梅毒の届出状況を継続的に監視し、その疫学的特徴を把握することで、効果的な予防啓発の取り組みへと繋がる知見を得られることが期待される。

謝 辞

県内各医療機関、愛知県並びに名古屋市、豊橋市、岡崎市、一宮市、豊田市保健所、愛知県感染症対策課の皆様に深謝いたします。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所：梅毒とは. <https://www.niid.go.jp/niid/ja/diseases/ha/syphilis/392-encyclopedia/465-syphilis-info.html> (2024 年 11 月 20 日閲覧)
- 2) 国立感染症研究所：感染症発生動向調査に基づく妊娠中の女性における梅毒の届出、2022～2023 年. 2024 年 1 月 5 日現在. <https://www.niid.go.jp/niid/ja/syphilis-m-3/syphilis-idwrs/12628-syphilis-20240411.html> (2024 年 11 月 22 日閲覧)
- 3) 国立感染症研究所：日本の梅毒症例の動向について(2024 年第 1 四半期：2024 年 4 月 3 日現在). <https://www.niid.go.jp/niid/images/epi/syphilis/2024q1/syphilis2024q1.pdf> (2024 年 11 月 22 日閲覧)
- 4) 厚生労働省：人口動態統計（確定数）出生 上巻 4-3 都道府県別にみた年次別出生数 年次 2023 年. <https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?page=1&toukei=00450011&tstat=000001028897> (2024 年 11 月 22 日閲覧)
- 5) 村井晋平、山岸拓也、島田智恵、砂川富正、笠松亜由、高橋琢理、鈴木 基、明田幸宏：近年の高所得国における梅毒と先天梅毒の発生動向について. 病原微生物検出情報 44:201-203, 2023.
- 6) Centers for Disease Control and Prevention: National Overview of STIs in 2023. <https://www.cdc.gov/sti-statistics/annual/summary.html> (2024 年 11 月 18 日閲覧)
- 7) European Centre for Disease Prevention and Control: Syphilis – Annual Epidemiological Report 2022. <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/syphilis-annual-epidemiological-report-2022> (2024 年 11 月 22 日閲覧)
- 8) Australian Government, Department of Health and Aged Care: National syphilis surveillance quarterly report - April to June 2024. <https://www.health.gov.au/resources/publications/national-syphilis-surveillance-quarterly-report-april-to-june-2024> (2024 年 11 月 22 日閲覧)
- 9) Centers for Disease Control and Prevention: Sexually Transmitted Disease Surveillance 2019.
- 10) Centers for Disease Control and Prevention: Sexually Transmitted Disease Surveillance 2021.
- 11) World Health Organization: Elimination of Mother-to-Child Transmission of HIV, Syphilis and Hepatitis B Virus. 2021.
- 12) 国立感染症研究所：感染症発生動向調査事業年報. <https://www.niid.go.jp/niid/ja/allarticles/surveillance/2270-idwr/nenpou/12553-idwr-nenpo2022.html> (2024 年 11 月 22 日閲覧)
- 13) 国立感染症研究所：梅毒 2023 年現在. 病原微生物検出情報 44:187-189, 2023.
- 14) Cooper JM, Sánchez PJ: Congenital syphilis. Seminars in Perinatology 42(3): 176-184, 2018.
- 15) Nishijima T, Kawana K, Fukasawa I, Ishikawa N, Taylor MM, Mikamo H, Kato K, Kitawaki J, Fujii T: Effectiveness and Tolerability of Oral Amoxicillin in Pregnant Women with Active Syphilis, Japan, 2010-2018. Emerging Infectious Diseases 26(6):1192-1200, 2020.

Epidemiological Trends of Syphilis in Aichi Prefecture, as of 2023.

Mizuna Nakamura, Aya Shiotani, Yuki Asai, Ruriko Naruse,
Takashi Goto, Mineo Hirata, Makoto Oguri

In response to the rapid increase in reported syphilis cases in Japan, we conducted an analysis of syphilis incidence trends in Aichi Prefecture. The number of notified syphilis cases in Aichi Prefecture has also surged, reaching a record high of 822 cases in 2023, since the enactment of the Infectious Disease Control Law. The number of congenital syphilis cases also peaked at 7 in 2023, the highest since the law's enforcement. Both male and female cases showed a high proportion of early symptomatic syphilis. Male cases spanned a wide age range from their 20s to their 50s, while female cases were predominantly in their 20s and 30s. Approximately 40% of male cases had a history of utilizing the sex industry, and 10-20% of female cases had a history of working in the sex industry, suggesting a potential link between the sex industry and the increase in syphilis cases. Since the inclusion of pregnancy status as a reporting item in 2019, pregnant cases have been reported annually, with a peak of 19 cases in 2023. Over 70% of these pregnant cases were diagnosed by the 15th week of gestation, while more than 10% were diagnosed in the late stages of pregnancy (28 weeks or later).

Key words : syphilis, infectious disease surveillance, sexually transmitted infection

調 査 研 究

愛知県衛生研究所における 新型コロナウイルス感染症に対する検査対応

安井善宏、佐藤克彦、小栗 信

要 旨

2019 年 12 月に中国湖北省武漢市で初めて患者が確認された新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) は、短期間のうちに世界中に拡大した。

愛知県衛生研究所 (当所) では、COVID-19 国内発生当初から病因ウイルスである新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の PCR 検査を実施した。その後、遺伝子検査キットや抗原検査キットが開発されると、SARS-CoV-2 検査は医療機関や民間検査機関でも実施されるようになった。SARS-CoV-2 変異株であるアルファ株が報告されると、従来の SARS-CoV-2 検査に加え、このような変異株の遺伝子検査も当所において重要な検査となった。その後も次々と新たな変異株が出現したため、点変異を検出する遺伝子検査法では対応が困難となり、変異株の解析は SARS-CoV-2 の全ゲノムを解析する方法へとシフトした。

本稿では、COVID-19 発生以降、当所における SARS-CoV-2 検査対応の状況を記述し、今後の健康危機に対応するための課題について取りまとめた。

キーワード：COVID-19、SARS-CoV-2、PCR 検査、ゲノム解析

序 文

2019 年 12 月 31 日中国湖北省武漢市において病因不明の肺炎事例が世界保健機関 (WHO) 中国事務所へ報告された¹⁾。翌 2020 年 1 月 6 日には厚生労働省から、同肺炎に関する注意喚起が行われた²⁾。1 月 9 日には WHO が武漢市内での肺炎の集団発生と新種のコロナウイルスとの関連に言及した³⁾。そのような状況の中、国内では 1 月 16 日に武漢市に渡航歴のある最初の COVID-19 感染者が報告され⁴⁾、愛知県内では 1 月 26 日に中国渡航者のある初発感染者が確認された。県内在住者に感染が確認されたのは 2 月 14 日で、これ以降、感染者の全数把握が行われた 2023 年 5 月 8 日 (報告分) までに 8 回の流行波を経て、200 万人を超える感染

者が確認された⁵⁾。定点把握に移行後も、夏と冬に 2 回の流行波が確認されている⁶⁾。当所では新規感染者の PCR 検査に始まり、変異株の出現時には変異株解析を行った。更には次世代シーケンサーを用いて、SARS-CoV-2 の全ゲノムを解析し、その時々流行している変異株を把握した。今回、当所の SARS-CoV-2 検査対応について概要を記述するとともに、次の新興・再興感染症における検査体制や健康危機管理対応への課題について報告する。

方 法

県内で COVID-19 の患者が発生した 2020 年から感染者の全数把握が行われた 2023 年 5 月までの間、当所の検査体制の推移等

（検査機器等の増設、検査人員の増強）を中心に、県内の流行状況に応じてどのように対応したのかを記述し検証した。

結 果

1) 初期対応【2020年1月～3月】

国立感染症研究所（感染研）では、SARS-CoV-2 の全ゲノム配列の公表後直ちに、遺伝子検査系を確立し、2020年1月22日、地方衛生研究所（地衛研）に向けて、コンベンショナル PCR の検査マニュアルとプライマーを配布した⁷⁾。当所ではプライマーの到着後1週間程度で検査系を整備し、1月30日から検査を開始した。1月29日には感染研からリアルタイム PCR 検査試薬が配布されたため⁷⁾、当所では、2月4日からリアルタイム PCR で検査を行うように変更した。2月16日に当所で初めての陽性確定例を検出し、以降はアメリカやヨーロッパからの帰国者や県外に端を発するクラスターでの感染事例、濃厚接触者等の検査に対応した。この時期はリアルタイム PCR 機器1台、ウイルス研究室員6名体制（他受付等1名）で、検査対象は主に新規感染者の確定検査及び入院患者の陰性確認検査であった。検査手順の見直しや検査項目を限定することで、3月末には、120件/日の検査能力（3月は平均74件/日）に整備した。

2) PCR 検査体制の強化

COVID-19 は2020年1月28日に令和2年政令第11号により、「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（感染症法）」の指定感染症に指定された⁸⁾。これを受けて、COVID-19 の届出基準が示された⁹⁾。届出基準では患者の全例に検査診断が必要で、検査方法は感染研が示した方法しかなかったため、発生初期は名古屋市を除く県内の医療機関から提出された検体の大半を当所が検査していた。その後、愛知県新型コロナウイルス感染症拡大予防対策指針が策定され、保健所設置市（中核市）、民間検査機関、医療機関、PCR 検査センター等の協力により、県全体の検査可能件数は増加していった。当所においても図1に示

すように2020年12月には520件/日の検査が可能となった。しかしながら、感染者は増加する一方で、12月22日に行政検査の一部を愛知医科大学と藤田医科大学へ業務委託した。

・人員増強と研修

検査能力の増強のため、ウイルス研究室員以外にも検査職員を段階的に増員し、研修により実践可能とした。2020年4月から5月にかけて10名の増員（所内他部2、保健所4、食品監視・検査センター2、農業水産局2）が行われ、図1に示すように、16名2班での検査体制を確立した。その後、8名の増員を得て、10月には24名3班に、2021年1月末には検査32名（ウイルス研究室6、所内他部15、保健所7、農業水産局4）と受付対応13名（所内部室長等、農林基盤局1）の全所体制で検査に臨んだ。

・検査機器の増設

2020年3月ごろは、世界的に流行が起っており、検査機器も品薄になっていたが、リアルタイム PCR 装置、高速冷却遠心機、核酸自動抽出装置（各1台）が増設できた。その後、6月にリアルタイム PCR 装置3台を増設した。これにより、検査能力が大きく上昇した。9月末には共同研究室を病原体が使用可能な実験室として改修し、安全キャビネット、高速冷却遠心機、核酸自動抽出装置（各2台）を整備した。11月末には旧ジャニーズ事務所からリアルタイム PCR 装置の寄贈を受け、12月頃には520件/日の検査能力が整った（図1）。

・検査試薬

検査開始時は感染研から示された方法で検査を行っていたが、検査試薬の一部が外国製品であったため、世界的なパンデミックによる試薬の争奪戦が起こり、検査試薬の調達が困難になっていた。2020年3月18日には、臨床検体を用いた評価結果が感染研の方法と一致した試薬は行政検査に使用できるという事務連絡が発せられ¹⁰⁾、当所においても7月9日から検査試薬にメー

カーが提案する研究用試薬（タカラバイオ株式会社 Takara SARS-CoV-2 Direct Detection RT-qPCR Kit）を導入した。その後、8月31日には、行政検査に使用する試薬は薬事承認を必要とするとされたことから¹¹⁾、2021年4月26日から当所では新しい体外診断用医薬品（タカラバイオ株式会社 Takara SARS-CoV-2 ダイレクトPCR検出キット）の導入を始めた。タカラバイオ株式会社の検査試薬はRNA抽出のステップを省略することが可能であり、検査時間が短縮された。

2021年4月以降は、他所属の増員職員の代わりに、ウイルス研究室員単年度仮配9名（うち1名は年度会計職員）を増員して対応した。その後は医療機関等において抗

原検査（定量法・定性法）が普及するに従い核酸検査法であるPCR検査の需要は減少した。また、流行規模が大きくなり全数の把握が困難になると、2022年6月30日にCOVID-19発生届出の届出事項が簡略化され¹²⁾、8月25日に届出を要する患者を限定して陽性者数のみが把握されるようになった¹³⁾。これらのことから当所において患者を確定するために行われるPCR検査の数は大きく減少した（図2）。

2022年4月以降は、単年度仮配4名減となり、2023年4月以降、仮配は1名になった。5月8日以降はCOVID-19が5類定点把握疾患となり¹⁴⁾、当所におけるPCR検査の需要はなくなった。

2020年	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
検査能力	120件/日	280件/日	320件/日	480件/日	520件/日					
人員増強	6名1班	16名2班					24名3班	総勢45名		
検査機器整備	PCR装置1台	PCR装置3台					検査室の増設	PCR装置1台		
検査試薬	感染研法	Takara試薬								

図1 PCR検査体制の推移

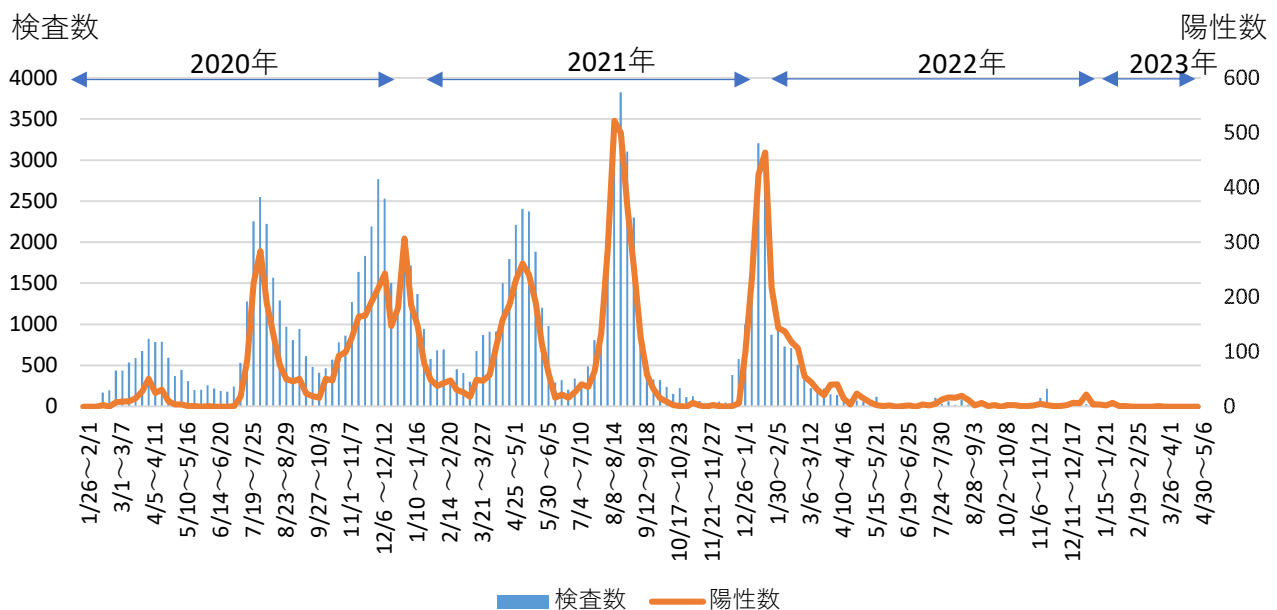


図2 PCR検査実施数と陽性者数（週別）

3) 変異株スクリーニング検査とゲノム解析

2020 年 12 月にはイギリスにおいて、SARS-CoV-2 のスパイクタンパク質の N501Y 変異と 69、70 番目のアミノ酸欠損(del 69-70)を持ち、感染力が強いとされたアルファ株(B.1.1.7 系統)が報告された¹⁵⁾。これ以降、感染力も強く免疫逃避能を有する株とされたベータ株(B.1.351 系統)、ガンマ株(P.1 系統)など、感染性や伝播性の増加や抗原性の変化がみられる「懸念すべき変異株(Variant of Concern: VOC)」が各国から報告されるようになった。国内において VOC が検出されるようになると、2021 年 2 月 5 日に、地衛研において変異株を把握する(管内新規陽性者の 5~10%) 変異株スクリーニング検査が始まった¹⁶⁾。当所においても 2 月 15 日からアルファ株を検出するために N501Y スクリーニングを始めた(図 3)。国内で VOC の検出が増加し始めると、管内新規陽性者の 40%までスクリーニングすることが求められた。このスクリーニングの結果、県内流行第 4 波では、アルファ株主流となっていることが分かった¹⁷⁾。世界中でデルタ株が流行し始めると、6 月 4 日に、スクリーニング方法が L452R へ変更された¹⁸⁾。以降、当所ではこのスクリーニングを続け、県内流行第 5 波ではデ

ルタ株が、同第 6 波ではオミクロン株が主流となっていることを示唆した¹⁷⁾。オミクロン株がいくつかの系統に分れてくると、当所では独自に T547K スクリーニングを導入し、BA.1 系統や BA.2 系統を分類することに利用した。第 6 波では流行の波が大きくなり、L452R 変異スクリーニングの利用が増えたため、2022 年 2 月にスクリーニング用にリアルタイム PCR 装置を増設した。

VOC の種類が増えてくると、スパイクタンパク質の点変異だけで変異株を推定することは難しくなった。そのためウイルスの全ゲノムを解読する必要が生じた。2021 年 6 月 17 日には、変異株スクリーニング検査の結果に関わらず、管内新規陽性者の 5~10%にゲノム解析を実施するよう要請があった¹⁹⁾。当所では 6 月 18 日に次世代シーケンサー(NGS)を導入したところだったため、当所での解析が可能になるまで感染研にゲノム解析を依頼した。操作研修などを経て、7 月 26 日から NGS を稼働させた。開始当初は週当たり 20 件程度の解析能力であったが、2022 年の流行第 6 波では PCR 検査要員をゲノム解析へ配置換えすることで 80 件/週の解析にも対応した(図 3)。第 6 波以降、当所における新規陽性者を確認するための PCR 検査数が減少したため、管

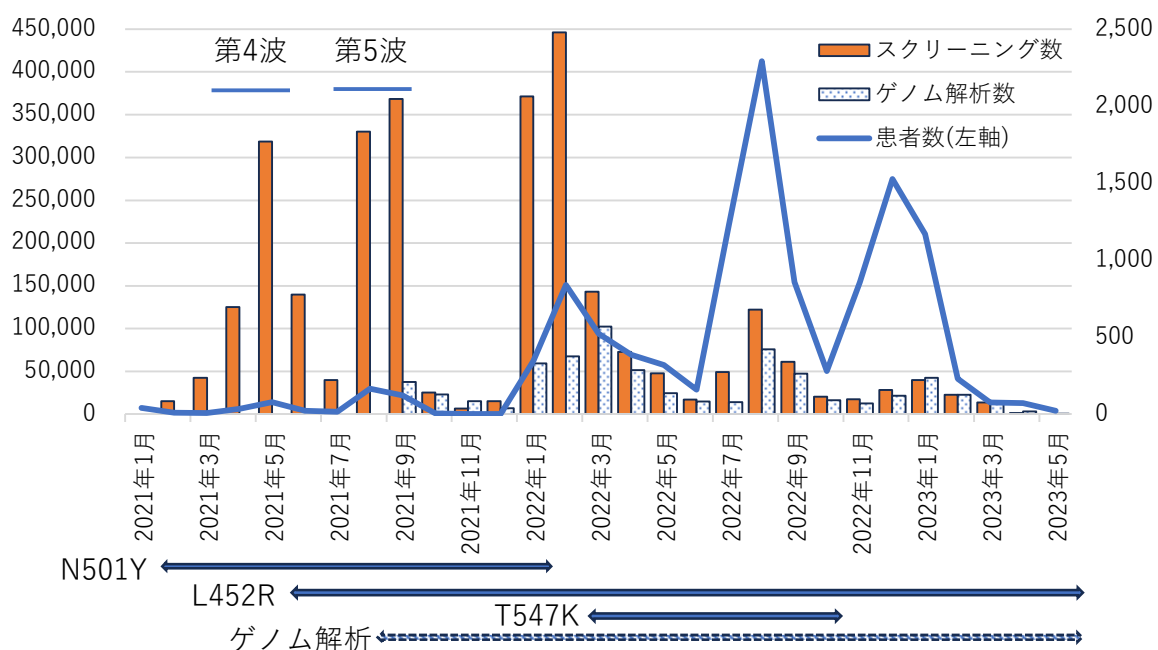


図3 変異株スクリーニング検査とゲノム解析

内医療機関に陽性検体の提出を依頼し、ゲノム解析を継続した。当所で解析した各流行波における VOC の推移は鈴木ら¹⁷⁾の所報に示した。

考 察

COVID-19 の対策が今までの当所における感染症対策と最も異なった点は、1 日当たりの核酸検査数を常に問われたことである。当所では感染研から検査試薬を受領して、1 週間程度で PCR 検査系を構築し、その後 2 か月で 120 件/日の検査能力を整備した。これ以降も検査機器の増設、人員の確保と研修による育成によって、1 年後に 520 件/日の検査能力まで強化した。これには 2009 年新型インフルエンザの流行を経験していたことが大きかった。当時も 10 日程度で PCR 検査系を立ち上げて対応したが、検査数は最大でも 100 件/週であり²⁰⁾、今回の COVID-19 の対応は PCR 検査では過去最大の検査数であった。元々当所では希少感染症の行政検査に対応する規模の人員配置や機器の整備状況であった。そこで、COVID-19 流行初期においては、早急に検査数を増やす必要があった。1 日 1000 件の PCR 検査が可能なロシュ社の cobas®の導入が検討されたが、当所規模の衛生研究所での運用は難しく見送られることになった。また、抗原検査キットや体外診断用医薬品の開発により医療機関等での検査が主流²¹⁾になっていた 2022 年 3 月 23 日に、公的機関での検査能力を倍増するという事務連絡が発せられたが²²⁾、翌月から単年度仮配 4 名減となった当所においては事実上、対応は困難であった。

2024 年 3 月に策定した当所健康危機対処計画には、COVID-19 時に対応した最大検査能力（520 件/日）を、検査系が確立されてから 1 か月以内に整備することが記載された。COVID-19 対応時に 1 年かかったことを 1 か月で行うにはいくつかの課題がある。検査機器に関しては、現在整備されたところであるが、毎年メンテナンス費用や今後の機器更新費用は台数が増えた分だけ余分に準備する必要がある。検査人員につい

ては、COVID-19 前に戻っているため、緊急時にすぐ対応できるよう常に訓練された人員を確保しておく必要がある。検査試薬については、国際的なパンデミック時には争奪戦となり、確保が難しくなったことから、備蓄しておく必要がある。どの程度の量をどのくらい確保しておくのか、今後、検討が必要である。当所では危機管理対策委員会を立ち上げ、次のパンデミック時に最大検査能力を発揮できるように準備を始めている。

PCR 検査に並んで今までの感染症対策と異なった点は、ウイルス変異株のリアルタイムなモニタリングが求められた点である。従来はウイルス分離し、部分塩基配列や血清疫学により変異株の動向を調査していた。ところが、COVID-19 時には世界的に全ゲノム配列によるモニタリングが行われたことから、多くの地衛研で NGS が導入され、全ゲノム配列を解析して 1 週間ごとに報告することとなった。新しく導入された全ゲノム解析ではあるが、やはり解析数が求められた。今後、このような新しい技術を利用して早期に変異株を発見することも地衛研の役割となるであろう。いかに技術を継承し、十分に活用していくかが、大きな課題である。

謝 辞

本研究の対象期間に衛生研究所において、PCR 検査及び検査受付に従事した職員の皆様に感謝申し上げます。本稿においては衛生研究所の機能強化について述べましたが、検査に至るまでに尽力いただきました、関係医療機関、県内保健所、農業水産局、農林基盤局及び本庁関係各所の諸氏に感謝申し上げます。また、ゲノム解析にご支援いただきました名古屋市衛生研究所、藤田医科大学、国立感染症研究所の先生方に感謝申し上げます。

文 献

- 1) WHO: Disease Outbreak News. Pneumonia of unknown cause - China. <https://www.who.int/csr/don/05-january-2020->

- pneumonia-of-unkown-cause-china/en/
(2024年12月10日閲覧)
- 2) 厚生労働省：中華人民共和国湖北省武漢市における原因不明肺炎の発生について.
https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_08767.html (2024年12月10日閲覧)
- 3) WHO: WHO Statement regarding cluster of pneumonia cases in Wuhan, China.
<https://www.who.int/china/news/detail/09-01-2020-who-statement-regarding-cluster-of-pneumonia-cases-in-wuhan-china> (2024年12月10日閲覧)
- 4) 厚生労働省：新型コロナウイルスに関連した肺炎の患者の発生について (1例目).
https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_08906.html (2024年12月10日閲覧)
- 5) 愛知県：愛知県の感染者の症状別状況.
<https://www.pref.aichi.jp/uploaded/attachment/461013.pdf>
- 6) 愛知県：新型コロナウイルス感染者の状況について. 新型コロナウイルス感染症定点当たり報告数推移. <https://www.pref.aichi.jp/uploaded/attachment/509318.pdf>
- 7) 国立感染症研究所：新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) PCR 検査法の開発と支援の状況について. <https://www.niid.go.jp/niid/ja/others/9478-covid19-16.html> (2024年12月10日閲覧)
- 8) 厚生労働省：新型コロナウイルス感染症を指定感染症として定める等の政令等の施行について. <https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/000589747.pdf>
- 9) 厚生労働省：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第12条第1項及び第14条第2項に基づく届出の基準等について (一部改正). <https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/000592718.pdf>
- 10) 厚生労働省：新型コロナウイルスに関する行政検査の遺伝子検査方法について.
<https://www.mhlw.go.jp/content/000609903.pdf>
- 11) 厚生労働省：新型コロナウイルスに関する行政検査の遺伝子検査方法の今後の取り扱いについて. <https://www.mhlw.go.jp/content/000666148.pdf>
- 12) 厚生労働省：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施行規則の一部を改正する省令の公布について (令和4年6月30日). <https://www.mhlw.go.jp/content/000958882.pdf>
- 13) 厚生労働省：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施行規則の一部を改正する省令の公布について (令和4年8月25日). <https://www.mhlw.go.jp/content/000980564.pdf>
- 14) 厚生労働省：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施行規則の一部を改正する省令及び新型コロナウイルス感染症のまん延を防止するため新型インフルエンザ等対策特別措置法第四十五条第二項の規定による要請を行うことが特に必要な施設等を廃止する件の公布について. <https://www.mhlw.go.jp/content/001092883.pdf>
- 15) WHO: COVID-19 - United Kingdom of Great Britain and Northern Ireland.
<https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2020-DON304> (2024年12月10日閲覧)
- 16) 厚生労働省：新型コロナウイルス感染症の積極的疫学調査における検体提出等について. <https://www.mhlw.go.jp/content/000735114.pdf>
- 17) 鈴木雅和, 廣瀬絵美, 安達啓一, 齋藤典子, 皆川洋子, 新美 瞳, 諏訪優希, 青山文生, 高橋新次, 宮本真由歌, 谷 郁孝, 中村武靖, 水谷裕子, 瀬戸山由佳, 齋藤友睦, 佐藤穂奈美, 伊藤 雅, 安井善宏, 松本昌門, 佐藤克彦: 愛知県における新型コロナウイルス検出状況及び遺伝子解析. 愛知県衛生研究所報 74.1-8, 2024
- 18) 厚生労働省：新型コロナウイルス感染症の積極的疫学調査における検体提出等について (令和3年6月4日一部改正).
<https://www.mhlw.go.jp/content/000788648.pdf>
- 19) 厚生労働省：新型コロナウイルス感染症の積極的疫学調査における検体提出等に

ついて（令和 3 年 6 月 17 日一部改正）.
<https://www.mhlw.go.jp/content/000794688.pdf>

20) 皆川洋子，安井善宏，秦 眞美，小林慎一，伊藤 雅，藤原範子，水谷絵美，安達啓一，山下照夫，下岸 協，續木雅子，竹島雅之，広瀬かおる，判治岳史，遠山明人：新型インフルエンザ A/H1N1 発生に対する愛知県衛生研究所の対応検証（第

1 報）全数報告期の総括．愛知県衛生研究所報 60.29-40，2010

21) 厚生労働省：新型コロナウイルス感染症オープンデータ（PCR の実施件数）. <https://www.mhlw.go.jp/stf/covid-19/open-data.html>（2024 年 12 月 10 日閲覧）

22) 厚生労働省：新型コロナウイルス感染症の検査体制の強化について．<https://www.mhlw.go.jp/content/000918122.pdf>

The role of laboratory diagnosis in coronavirus disease 2019 (COVID-19) at the Aichi Prefectural Institute of Public Health.

Yoshihiro Yasui, Katsuhiko Sato, Makoto Oguri

The first case of novel coronavirus infection (COVID-19) was identified in Wuhan, Hubei Province, China, in December 2019, and has spread worldwide in a short period of time.

We have been conducting PCR tests for the novel coronavirus (SARS-CoV-2) since the beginning of the COVID-19 domestic outbreak. Once genetic testing reagents and antigen testing kits were developed by commercial laboratories, SARS-CoV-2 tests became available to medical institutions and commercial testing companies. Furthermore, as mutant strains of SARS-CoV-2 were reported, screening tests for such mutant strains became an important in our laboratory. As new mutant strains emerged one after another, the search for mutant strains shifted from the detection of point mutations to the analysis of the whole genome.

In this paper, we describe the response to SARS-CoV-2 tests in our laboratory and summarizes the challenges of responding to future microbiological health crises.

Keywords: Coronavirus disease 2019 (COVID-19), SARS-CoV-2, PCR test, whole genome sequencing

調 査 研 究

2012 年から 2021 年に愛知県において分離された 腸管出血性大腸菌の薬剤感受性

高橋佑太、山田和弘、齋藤典子、安井善宏

要 旨

腸管出血性大腸菌(Enterohemorrhagic *Escherichia coli*: EHEC)感染症は、年間約 4,000 例報告されており、重症化すると溶血性尿毒症症候群(HUS)や脳症を引き起こし、死に至ることもある。EHEC 感染症の抗菌薬使用については、統一の見解はないが、推奨薬としてフルオロキノロン系抗菌薬やホスホマイシン(FOM)が挙げられている、しかし、近年それらの抗菌薬に対して耐性を示す EHEC が検出されており、薬剤耐性 EHEC の蔓延状況を把握することは公衆衛生上重要である。そこで今回 2012 年から 2021 年の間に当所に搬入された EHEC の血清遺伝子型別及び薬剤感受性試験を実施した。EHEC 232 株は 16 血清遺伝子型に分類され、Og157:Hg7(60.8%)及び Og26:Hg11(18.1%)で 8 割近くを占めていた。EHEC 232 株のうち、54 株(23.3%)がいずれかの薬剤に耐性を示し、そのうち 62.9%(34 株/54 株)が 2 剤以上に耐性を示した。年による変動はあるものの概ね 15~30%を推移しており、経年的な傾向は確認できなかった。Og145:Hg28 は検出された株全てが薬剤耐性株であり、また Og26:Hg11 は薬剤耐性株のうち 80%が 2 剤以上に耐性を示す株であり、検出時には注意が必要であると考えられた。さらに今回、Og26:Hg11 の 1 株で EHEC 感染症の推奨抗菌薬として挙げられている FOM に対して耐性を示す株が検出されており、今後も EHEC の薬剤耐性動向を継続的に監視していく必要があると考えられた。

キーワード：腸管出血性大腸菌、薬剤感受性、FOM 耐性

序 文

腸管出血性大腸菌(Enterohemorrhagic *Escherichia coli*: EHEC)感染症は、「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」において三類感染症であり、診断した医師は全数届出する義務がある。EHEC 感染症は志賀毒素(Shiga toxin: Stx または Vero toxin: VT)を産生する、あるいは *stx* 遺伝子を保有する EHEC の感染によって引き起こされる。EHEC 感染症の主症状は腹痛、水様性下痢及び血便等の消化器症状であるが、重症化すると溶血性尿毒症症候

群(HUS)や脳症を引き起こし、死に至ることもある¹⁾。JAID/JSC 感染症治療ガイドライン²⁾によると EHEC 感染症の抗菌薬使用については、統一の見解がなく、一概に抗菌薬の投与を禁忌とする根拠は不十分とされている。抗菌薬を使用する場合、成人はフルオロキノロン系抗菌薬及びホスホマイシンが、小児はホスホマイシン、ノルフロキサシンまたはカナマイシンの単剤使用が推奨されている³⁾。日本では、EHEC 集団感染の際に、ホスホマイシンが主に使用されており、ホスホマイシンを早期に使用した

群において HUS 発症率が低いことが報告されている²⁾。しかしながら、近年これらの抗菌薬に耐性を示す EHEC が検出されており、薬剤耐性 EHEC の蔓延状況を把握することは公衆衛生上重要である。そこで今回、愛知県内で分離された EHEC に対し、薬剤感受性試験を実施し EHEC の薬剤耐性傾向を調査した。

方 法

供試菌株：2012 年から 2021 年の間に当所に搬入された EHEC 232 株 (diffuse outbreak 及び家族内感染の株はまとめて 1 株として集計)を用いた。

血清遺伝子型別：KAPATaq Extra PCR Kit (KAPA BIOSYSTEMS, USA) を用い、KAPATaq EXtra DNA Polymerase 0.08 μ L、5 $\times$ KAPATaq EXtra Buffer (Mg²⁺ free) 3 μ L、dNTP mix 0.45 μ L (最終濃度各 0.3 mM)、MgCl₂ 1.5 μ L (最終濃度 2.5 mM)、プライマーミックス 2 μ L (最終濃度各 0.5 μ M)、蒸留水 6.17 μ L を混合し、テンプレート DNA を 2 μ L 加え、94 $^{\circ}$ C 1 分反応後、94 $^{\circ}$ C 1 分、58 $^{\circ}$ C 30 秒、72 $^{\circ}$ C 60 秒のサイクルを 25 回繰り返し、最終伸長反応を 72 $^{\circ}$ C 2 分実施した。プライマーは文献 4 及び 5 に従った。PCR 反応終了後、Agarose KANTO HC 3% (関東化学)を用いて電気泳動を行い、増幅産物の有無を確認することで判定した。

薬剤感受性試験：アンピシリン (ABPC)、セフトジジム (CAZ)、セフトキシム (CTX)、ストレプトマイシン (SM)、ゲンタマイシン (GM)、テトラサイクリン (TC)、クロラムフェニコール (CP)、ナリジクス酸 (NA)、シプロフロキサシン (CPFX)、コリスチン (CL)、メロペネム (MPM) 及びホスホマイシン (FOM) の 12 薬剤の薬剤感受性試験を米国臨床検査標準協会 (CLSI) 法に準拠して実施した。なお、検査は *Escherichia coli* ATCC25922 を精度管理株として用い、薬剤感受性試験の精度確認を実施した。

結 果

2012 年から 2021 年の間に当所に搬入された EHEC 232 株の血清遺伝子型別の結果

を表 1 に示す。232 株は 16 血清遺伝子型に分類され、最も多く検出された血清遺伝子型は 0g157:Hg7 60.8% (141 株/232 株) で搬入された株の 6 割を占めていた。次いで多く検出されたのは 0g26:Hg11 18.1% (42 株/232 株) であった。この 2 血清遺伝子型は 2012 年から 2021 年の間、毎年搬入されていた。0g103 及び 0g111 は Hg により、それぞれ 3 血清遺伝子型及び 2 血清遺伝子型に分類された。

EHEC 232 株のうち、54 株 (23.3%) がいずれか 1 薬剤以上に耐性を示した。薬剤耐性率は年によって変動はあるが 15% から 30% を推移しており、経年的な増加または減少は確認できなかった (図 1、折れ線)。血清遺伝子型ごとにみると、0g157:Hg7 では 141 株中 23 株 (16.3%) がいずれかの薬剤に耐性を示し、2017 年を除く 9 年間で薬剤耐性株が確認された。0g26:Hg11 では 42 株中 10 株 (23.8%) がいずれかの薬剤に耐性を示し、2012、2015、2016 及び 2020 年を除く 6 年間で薬剤耐性株が確認された。0g103 及び 0g111 は Hg により複数の血清遺伝子型が含まれていたが、株数が少なく Hg による傾向は明らかにならなかった。0g145:Hg28 は株数が 9 株と少ないものの、9 株全てが薬剤耐性株であった (表 1、図 1)。

薬剤ごとの耐性率は、SM (37 株/15.9%) が最も高く、次いで ABPC (29 株/12.5%)、TC (27 株/11.6%)、CP (15 株/6.5%) の順であった。CAZ、CPFX、CL 及び MPM の 4 薬剤に耐性を示す株は検出されなかった。ABPC 耐性株及び SM 耐性株は全ての年で検出されていたが、全ての薬剤で搬入年による耐性率に大きな変動はなかった。EHEC 感染症の第一選択薬に挙げられている FOM に耐性を示す EHEC が 2019 年に 1 株 (0g26:Hg11) 検出された。

薬剤耐性を示した 54 株の薬剤耐性パターンを表 3 に示した。薬剤耐性パターンは 16 パターンに分類され、そのうち単剤耐性は 5 パターン 20 株 (37%) で、2 剤以上耐性は 11 パターン 34 株 (62.9%) であった。最も多く検出された薬剤耐性パターンは、ABPC、SM 及び TC の 3 剤耐性並びに ABPC

表 1 腸管出血性大腸菌の血清遺伝子型別と血清遺伝子型ごとの薬剤耐性株検出状況

血清遺伝子型		年次										総計
Og	Hg	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	
0g157	Hg7	18 (2)	33 (5)	12 (2)	9 (2)	7 (1)	10 (0)	20 (6)	19 (2)	8 (2)	5 (1)	141 (23)
0g26	Hg11	1 (0)	7 (2)	6 (3)	2 (0)	5 (0)	6 (1)	7 (1)	4 (2)	1 (0)	3 (1)	42 (10)
	Hg2	1 (1)			1 (1)	2 (1)		1 (0)	4 (0)	1 (0)	1 (0)	11 (3)
0g103	Hg11				1 (0)		1 (1)				1 (0)	3 (1)
	Hg25		1 (0)									1 (0)
0g111	Hg8	2 (1)		3 (2)	1 (0)				1 (0)		1 (0)	8 (3)
	Hg21	2 (1)										2 (1)
0g145	Hg28	2 (2)					3 (3)	1 (1)	2 (2)	1 (1)		9 (9)
0g121	Hg19	2 (0)						1 (0)	2 (0)	1 (1)	1 (0)	7 (1)
0g165	Hg25		1 (1)								1 (0)	2 (1)
0g71	Hg11									1 (0)		1 (0)
0g84	Hg2									1 (0)		1 (0)
0g91	Hg14							1 (1)				1 (1)
0g156	Hg25								1 (0)			1 (0)
0gGP5	Hg2									1 (1)		1 (1)
0gN9	Hg28				1 (0)							1 (0)
総計		28 (7)	42 (8)	21 (7)	15 (3)	14 (2)	20 (5)	31 (9)	33 (6)	15 (5)	13 (2)	232 (54)

() : 耐性株数

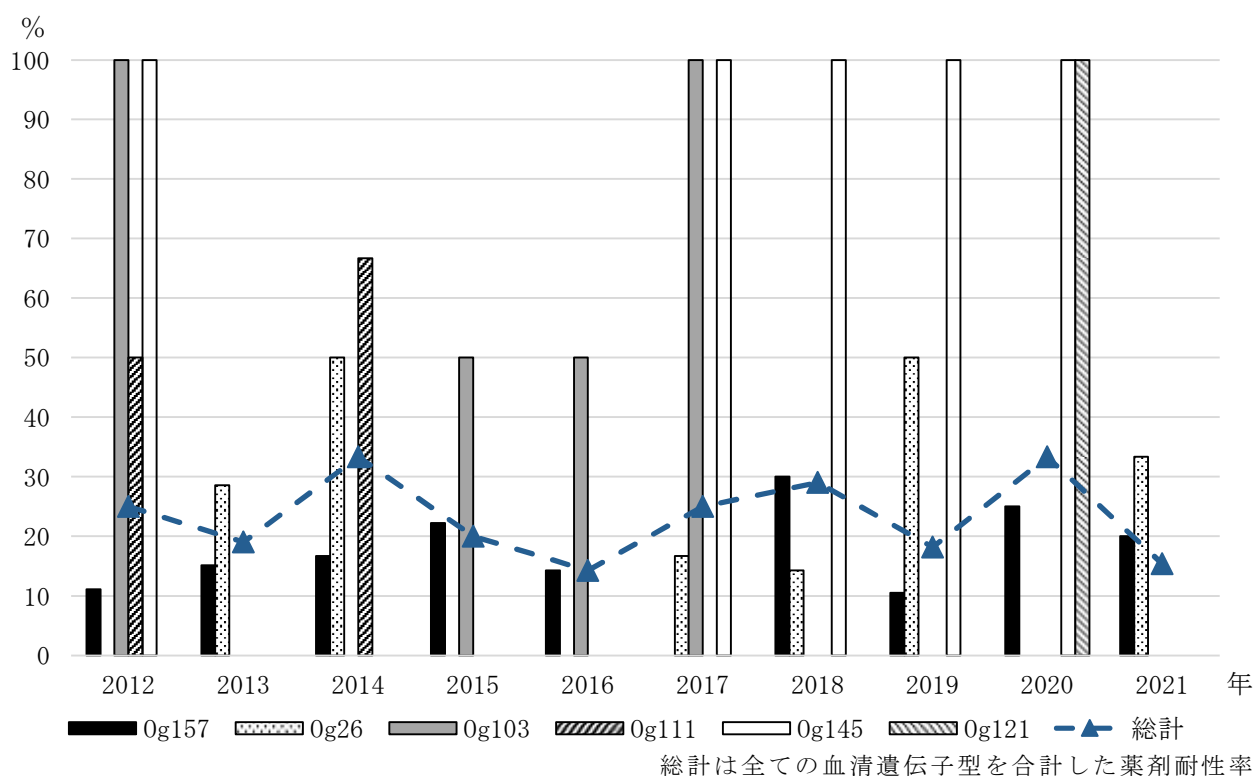


図 1 腸管出血性大腸菌の主要 O 血清遺伝子型における薬剤耐性率の年次推移

表 2 各種薬剤に対する腸管出血性大腸菌の耐性株数と年次推移

年	株数	薬剤（耐性株数(耐性率：%)）							
		ABPC	CTX	SM	GM	TC	CP	NA	FOM
2012	28	4 (14.3)		5 (23.8)		2 (14.3)	1 (5.0)		
2013	42	6 (21.4)		7 (33.3)		3 (21.4)	4 (20.0)		
2014	21	6 (21.4)		6 (28.6)		4 (28.6)	1 (5.0)		
2015	15	2 (7.1)		2 (9.5)		2 (14.3)			
2016	14	1 (3.6)		1 (4.8)			1 (5.0)		
2017	20	4 (14.3)		4 (19.0)	1 (6.7)	5 (35.7)		1 (3.2)	
2018	31	1 (3.6)	1 (2.4)	4 (19.0)		3 (21.4)	3 (15.0)		
2019	33	3 (10.7)	1 (2.4)	3 (14.3)	2 (13.3)	3 (21.4)	4 (20.0)		1 (3.0)
2020	15	1 (3.6)		4 (19.0)		4 (28.6)	1 (5.0)		
2021	13	1 (3.6)		1 (4.8)		1 (7.1)			
総計	232	29 (12.5)	2 (0.9)	37 (15.9)	3 (1.3)	27 (11.6)	15 (6.5)	1 (0.4)	1 (0.4)

表 3 腸管出血性大腸菌血清遺伝子型ごとの薬剤耐性パターン

薬剤耐性パターン	血清遺伝子型						総計
	0g157	0g26	0g145	0g103	0g111	その他	
ABPC/CTX/SM/GM/FOM		1					1
ABPC/SM/GM/TC		1					1
ABPC/SM/TC/CP	2		2				4
ABPC/SM/TC/NA				1			1
ABPC/SM/TC	2	1	4		2	1 ^{*1}	10
SM/TC/CP	1	1					2
ABPC/CTX	1						1
ABPC/SM	6	3				1 ^{*2}	10
SM/TC	1					1 ^{*3}	2
SM/CP		1					1
TC/CP	1						1
ABPC					1		1
SM	2			1	1	1 ^{*4}	5
GM	1						1
TC	1	1	3	1			6
CP	5	1		1			7
総計	23	10	9	4	4	4	54

*1:0g121、*2:0g165、*3:0gGp5、*4:0g91

及び SM の 2 剤耐性で、それぞれ 10 株ずつ検出された。0g157:Hg7、0g26:Hg11 及び 0g145:Hg28 は 2 剤以上に耐性を示す割合が高く、それぞれ 60.9% (14 株/23 株)、80% (8 株/10 株) 及び 66.7% (6 株/9 株) であった。上記の FOM に耐性を示した 0g26:Hg11 の 1 株は 5 剤以上に耐性を示す多剤耐性株であった。

考 察

国内における EHEC の血清型別検出状況は、0157 及び 026 で 8 割程度を、0157、026、0111、0103、0121、0145、091 及び 0165 からなる主要 8 血清群で約 97% を占めている⁶⁾。今回供試した 2012 から 2021 年の間に当所に搬入された EHEC 232 株は 16 血清遺伝子型に分類され、0g157:Hg7 が 60.8%、0g26:Hg11 が 18.1% と、これら 2 血清遺伝子型で 8 割近くを占めており、主要 8 血清群以外は 5 株 (2.2%) と少数であったこと

から、愛知県内の EHEC の血清型分布は、国内の状況と相違なかったと考えられる。

今回、2012 から 2021 年の間に愛知県内で分離された EHEC 232 株のうち 23.3% が薬剤耐性株であり、その期間の年間薬剤耐性率は 15~30% を推移していた。2015 年から 2023 年の間に実施された全国調査⁷⁾では、ヒトから分離された EHEC の薬剤耐性率は 30.4% (807 株/2651 株)、その期間の年間薬剤耐性率は 20~35% と、愛知県においても全国の薬剤耐性傾向と同様の結果であった。血清遺伝子型ごとでは EHEC 感染症の中で最も届出が多い 0g157:Hg7 の薬剤耐性率は 16.3% であった一方で、0g145 では薬剤耐性率が 100% であった。さらに薬剤耐性パターンは 16 パターンに分類され、そのうち 11 パターンが 2 剤以上に耐性を示す薬剤耐性パターンであり、耐性を示した株の 62.9% が含まれていた。また 0g26:Hg11 は 80% が 2 剤以上に耐性を示す

特徴的な血清遺伝子型であり、検出された際には注意が必要であると考えられた。以上の結果より、EHEC は血清型により抗菌薬に対する選択圧や薬剤耐性遺伝子の伝達頻度が異なり、薬剤耐性率が異なる可能性が考えられた。

各種薬剤の耐性率は SM が 15.9% と最も高く、次いで ABPC 12.5%、TC 11.6% であった。岩佐ら⁸⁾の報告では EHEC 456 株の各種薬剤の耐性率は SM(101 株、22.1%)、TC(73 株、16%)、ABPC(64 株、14%) と同様の傾向がうかがえた。一方で、2012 年から 2021 年のと畜場におけるウシ由来 *Escherichia coli* の各種薬剤耐性率⁹⁾は、TC が約 20% と最も高く、次いで SM が約 15%、ABPC が約 5% を推移していると報告されている。また、上記 3 薬剤はウシにおいて多く使用されている抗菌薬であり¹⁰⁾、EHEC の薬剤耐性率はメインの保菌動物であるウシにおける抗菌薬の使用量に少なからず影響を受けていると考えられた。

EHEC 感染症治療において推奨されている抗菌薬のうち、フルオロキノロン系抗菌薬(CPFX)の耐性株は検出されなかったが、FOM 耐性株が 2019 年に 1 株検出された。国内において主要 8 血清群の FOM 耐性株は、O157 で 2 株(岡山県：2017 年¹¹⁾、2019 年¹²⁾)、O26 で 7 株(群馬県：2006 年、2009 年¹³⁾ 宮崎県：2012 年¹⁴⁾ 岡山県：2019 年 2 株¹²⁾ 大阪府：2019～2021 年 2 株¹⁵⁾)がこれまでに報告されており、O26 での報告が多い。今回検出された FOM 耐性株も Og26:Hg11 であった。FOM 耐性機構は、これまでに輸送系に関係する遺伝子(*glpT* 遺伝子、*uhpT* 遺伝子)の変異、UDP-GlcNAc エノールピルビン酸トランスフェラーゼをコードする遺伝子(*murA* 遺伝子)の変異による FOM との親和性の低下及びプラスミド上の FOM 耐性遺伝子の存在(*fosA* 遺伝子、*fosC* 遺伝子及び *fosL* 遺伝子)が報告されている¹⁶⁾。これら FOM 耐性機構のうち、FOM 耐性遺伝子はプラスミドの伝播により FOM 耐性菌が拡散される恐れがあるため注意が必要である。また、*fosA3* 遺伝子は IS26 型複合トランスポゾンと関連していることが

あり、他のプラスミド媒介性の薬剤耐性遺伝子と共存することで多剤耐性を示す可能性がある¹⁷⁾。そのため、FOM 耐性 EHEC の動向は特に注視していく必要があると考えられた。

本研究により、愛知県における EHEC の血清遺伝子型分布及び薬剤耐性率は全国の傾向と相違なく、各種薬剤の耐性率も先行研究と同程度であることが判明した。また、EHEC の薬剤耐性はウシにおける抗菌薬の使用量に少なからず影響を受けていることが示唆された。今回の調査期間で EHEC 感染症の治療に推奨されている抗菌薬のうちフルオロキノロン系抗菌薬耐性株は検出されなかったが、FOM 耐性株が 2019 年に 1 株検出された。FOM 耐性機構はプラスミドにより媒介される機構もあり、さらに他のプラスミド媒介性薬剤耐性遺伝子との共存による多剤耐性化の可能性もあるため、今後も EHEC の薬剤耐性動向を継続的に監視していくとともに、薬剤耐性遺伝子調査も実施していく必要があると考えられる。

文 献

- 1) 国立感染症研究所感染症情報センター：腸管出血性大腸菌感染症．病原微生物検出情報 45(5)：71-73，2024.
- 2) JAID/JSC 感染症治療ガイド・ガイドライン作成委員会：JAID/JSC 感染症治療ガイド 2023、杏林舎、東京.
- 3) 厚生省：一次、二次医療機関のための腸管出血性大腸菌(O157 等)感染症治療の手引き(改訂版)，1997.
- 4) Iguchi A, Iyoda S, Seto K, Morita-Ishihara T, Scheutz F, Ohnishi M: *Escherichia coli* O-Genotyping PCR: a Comprehensive and Practical Platform for Molecular O Serogrouping. *Journal of Clinical Microbiology* 53(8):2427-2432, 2015.
- 5) Banjo M, Iguchi A, Seto K, Kikuchi T, Harada T, Scheutz F, Iyoda S: *Escherichia coli* H-Genotyping PCR: a Complete and Practical Platform for Molecular H Typing. *Journal of Clinical Microbiology*

- 56(6): e00190-18, 2018.
- 6) 工藤由起子: 食品での腸管出血性大腸菌検査法の最新の動向について. 日本食品微生物学会雑誌 30(2):89-92, 2013.
- 7) 菅井基行: 厚生労働科学研究費補助金健康安全確保総合研究分野 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強化のための研究」令和5年度分担研究報告書, 2023.
- 8) 岩佐奈津美, 本田己喜子, 中牟田啓子: 福岡市においてヒトから分離された腸管出血性大腸菌の薬剤耐性状況(2006～2016年). 日本食品微生物学会雑誌 35(3):154-158, 2018.
- 9) 薬剤耐性ワンヘルス動向調査検討会: 薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書 2023.
- 10) 農林水産省 動物医薬品検査所: 各種抗生物質・合成抗菌剤・駆虫剤・抗原虫剤の販売高と販売量. 令和4年動物用医薬品、医薬部外品、医療機器及び再生医療等製品販売高年報(別冊), 2022.
- 11) 河合央博, 仲敦史, 畑ますみ, 中嶋洋: 志賀毒素産生性大腸菌の疫学調査(平成28年度). 岡山県環境保健センター年報 41:51-57, 2017.
- 12) 森本晃司, 仲敦史, 河合央博, 中嶋洋, 狩屋英明: 志賀毒素産生性大腸菌の疫学調査(平成30年度). 岡山県環境保健センター年報 43:73-78, 2019.
- 13) 黒澤肇, 安中秀幸, 坂野智恵子, 横田陽子, 小畑敏: 群馬県において分離された腸管出血性大腸菌. 群馬県衛生環境研究所年報 42, 2010.
- 14) 津曲洋明, 水流奈己, 阿波野祥司, 吉野修司, 元明秀成: 宮崎県で分離された腸管出血性大腸菌(EHEC)026,0157の薬剤感受性と分子生物学的解析. 宮崎県衛生環境研究所年報 29: 59-64, 2018.
- 15) 西嶋駿弥: 大阪府内で分離された腸管出血性大腸菌主要3血清群の薬剤感受性と耐性遺伝子の探索. 公益財団法人大同生命厚生事業団地域保健福祉研究助成報告書, 2021.
- 16) Cattoir V, Guérin F: How is fosfomycin resistance developed in *Escherichia coli*? Future Microbiology 13(16):1693-1698, 2018.
- 17) Yang TY, Lu PL, Tseng SP: Update on fosfomycin-modified genes in *Enterobacteriaceae*. Journal of Microbiology, Immunology and Infection 52(1):9-21, 2019.

Antimicrobial susceptibility of enterohemorrhagic *Escherichia coli* isolated in Aichi Prefecture from 2012 to 2021.

Yuta Takahashi, Kazuhiro Yamada, Noriko Saito, Yoshihiro Yasui

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) infections are reported approximately 4,000 times annually. Severe cases can lead to hemolytic uremic syndrome (HUS) or encephalopathy, which can be fatal. There is no unified view on the use of antibiotics for EHEC infections, but fluoroquinolones and fosfomycin (FOM) are recommended. However, in recent years, EHEC resistant to these antibiotics have been detected, making it important to understand the prevalence of antibiotic-resistant EHEC for public health. Therefore, we conducted serogenotyping and antimicrobial susceptibility testing on EHEC strains brought to our facility between 2012 and 2021. The 232 EHEC strains were classified into 16 serogenotypes, with Og157:Hg7 (60.8%) and Og26:Hg11 (18.1%) accounting for nearly 80%. Of the 232 EHEC strains, 54 strains (23.3%) showed resistance to at least one antibiotic, and 62.9% (34/54) of these were resistant to two or more antibiotics. Although there were annual fluctuations, the resistance rate generally ranged from 15% to 30%, with no clear trend over time. All detected Og145:Hg28 strains were antibiotic-resistant, and 80% of the Og26:Hg11 strains showed resistance to two or more antibiotics, indicating the need for caution when these strains are detected. Additionally, one Og26:Hg11 strain was found to be resistant to FOM, a recommended antibiotic for EHEC infections, highlighting the need for continued monitoring of antibiotic resistance trends in EHEC.

Key words : Enterohemorrhagic *Escherichia coli* , antimicrobial susceptibility , fosfomycin resistance

調 査 研 究

液体クロマトグラフ質量分析法を用いた漢方エキス製剤の 一斉確認試験法の開発

小林俊也、服部靖子¹、富田浩嗣、磯貝勝人

¹（現所属）衣浦東部保健所

要 旨

医薬品の確認試験は、製剤中の指標成分を確認する試験である。漢方エキス製剤の確認試験は、薄層クロマトグラフィー（TLC）を用いて実施するのが一般的である。しかし、TLCを用いる方法は不正な試験への対策が難しいため、機器分析により試験することが望ましい。そこで、液体クロマトグラフ質量分析計（LC-MS/MS）を用いて、漢方エキス製剤の指標成分を一斉に確認可能な試験法の開発を試みた。医療用、一般用として流通量の多い小柴胡湯及び半夏瀉心湯エキス製剤を開発対象とした。各エキス製剤の指標成分は、第十八改正日本薬局方（局方）を参考に設定した。開発対象製剤の指標成分及び類似成分標準品を用いて、すべての成分を一斉に分離検出可能な LC-MS/MS 測定条件を検討した。局方の製法通りの分量で生薬を混合して調製した模擬製剤を本測定条件で分析したところ、設定したすべての指標成分が検出された。局方の製法から生薬を 1 つずつ除いた各ブランク製剤を同様に分析したところ、除去した生薬の指標成分は検出されなかった。この結果から、設定した指標成分は各生薬に特異的であると考えられた。本試験法を市販の小柴胡湯及び半夏瀉心湯エキス製剤に適用したところ、設定したすべての指標成分を確認することができた。以上の結果から、本試験法は小柴胡湯及び半夏瀉心湯の一斉確認試験法として利用可能であると考えられた。

キーワード：漢方エキス製剤、小柴胡湯、半夏瀉心湯、確認試験、液体クロマトグラフ質量分析計（LC-MS）

序 文

近年、国内医薬品製造業者が医薬品、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違反し、行政処分される事例が相次いでいる。2021年は、1 年間だけで国内の8社が業務停止、業務改善の処分を受けており、一部の業者では、医薬品の品質試験結果の捏造や確認試験の一部未実施など医薬品の品質に関わる不正が行われていた¹⁾。相次ぐ行政処分を受けてGMP省令

が改正され、医薬品製造業者は試験データの改竄対策など、記録の信頼性（データインテグリティ）の確保が必要となった²⁾。薄層クロマトグラフィー（TLC）等の機器を用いない分析法は、試験データの破棄や再試験が容易な上、自動的に操作記録を残す手段に乏しいため、不正な試験への対策が難しい。一方、液体クロマトグラフ等の機器分析による試験は、監査証跡機能を使い、試験者毎に操作権限を設定することで、試

験データの削除や改竄を防止できる上、自動的に操作記録が残るため、不正な試験の対策が容易である。

漢方エキス製剤の確認試験には主にTLCが用いられるが、上述のとおり不正な試験の対策が難しく、複数の条件で分析する必要があり、労力を要する。これらの課題を解決するため、漢方エキス製剤の指標成分を液体クロマトグラフ質量分析計（LC-MS/MS）で一斉に確認可能な試験法の開発を試みた。医療用、一般用医薬品として広く使用される、小柴胡湯及び半夏瀉心湯を対象製剤とした。

方 法

1. 試薬・試液

メタノール、アセトニトリル及びギ酸は富士フィルム和光純薬株式会社の LC-MS/MS 用を用いた。水は simplicity UV（メルク、ドイツ）より採水した超純水を用いた。指標成分の標準品のうち、コプチシン、ギンセノシド Rg₁、6-ショ-ガオール、オ-ゴニン、リクイリチン、サイコサポニン b₂ 及び 6-ギンゲロールは富士フィルム和光純薬株式会社の局方生薬試験用を用いた。ギンセノシド Rb₁ は一般財団法人医薬品医療機器レギュラトリ-サイエンス財団の日本薬局方標準品を用いた。類似成分の標準品として、ギンセノシド RF（含量>98%）、サイコサポニン a、b₁ 及び d は富士フィルム和光純薬株式会社の局方生薬試験用を用いた。プソイドギンセノシド F11 は LKT Laboratories 社の製品を用いた。オウレン、ニンジン、カンキョウ、オウゴン、カンゾウ、タイソウ、ハンゲ、サイコ及びショウキョウは株式会社栃本天海堂の局方品を用いた。ニンジン、カンキョウ、オウゴン、カンゾウ及びショウキョウは株式会社ウチダ和漢薬の局方品を用いた。市販エキス製剤として、12 社の小柴胡湯エキス製剤及び 6 社の半夏瀉心湯エキス製剤を用いた。

2. 標準溶液及び混合標準溶液の調製

局方小柴胡湯及び半夏瀉心湯の指標成分

とその類似成分（オ-ゴニン、リクイリチン、6-ギンゲロール、サイコサポニン a、b₁、b₂、d、ギンセノシド Rb₁、Rg₁、Rf、プソイドギンセノシド F11、コプチシン及び 6-ショ-ガオール）の標準品を、各成分 100 μ g/mL となるよう水/メタノール混液（1:1）に溶かし、標準原液とした。各成分の濃度が 2 μ g/mL となるように各標準原液を水/メタノール混液（1:3）で希釈し、孔径 0.20 μ m のメンブランフィルター（PTFE）でろ過し、標準溶液とした。各標準原液を混合し、各成分の濃度が 2 μ g/mL となるように水/メタノール混液（1:3）で希釈し、孔径 0.20 μ m のメンブランフィルター（PTFE）でろ過し、混合標準溶液とした。

3. 試料溶液の調製

適切な大きさとした生薬を、局方小柴胡湯の製法どおりの分量で混合し、10 倍量の常水を加え、水量が約半分になるまでホットプレート付マグネチックスターラーで加熱した。冷後、この液を遠心分離し、模擬製剤とした。小柴胡湯の構成生薬からタイソウ、ハンゲ以外の生薬を 1 つずつ除いて混合し、10 倍量の常水を加え、水量が約半分になるまで加熱し、遠心分離したものを各生薬ブランク製剤とした（表 1）。半夏瀉心湯はカンキョウを用いる製法とショウキョウを用いる製法があるため、それぞれについて小柴胡湯と同様に模擬製剤及び各生薬ブランク製剤を調製した（表 2-1 及び 2-2）。

各模擬製剤 1 mL にそれぞれ水/メタノール混液（1:3）を加えて 10 mL とし、10 分間超音波抽出した。この液を遠心分離し、孔径 0.20 μ m のメンブランフィルター（PTFE）でろ過して試料溶液とした。各ブランク製剤 1 mL、市販エキス製剤 1 g についても同様に処理し、試料溶液とした。

4. 装置及び分析条件

標準溶液、混合標準溶液及び試料溶液を表 3 に示す条件で測定した。各指標成分及び類似成分の検出イオン等を表 4-1 及び 4-2 に示した。

表1 小柴胡湯-模擬製剤及びブランク製剤

生薬	サイコ	ニンジン	ショウキョウ	オウゴン	カンゾウ	タイソウ	ハンゲ
配合量 (g)	7	3	1	3	2	3	5
模擬製剤	○	○	○	○	○	○	○
各生薬ブランク製剤							
除サイコ	—	○	○	○	○	○	○
除ニンジン	○	—	○	○	○	○	○
除ショウキョウ	○	○	—	○	○	○	○
除オウゴン	○	○	○	—	○	○	○
除カンゾウ	○	○	○	○	—	○	○

表2-1 半夏瀉心湯（ショウキョウ）-模擬製剤及びブランク製剤

生薬	オウレン	ニンジン	ショウキョウ	オウゴン	カンゾウ	タイソウ	ハンゲ
配合量 (g)	1	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	5
模擬製剤	○	○	○	○	○	○	○
各生薬ブランク製剤							
除オウレン	—	○	○	○	○	○	○
除ニンジン	○	—	○	○	○	○	○
除ショウキョウ	○	○	—	○	○	○	○
除オウゴン	○	○	○	—	○	○	○
除カンゾウ	○	○	○	○	—	○	○

表2-2 半夏瀉心湯（カンキョウ）-模擬製剤及びブランク製剤

生薬	オウレン	ニンジン	カンキョウ	オウゴン	カンゾウ	タイソウ	ハンゲ
配合量 (g)	1	2.5	2.5	2.5	2.5	2.5	5
模擬製剤	○	○	○	○	○	○	○
各生薬ブランク製剤							
除オウレン	—	○	○	○	○	○	○
除ニンジン	○	—	○	○	○	○	○
除カンキョウ	○	○	—	○	○	○	○
除オウゴン	○	○	○	—	○	○	○
除カンゾウ	○	○	○	○	—	○	○

表3 LC-MS/MS装置及び測定条件

LC部：Ultimate 3000 ultra-high-performance liquid chromatograph (Thermo Fisher Scientific、USA)
カラム：ACQUITY UPLC HSS T3 column (100mm ×2.1 mm, 1.8 μm, ウォーターズ株式会社)
ガードカラム：VanGuard プレカラム (50mm ×2.1 mm, 1.8 μm, ウォーターズ株式会社)
カラム温度：40℃
移動相：A:0.1%ギ酸,B:0.1%ギ酸アセトニトリル
グラジエント条件：A:B=75:25(0 min)→62:38(5 min)→62:38(12 min)→15:85(17 min) →95:5(17.01 min)→95:5(20 min)
平衡化条件：A:B=75:25(7 min)
流速：0.3 mL/min
注入量：1 μL
MS部：Q-Exactive Focus Q-orbitrap 質量分析計 (Thermo Fisher Scientific、USA)
イオン源：heated-electrospray ionization (H-ESI) source
イオンモード：positive/negative switching
イオンスプレー電圧：positive：4.0kV,negative：3.0kV
ネブライザーガス：窒素
分解能：70,000
スキャンレンジ：100～1200 m/z

表4-1 小柴胡湯の指標成分及び類似成分の検出イオン

生薬	指標成分	分子式	保持時間 (分)	検出イオン (精密質量)
カンゾウ	リクイリチン	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	1.9	[M-H] ⁻ (417.1191)
ニンジン	ギンセノシドRb ₁	C ₅₄ H ₉₂ O ₂₃	7.1	[M+H] ⁺ (1109.6102)
オウゴン	オーゴニン	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	11.8	[M+H] ⁺ (285.0757)
ショウキョウ	6-ギンゲロール	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	12.9	[M] ⁺ (294.1826)
サイコ	サイコサポニンb ₂	C ₄₂ H ₆₈ O ₁₃	13.3	[M-H] ⁻ (779.4587)
	サイコサポニンa, b ₁ , d※		12.6、15.1、16.3	

※指標成分の類似成分

表4-2 半夏瀉心湯の指標成分及び類似成分の検出イオン

生薬	指標成分	分子式	保持時間 (分)	検出イオン (精密質量)
カンゾウ	リクイリチン	C ₂₁ H ₂₂ O ₉	1.9	[M-H] ⁻ (417.1191)
オウレン	コブチシン	C ₁₉ H ₁₄ NO ₄	3.3	[M] ⁺ (320.0917)
	ギンセノシドRg ₁	C ₄₂ H ₇₂ O ₁₄	-	[M-H] ⁻ (799.4849)
ニンジン	ギンセノシドRf, F11※	C ₅₄ H ₉₂ O ₂₃	6.4、6.5	[M+H] ⁺ (1109.6102)
	ギンセノシドRb ₁		7.1	
オウゴン	オーゴニン	C ₁₆ H ₁₂ O ₅	11.8	[M+H] ⁺ (285.0757)
ショウキョウ	6-ギンゲロール	C ₁₇ H ₂₆ O ₄	12.9	[M] ⁺ (294.1826)
カンキョウ	6-ショーガオール	C ₁₇ H ₂₄ O ₃	17.5	[M+H] ⁺ (277.1798)

※指標成分の類似成分

結果及び考察

1. 標準溶液及び混合標準溶液を用いた分析条件の検討

指標成分はすべて局方に準じて設定した。指標成分と同一の組成式の成分(類似成分)が同一生薬中に含まれる場合、質量分離ができず、保持時間による分離が可能か確認する必要があるため、各指標成分の類似成分を文献で探索した。類似成分と指標成分を保持時間により分離できることを確認するため、表3の条件で混合標準溶液を測定した。得られたトータルイオンクロマトグラム(TIC)から各成分の検出イオンによりMSクロマトグラムを抽出し、各成分の保持時間を確認した(図1)。表3の分析条件により、半夏瀉心湯中のニンジン(1)の指標成分であるギンセノシド Rg₁ 以外の成分を一斉に分離検出可能であった。ギンセノシド Rg₁ はギ酸付加体として検出され、ギンセノシド Rg₁ の脱プロトン化分子は検出されなかったことから、ギンセノシド Rg₁ の代替となる指標成分を検討した。局方では、小柴胡湯のニンジン(1)はギンセノシド Rb₁ が指標成分に設定されていることから、半夏瀉心湯

のニンジンについてもギンセノシド Rb₁ を指標成分とするため、特異性の確認を実施した。指標成分半夏瀉心湯エキス製剤の模擬製剤及びニンジンブランク製剤を調製し、表3の条件で測定したところ、模擬製剤からはギンセノシド Rb₁ が検出されたが、ニンジンブランク製剤からは検出されなかった。この結果から、ギンセノシド Rb₁ は半夏瀉心湯中のニンジン(1)に特異的な成分であると考えられたため、ギンセノシド Rb₁ を半夏瀉心湯エキス製剤の指標成分とした。

2. 試験法のバリデーション

試験法のバリデーションとして、局方³⁾に準じて試験法の特異性を確認した。模擬製剤及びブランク製剤の試料溶液を表3の条件で分析したところ、模擬製剤からは設定したすべての指標成分が検出され(分析例: 図2-1、2-2及び2-3)、ブランク製剤からは除外した生薬の指標成分は検出されなかった(分析例: 図3)。この結果から、設定したすべての指標成分は各生薬に特異的な成分であると考えられた。

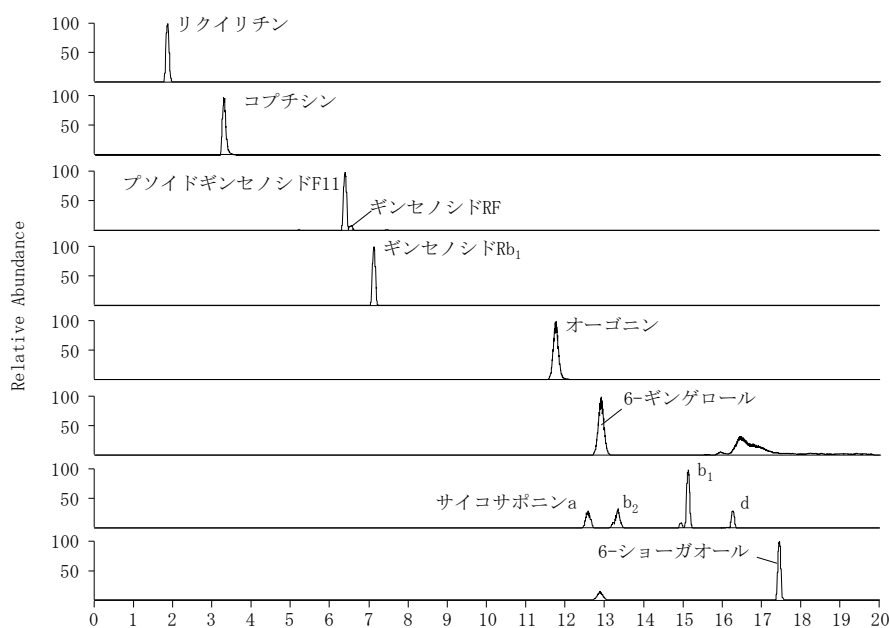


図1 混合標準溶液中の指標成分及び類似成分のMSクロマトグラム

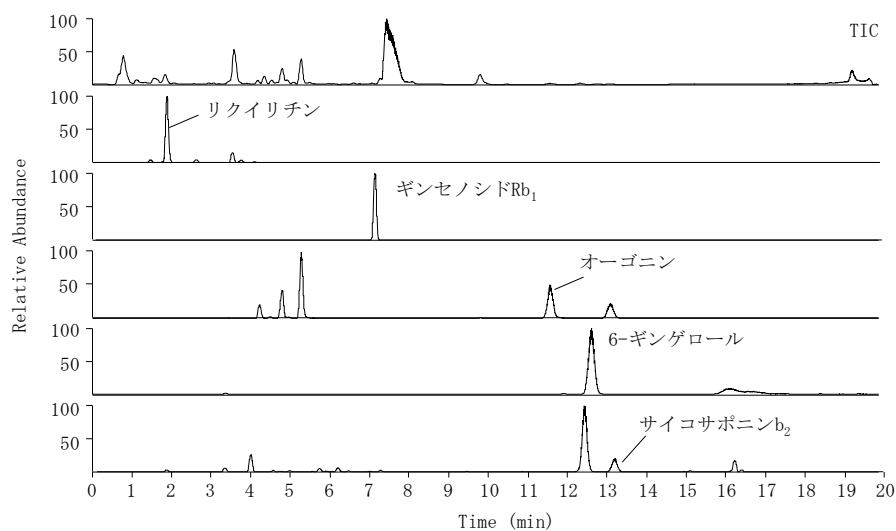


図2-1 模擬製剤（小柴胡湯）のTIC及びMSクロマトグラム

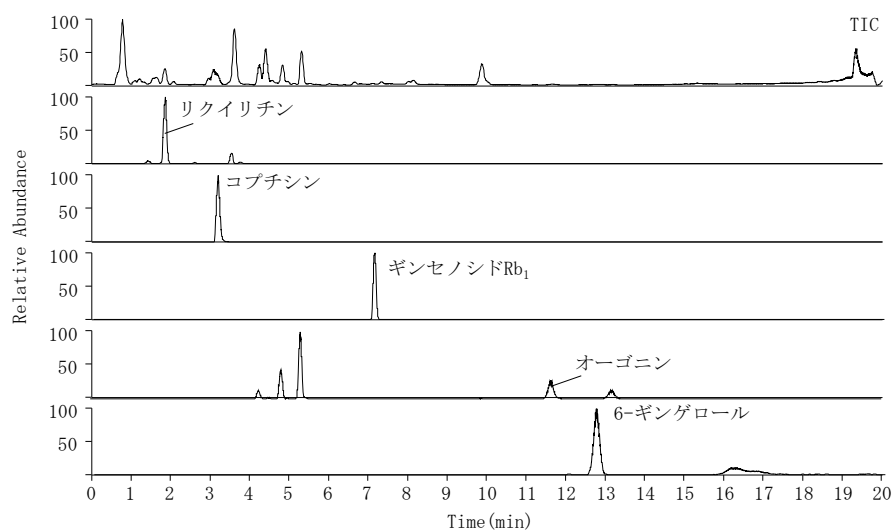


図2-2 模擬製剤（半夏瀉心湯-ショウキョウ）のTIC及びMSクロマトグラム

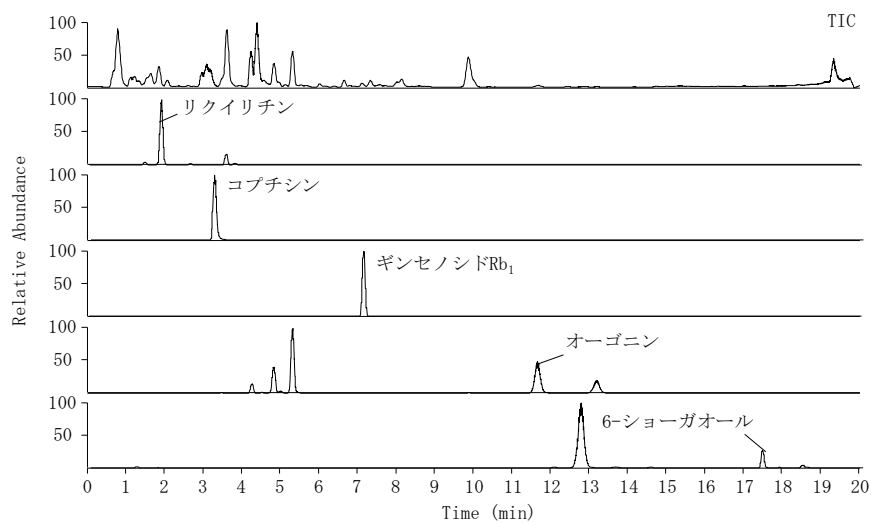


図2-3 模擬製剤（半夏瀉心湯-カンキョウ）のTIC及びMSクロマトグラム

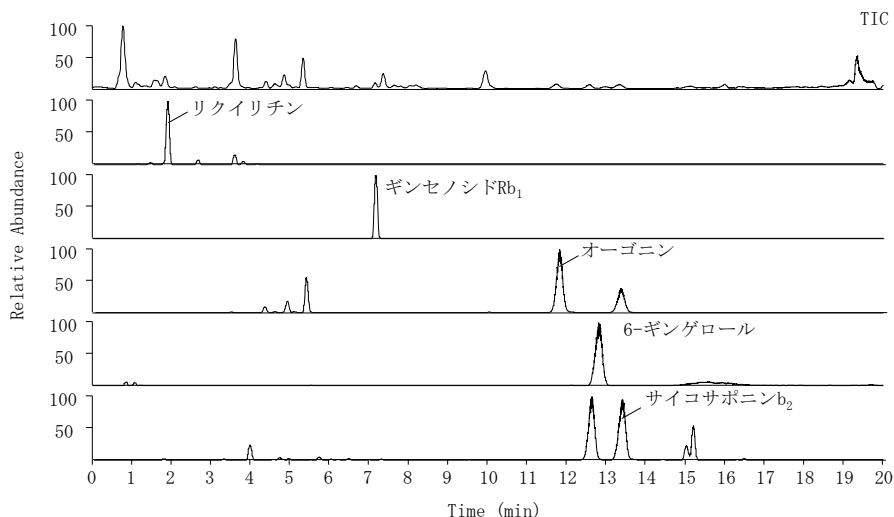


図3 各生薬ブランク製剤（半夏瀉心湯除ショウキョウ）の
TIC及びMSクロマトグラム

3. 分析精度の確認

本試験法は各成分の検出イオンにより MS クロマトグラムを抽出することで指標成分と不純物との分離を行っている。そのため、分析精度に最も大きな影響を与えるのは質量の再現性であると考え、LC-MS/MSで混合標準溶液を繰り返し測定して精密質量の測定誤差を確認した。各指標成分の m/z の実測値と理論値を比較したところ、誤差は 3 ppm 以下 ($n=6$) であった。この結果から、本試験法の分析精度は良好であると考えられた。

4. 市販エキス製剤への試験法の適用

開発した試験法を用いて混合標準溶液と市販エキス製剤 18 製剤を分析し、各指標成分の MS クロマトグラムを抽出した。混合標準溶液と市販エキス製剤の各ピークの保持時間を比較することで指標成分の存在を確認した（分析例：図 4-1、4-2 及び 4-3）。すべての市販エキス製剤から設定した指標成分を確認できたことから、本試験法は小柴胡湯及び半夏瀉心湯の一斉確認試験法として利用可能であると考えられた。

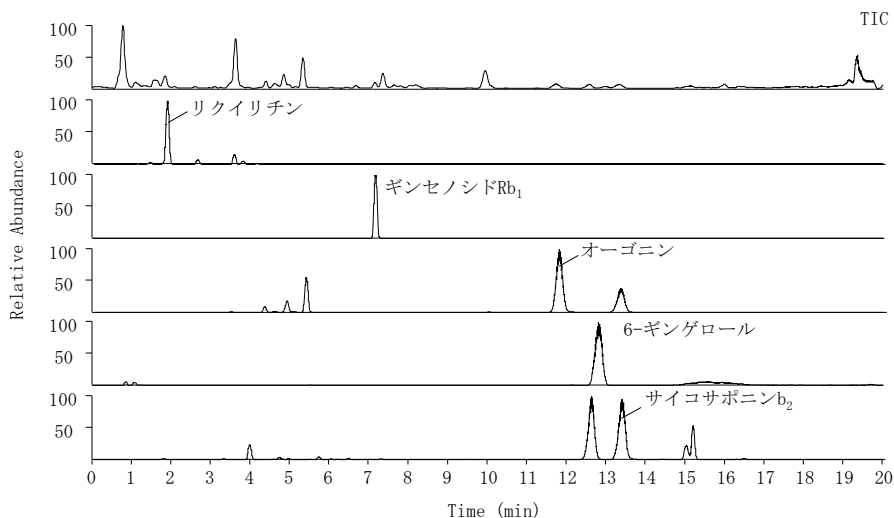


図4-1 市販小柴胡湯エキス製剤のTIC及びMSクロマトグラム

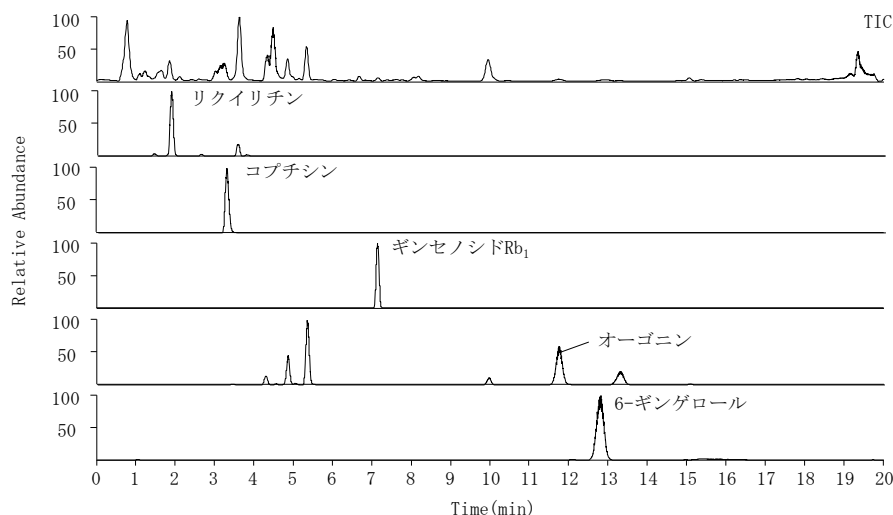


図4-2 市販半夏瀉心湯（ショウキョウ）エキス製剤の
TIC及びMSクロマトグラム

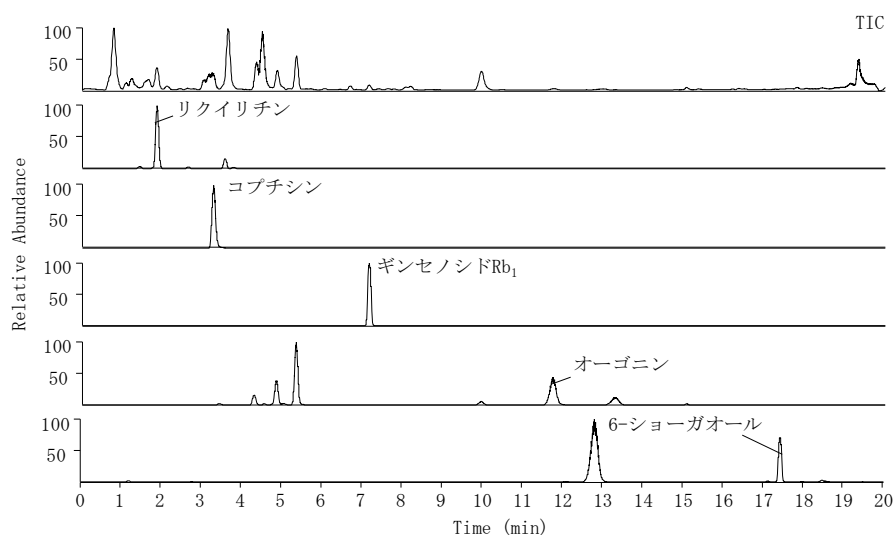


図4-3 市販半夏瀉心湯（カンキョウ）エキス製剤の
TIC及びMSクロマトグラム

まとめ

LC-MS/MSを用いた、小柴胡湯及び半夏瀉心湯エキス製剤の一斉確認試験法を開発した。本試験法はLC-MS/MSシステムに付属の監査証跡機能により、試験者毎に操作権限を設定し、自動的に操作記録を残すことが可能であり、TLC法では不十分だった不正な試験への対策が可能となった。また、本試験法は単一の条件で複数の漢方エキス製剤の指標成分を一度に確認できることから、TLC法より少ない労力で試験可能である。医薬品製造業者が本試験法を導入することで、より少ない労力で消費者により確実に品質を担保された医薬品を供給できるようになると考えられる。小柴胡湯エキス製剤

及び半夏瀉心湯エキス製剤の構成生薬であるハンゲ及びタイソウは、局方に指標成分が設定されていないため、本試験法でも確認試験の対象としていない。しかし、品質管理の観点からはすべての構成生薬に指標成分を設定し、確認することが望ましい。今後はハンゲとタイソウの指標成分を探索し、最終的にはすべての構成生薬を確認試験できる試験法の構築を目指す。

謝 辞

本研究の一部は、公益財団法人大同生命厚生事業団地域保健福祉研究助成により実施した。

文 献

- 1) 飛田勇輝，山本剛，工藤俊明，湯本貴文，
近年の医薬品製造所における不正事案と
再発防止策 保健医療科学 Vol.71
No.2:140-146, 2022.
- 2) 医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品
質管理の基準に関する省令の一部を改正
する省令(令和3年厚生労働省令第90号)
- 3) 第十八改正日本薬局方 参考情報 G1.
理化学試験関連 2517-2519

Development of simultaneous identification method for Kampo extract using liquid chromatography/mass spectrometry

Shunya Kobayashi, Yasuko Hattori¹, Koji Tomita, Masato Isogai

¹ Present affiliation: Kinuuratoubu Health Center

The identification of pharmaceuticals is a test to marker compounds in the preparation. The identification of Kampo extracts is generally performed using thin layer chromatography (TLC). However, since it is difficult to prevent fraudulent testing using TLC, it is preferable to perform testing using instrumental analysis. Therefore, we attempted to develop a test method that can simultaneously confirm the marker compounds of Kampo extracts using a liquid chromatograph mass spectrometer (LC-MS/MS). The target preparations for development were Shosaikoto and Hangeshashinto, which are widely distributed for medical and general use. The marker compounds were set according to the Japanese Pharmacopoeia 18th Edition. Using the marker compounds of each preparation and similar component standards, we examined the LC-MS/MS measurement conditions that can simultaneously separate and detect all the components. When each simulated preparation was analyzed under these conditions, all the set marker compounds were detected. The marker compounds of the removed herbal medicines were not detected in the blank preparations analyzed in the same way. From these results, it was considered that the set marker compounds were specific to each herbal medicine. When this test method was applied to commercially available Shosaikoto and Hangeshashinto extract preparations, all of the set indicator components were confirmed. From these results, this test method was considered to be suitable as a simultaneous confirmation test method for Shosaikoto and Hangeshashinto.

Key words : Kampo, Shosaikoto, Hangeshashinto, identification, liquid chromatograph-mass spectrometer (LC-MS)

資 料

愛知県水道水質検査外部精度管理調査結果について (R1～R5)

加藤千佳、堀田沙希、新美 瞳、原田知美、尾内彩乃¹、服部靖子²、
長谷川真照³、宮地斗美、佐藤隆治、棚橋高志、長瀬智哉、
續木洋一³、池田清栄、渡邊美奈恵⁴、磯貝勝人

¹（現所属）半田保健所、²（現所属）衣浦東部保健所、³（現所属）生活衛生課、⁴退職

要 旨

愛知県では、水質検査の技術の向上及び精度の確保を図ることを目的として水道事業者等を対象とした水道水質検査の外部精度管理調査を実施している。令和元年度から令和 5 年度の 5 年間に水質基準項目 10 項目をそれぞれ 9～15 施設を対象に調査したところ、すべての施設が良好な結果となったのは 8 項目であった。

キーワード：水質、外部精度管理

序 文

愛知県では、「愛知県水道水質検査外部精度管理事業運営要領」（平成 7 年 7 月 24 日策定）に基づき、自ら水質検査を行っている県内の水道用水供給事業者、水道事業者及び専用水道設置者（毎日検査項目の検査のみを行っている水道事業者を除く。）の検査施設のうち参加を希望した施設（以下、参加施設という。）を対象とした水道水質検査の外部精度管理調査を実施している。

本調査では、愛知県衛生研究所（以下、当所という。）が試料の調製及び各参加施設の検査結果の集計・解析をしており、その結果を各参加施設へ還元することで、水道水の水質検査の技術の向上及び精度の確保を図ることを目的としている。

今回、直近 5 年（令和元年度から令和 5 年度）に実施した調査について結果を報告する。

方 法

1. 試料調製

対象項目ごとに 1 濃度の共通試料を調製し、直接又は郵送にて各参加施設に配布した。試料は市販標準液等を精製水又は当所水道水で希釈して次のように調製した。

（1）色度（令和元年度）

色度標準液（関東化学株式会社、色度試験用、1000 度）を精製水で希釈して調製した。最終濃度は 1.2 度となるよう調製した。

（2）フェノール類（令和元年度）

2,4-ジクロロフェノール標準品（関東化学株式会社、環境分析用）、2,4,6-トリクロロフェノール標準品（Dr. Ehrenstorfer GmbH、環境分析用）をアセトンに溶かし、アスコルビン酸ナトリウム、硫酸銅（Ⅱ）五水和物及びリン酸（1+9）を加えた当所水

道水で希釈して調製した。最終濃度はフェノールの量に換算して 1.07 µg/L (2,4-ジクロロフェノール 1.20 µg/L、2,4,6-トリクロロフェノール 0.80 µg/L) となるよう調製した。

(3) 蒸発残留物 (令和 2 年度)

塩化ナトリウム (関東化学株式会社、残留農薬・PCB 試験用) を精製水で希釈して調製した。最終濃度は 250 mg/L となるよう調製した。

(4) ベンゼン (令和 2 年度)

ベンゼン標準原液 (関東化学株式会社、水質試験用、1000 mg/L) を当所水道水で希釈して調製した。最終濃度は 8.93 µg/L となるよう調製した。

(5) カルシウム、マグネシウム等 (硬度) (令和 3 年度)

カルシウム標準液 1 (Ca1000) (関東化学株式会社、化学分析用、1000 mg/L) 及びマグネシウム標準液 1 (Mg1000) (関東化学株式会社、化学分析用、1000 mg/L) を精製水で希釈して調製した。最終濃度は硬度として 25.7 mg/L (カルシウム 7.0 mg/L、マグネシウム 2.0 mg/L) となるよう調製した。

(6) 陰イオン界面活性剤 (令和 3 年度)

デシルベンゼンスルホン酸ナトリウム標準液 (富士フイルム和光純薬株式会社、水質試験用、1000 mg/L) 及びトリデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム標準液 (富士フイルム和光純薬株式会社、水質試験用、1000 mg/L) を精製水で希釈して調製した。最終濃度は陰イオン界面活性剤として 0.0849 mg/L (デシルベンゼンスルホン酸ナトリウム 0.0434 mg/L、トリデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム 0.0415 mg/L) となるよう調製した。

(7) 塩化物イオン (令和 4 年度)

塩化物イオン標準液 (関東化学株式会社、化学分析用、1000 mg/L) を精製水で希釈して調製した。最終濃度は 15.0 mg/L となる

よう調製した。

(8) 六価クロム化合物 (令和 4 年度)

クロム標準液 1 (関東化学株式会社、化学分析用、1000 mg/L) を硝酸を加えた精製水で希釈して調製した。最終濃度は 3.50 µg/L となるよう調製した。

(9) pH 値 (令和 5 年度)

リン酸二水素ナトリウム・二水和物 (関東化学株式会社、特級) 及びリン酸水素二ナトリウム (関東化学株式会社、特級) を精製水で希釈して調製した。pH 値 6.45 となるよう調製した。

(10) 亜鉛及びその化合物 (令和 5 年度)

亜鉛標準液 (関東化学株式会社、化学分析用、1000 mg/L) を硝酸を加えた精製水で希釈して調製した。最終濃度は 0.400 mg/L となるよう調製した。

2. 実施方法・結果報告

測定は告示法¹⁾に従い、5 回併行で行うこととした。結果は所定の様式にて 5 回の測定値とその平均値 (報告値)、測定条件、測定記録を報告することとした。なお、フェノール類はフェノール、2-クロロフェノール、4-クロロフェノール、2,4-ジクロロフェノール、2,6-ジクロロフェノール及び 2,4,6-トリクロロフェノールをそれぞれフェノールの量に換算した値を合計して値を算出するため、それぞれの測定結果についても報告を求めた。同様に、陰イオン界面活性剤はデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム、ウンデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム、ドデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム、トリデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム及びテトラデシルベンゼンスルホン酸ナトリウムの濃度を合計して値を算出するため、それぞれの測定結果についても報告を求めた。

機器分析による検査の場合は各項目について測定データ、妥当性評価ガイドライン²⁾に基づく妥当性評価書の写しの提出を求めた。

3. 測定結果の処理

各施設からの報告値を当所にて統計処理し、測定方法、最大値、最小値、平均値、変動係数、標準偏差等を集計した。なお、各施設の5回併行測定結果の平均値を用いて有意水準1%でGrubbsの棄却検定(JIS Z8402-2)を行い、これによって棄却された施設の値は外れ値と判定し統計解析から除外した。有意水準5%で棄却された施設の値については、外れ値と判定したが、統計解析から除外しなかった。

また、各施設の5回併行測定の結果から施設ごとの誤差率及び施設内変動係数を算出した。真値は外れ値を除いた各施設の5回併行測定結果の平均値とした。これらの値の評価基準は無機物は誤差率±10%以内、施設内変動係数10%以下とし、有機物は誤差率±20%以内、施設内変動係数20%以下とした³⁾。

結果及び考察

1. 5回併行測定の結果

各施設の5回併行測定の結果から求めた施設ごとの誤差率及び施設内変動係数を表1、2に示した。

まず、誤差率についてみると、全施設が評価基準内であった項目数は8であり、評価基準外の施設があったのは色度、亜鉛及びその化合物の2項目であった。

次に施設内変動係数についてみると、すべての項目が施設内変動係数10%以下で良好な結果であった。

2. 施設間の比較

各項目における各施設の測定値のヒストグラムを図1に示す、また項目ごとに求めた標準偏差、変動係数等を表3に示す。それぞれの項目について、順に解析結果及び測定条件等に対する指摘事項を記述する。

表1 各施設の誤差率

実施年度	項目	参加施設数	誤差率(%)	施設数		
			最小/最大	-20≤誤差率(%)<-10	-10≤誤差率(%)≤10	10<誤差率(%)≤20
令和元	色度	15	-19.7 / 183.6	1	11	2
	フェノール類	9	-18.2 / 12.5	2	6	1
令和2	蒸発残留物	13	-5.9 / 3.1		13	
	ベンゼン	11	-10.4 / 11.5	1	9	1
令和3	硬度	14	-3.3 / 2.5		14	
	陰イオン界面活性剤	9	-9.2 / 7.0		9	
令和4	塩化物イオン	13	-5.0 / 5.8		13	
	六価クロム化合物	12	-8.6 / 2.8		12	
令和5	pH値	15	-0.5 / 0.6		15	
	亜鉛及びその化合物	13	-9.4 / 71.5		12	1

表2 各施設の施設内変動係数

実施年度	項目	参加施設数	施設内変動係数(%)
			最小/最大
令和元	色度	15	0.0 / 2.5
	フェノール類	9	0.4 / 9.7
令和2	蒸発残留物	13	0.2 / 2.4
	ベンゼン	11	0.6 / 8.4
令和3	硬度	14	0.0 / 4.2
	陰イオン界面活性剤	9	0.6 / 4.0
令和4	塩化物イオン	13	0.0 / 0.5
	六価クロム化合物	12	0.3 / 7.8
令和5	pH値	15	0.0 / 0.2
	亜鉛及びその化合物	13	0.1 / 5.9

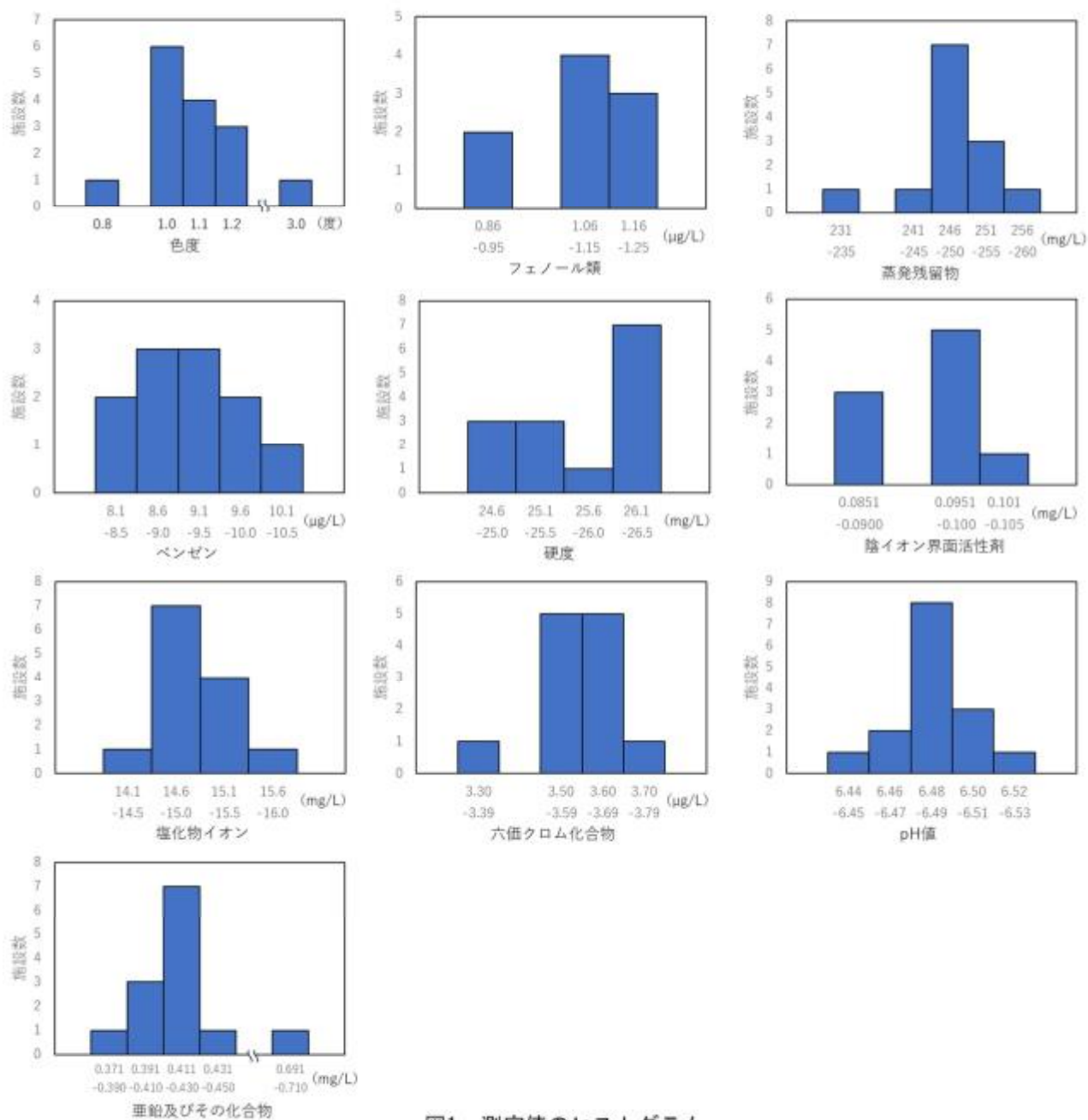


図1 測定値のヒストグラム

表3 棄却検定で採択された施設の結果

実施年度	項目	データ数	最小値/最大値	平均値	標準偏差	変動係数(%)
令和元	色度	14	0.8 / 1.2度	1.06度	0.11度	10.3
	フェノール類	9	0.890 / 1.22 μg/L	1.09 μg/L	0.12 μg/L	10.7
令和2	蒸発残留物	13	233 / 256 mg/L	248 mg/L	5.6 mg/L	2.2
	ベンゼン	11	8.13 / 10.1 μg/L	9.07 μg/L	0.65 μg/L	7.1
令和3	硬度	14	24.9 / 26.4 mg/L	25.8 mg/L	0.58 mg/L	2.3
	陰イオン界面活性剤	9	0.0857 / 0.101 mg/L	0.0944 mg/L	0.00560 mg/L	5.9
令和4	塩化物イオン	13	14.2 / 15.8 mg/L	14.9 mg/L	0.40 mg/L	2.7
	六価クロム化合物	11	3.57 / 3.71 μg/L	3.61 μg/L	0.045 μg/L	1.2
令和5	pH値	15	6.45 / 6.52	6.48	0.02	0.3
	亜鉛及びその化合物	12	0.375 / 0.443 mg/L	0.414 mg/L	0.018 mg/L	4.3

(1) 色度（令和元年度）

測定方法は、参加 15 施設のうち、14 施設が透過光測定法、1 施設が比色法を用いていた。報告値は、透過光測定法で 0.8～1.2 度、比色法で 3 度であった。比色法の 1 施設については機器分析でないため統計処理から除外した。

機器分析法を用いた 14 施設のうち、測定当日検量線を作成していたのは 10 施設、1 か月以上前が 4 施設であった。当日に検量線を作成しなかった 4 施設中、検査当日標準液で確認していたのは 2 施設、不明が 2 施設であった。当日に検量線を作成しておらず、誤差率が-19.7%であった施設から光源ランプの劣化が認められたとの報告があった。機器分析法では検量線作成後時間が経過するにつれて、光源ランプの劣化などにより測定誤差が生じるため、検査当日に標準液による確認をすることが望ましい。

(2) フェノール類（令和元年度）

測定方法は、参加 9 施設のうち、8 施設が固相抽出-誘導体化-ガスクロマトグラフ-質量分析（GC/MS）法、1 施設が固相抽出-液体クロマトグラフ-質量分析（LC/MS）法を用いていた。報告値は、GC/MS 法 0.890～1.22 µg/L、LC/MS 法 1.19 µg/L であった。解析の結果、外れ値となった施設はなかった。また、評価基準をすべての施設が満たしていた。

フェノール類の各成分のそれぞれの測定結果についても確認した。その結果、1 施設から添加していないフェノールが報告された。当該施設は検量線の濃度範囲外で定量をしており、不適切であった。また、2 施設が 2,4-ジクロロフェノールを 2,6-ジクロロフェノールと誤って同定しており、単品の標準液による保持時間の確認が必要とされた。

(3) 蒸発残留物（令和 2 年度）

測定方法は、参加 13 施設のすべてが重量法を用いていた。報告値は 233～256 mg/L

であった。1 施設が Grubbs 検定により危険率 5%で棄却されたが、誤差率は-5.9%と小さく、結果は良好であると考えられた。

天秤について定期的な校正を実施していない施設が 1 施設あった。天秤は、長時間の使用や汚れ等により誤差が発生することがあるため、正確な測定値を得るためには定期的な校正が必要である。

(4) ベンゼン（令和 2 年度）

測定方法は、参加 11 施設のうち、8 施設がページ・トラップ-ガスクロマトグラフ-質量分析（PT-GC/MS）法、3 施設がヘッドスペース-ガスクロマトグラフ-質量分析法（HS-GC/MS）法を用いていた。報告値は、PT-GC/MS 法 8.13～10.10 µg/L、HS-GC/MS 法 8.23～8.63 µg/L であった。解析の結果、外れ値となった施設はなかった。また、評価基準をすべての施設が満たしていた。

各施設から提出された検量線を確認したところ、1 施設において原点を強制的に通過させた検量線を作成していた。妥当性評価ガイドラインでは、原点を強制的に通過させないこととなっているため、設定の変更が必要である。

(5) カルシウム、マグネシウム等（硬度）（令和 3 年度）

測定方法は、参加 14 施設のうち、8 施設がイオンクロマトグラフ分析（IC）法、4 施設が滴定法、1 施設が誘導結合プラズマ発光分光分析（ICP-AES）法、1 施設が誘導結合プラズマ-質量分析（ICP-MS）法を用いていた。報告値は、IC 法 24.9～26.4 mg/L、滴定法 25.3～26.4 mg/L、ICP-AES 法 25.0 mg/L、ICP-MS 法 26.2 mg/L であった。解析の結果、外れ値となった施設はなかった。また、評価基準をすべての施設が満たしていた。

1 施設において空試験の実施について記載がなかった。告示法には空試験の実施が規定されており、規定に従って検査を実施する必要がある。

告示法において、滴定法では検水に塩化マグネシウム溶液を加える。滴定法を用いた 1 施設において塩化マグネシウム溶液を使用していなかった。告示法に従って検査を実施する必要がある。

(6) 陰イオン界面活性剤（令和 3 年度）

測定方法は、参加 9 施設のすべてが固相抽出-高速液体クロマトグラフ法を用いていた。報告値は 0.0857~0.101 mg/L であった。解析の結果、外れ値となった施設はなかった。また、評価基準をすべての施設が満たしていた。

陰イオン界面活性剤の各成分それぞれの測定結果を確認した。すべての施設でデシルベンゼンスルホン酸ナトリウム及びトリデシルベンゼンスルホン酸ナトリウムのみが適切に検出されていた。

(7) 塩化物イオン（令和 4 年度）

測定方法は、参加 13 施設のうち、12 施設が IC 法、1 施設が滴定法であった。報告値は、IC 法 14.2~15.8 mg/L で、滴定法 15.1 mg/L であった。解析の結果、外れ値となった施設はなかった。また、評価基準をすべての施設が満たしていた。

IC 法を用いた施設について検量線を確認すると、11 施設が直線、1 施設が 2 次曲線を用いていた。また、2 施設は塩化物イオン濃度によって検量線を使い分けていた。

(8) 六価クロム化合物（令和 4 年度）

測定方法は、参加 12 施設のうち、10 施設が ICP-MS 法、2 施設がフレイムレス-原子吸光度（FL-AAS）法であった。報告値は、ICP-MS 法 3.30~3.66 µg/L、FL-AAS 法 3.60~3.71 µg/L であった。1 施設が Grubbs 検定により危険率 1%で棄却されたが、誤差率は-8.6%で評価基準内であり、良好な結果であると考えられた。

FL-AAS 法を用いた 1 施設において、告示法と異なる波長を測定波長としていた。告示法の規定に従い測定波長を定める必要が

ある。

2 施設において検量線の測定濃度が妥当性評価書に記載された濃度と一致していなかった。現在用いている検量線の測定濃度で妥当性を評価することが望ましい。

(9) pH 値（令和 5 年度）

測定方法は、参加 15 施設のすべてがガラス電極法を用いていた。報告値は 6.45~6.52 であった。解析の結果、外れ値となった施設はなかった。また、評価基準をすべての施設が満たしていた。

告示法には pH 値の試験方法として、ガラス電極法の他に連続自動測定器によるガラス電極法が示されている。ここでは、装置として繰り返し精度±0.1pH 以内の性能を有すること、また、運用中の装置について常時保持されていなければならない保守管理基準として、±0.1pH 以内が規定されている。今回、5 回併行測定の結果がこの範囲を超える施設はなく、良好な結果であった。

(10) 亜鉛及びその化合物（令和 5 年度）

測定方法は、参加 13 施設のうち、10 施設が ICP-MS 法、2 施設が FL-AAS 法、1 施設が ICP-AES 法であった。報告値は ICP-MS 法 0.375~0.429 mg/L、FL-AAS 法 0.443~0.710 mg/L、ICP-AES 法 0.397 mg/L であった。1 施設が Grubbs 検定により危険率 1%で棄却された。

外れ値と判定された施設は FL-AAS 法を用いており、測定データを確認すると、検量線に用いた標準列の吸光度が、直前に実施していた妥当性評価における標準列の吸光度に比べ、31.7~43.8%低い値となっていた。亜鉛標準液の希釈操作の不備により、当該検量線を用いて定量した測定値が高くなった可能性が示唆された。そこで、直前に実施された妥当性評価書の検量線を用いて、今回測定された検体の吸光度から濃度を計算すると、平均値 0.442 mg/L となり、誤差率は 6.8%で評価基準を満たす結果となった。

まとめ

自ら水質検査を行っている県内の水道用水供給事業者、水道事業者及び専用水道設置者を対象とした水道水質検査の外部精度管理調査を実施した。令和元年度から令和5年度までの5年間に実施した項目数は10で、その内訳は基礎的性状、無機物質、一般有機物、重金属であった。調査結果から、施設ごとの5回併行測定における施設内変動係数は小さく、評価基準を満たしており、良好と考えられた。しかし、誤差率については件数は少なかったが、比較的大きな誤差率が認められた項目があったことから、

測定精度向上のため試薬管理、分析操作、機器管理等の再確認が必要であると考えられた。

文 献

- 1) 厚生労働省告示“水質基準に関する省令の規定に基づき環境大臣が定める方法”
平成15年7月22日厚生労働省告示第261号
- 2) 厚生労働省健康局水道課長通知“水道水質検査方法の妥当性評価ガイドライン”
平成24年9月6日健水発0906第1号別添
- 3) 日本水道協会：上水試験方法Ⅰ．総説・資料編．115，2020

External Quality Control Results of Tap Water Quality Inspection in Aichi Prefecture (FY2019 – FY2023)

Chika Kato, Saki Hotta, Hitomi Niimi, Tomomi Harada, Ayano Onouchi¹,
Yasuko Hattori², Masateru Hasegawa³, Tomi Miyaji, Ryuuji Sato,
Takashi Tanahashi, Tomoya Nagase, Hirokazu Tsuzuki³,
Seiei Ikeda, Minae Watanabe⁴, Masato Isogai

¹Present affiliation: Handa Health Center, ²Present affiliation: Kinuura-Tobu Health Center, ³Present affiliation: Environmental Health Division, Environmental Health Department, Aichi Prefectural Government, ⁴Retired

In Aichi Prefecture, an external accuracy control survey of tap water quality inspections is conducted targeting water supply operators, with the aim of improving inspection techniques and ensuring accuracy. This report covers the survey results from FY 2019 to FY 2023.

Over the five years from FY 2019 to FY 2023, ten items were inspected. These items included basic properties, inorganic substances, general organic substances, and heavy metals.

The survey results indicated that the within-facility coefficient of variation for five parallel measurements at each facility was small, meeting the evaluation criteria and considered good. However, despite the low number of cases, some items showed relatively large error rates. Therefore, it was deemed necessary to re-evaluate analytical operations and equipment management to improve measurement accuracy.

Key words : water quality, external quality control

他誌掲載論文抄録

Genetic Comparison of Human Parainfluenza Virus Type 3 Detected in Respiratory Samples from Patients with Encephalopathy and Airway Inflammation in Aichi Prefecture, Japan

Adachi H, Minagawa H, Hirose E, Nakamura N, Niimi H, Saito N, Ito M, Sato K, Yasui Y
Japanese journal of infectious diseases, 77(3):155-160. doi: 10.7883/yoken.JJID.2023.265.
(2024)

Human parainfluenza virus type 3 (HPIV-3, human respirovirus 3) is the second most frequently detected virus in lower respiratory tract infections in children after human respiratory syncytial virus (HRSV). HPIV-3, similar to related respiratory viruses such as HRSV and influenza virus, may cause encephalopathy; however, the relevance of HPIV-3 as a pathogenic factor in encephalopathy is unknown. We attempted to detect HPIV-1, HPIV-2, HPIV-3, HPIV-4, HRSV, and human metapneumovirus (HMPV) in 136 patients with encephalitis/encephalopathy or suspected encephalitis/encephalopathy during a 6-

year period from 2014 to 2019. HPIV-3 was detected in 6 patients, followed by HRSV in 3 patients. The HPIV-3 strains detected were closely related to those detected in a patient with respiratory disease during the same period. Although HPIV-3 is less widely recognized than HRSV as a triggering virus of encephalopathy, our results suggest that HPIV-3 is as important as HRSV. Surveillance of the causative viruses of encephalopathy, including HPIV-3, would help clarify the causes of encephalopathy in Japan, as the cause is currently reported in less than half of cases in Japan.

2022 年度風疹予防接種状況および抗体保有状況—2022 年度感染症流行予測調査（暫定結果）

森 嘉生¹、坂田真史¹、竹田 誠¹、長谷川秀樹¹、梁 明秀¹、林 愛²、菊池風花²、新井智²、神谷 元²、鈴木 基²、2022 年度風疹感受性調査実施都道府県（愛知県衛生研究所 齋藤典子、諏訪優希他）

¹ 国立感染症研究所ウイルス第三部、² 国立感染症研究所感染症疫学センター
病原微生物検出情報 45(4):57-59, 2024

2022 年度の感染症流行予測調査では、全国 16 都道府県で風疹の抗体保有状況が調査された。対象は 4,144 人で、赤血球凝集抑制 (HI) 法で抗体価が測定された。1 回以上の風疹ワクチン接種率は、1~2 歳の男女で 60%以上、20 歳以上では男性 21%、女

性 37%であった。抗体保有率は 1 歳で 77%、2 歳以上では 90%以上であったが、男女別に比較をすると、40~69 歳の男性では 90%を下回った。これは、1962 年 4 月 2 日~1979 年 4 月 1 日生まれの男性がワクチン定期接種対象外だったためである。2022 年度

の抗体保有率は86%で、前年度より2ポイント減少したが、2018年度(81%)からは5ポイント増加し、定期接種対象内の男性や同年代の女性との差は縮小している。定期接種対象外の男性を対象とした風疹の第

5期定期接種が2024年度末まで延長されており、本調査を継続して実施することでこの対策に対する効果を評価していくことが重要と考えられた。

1972～2022年度の感染症流行予測調査事業の風疹抗体価のデータを用いた風しん含有ワクチン接種スケジュールとの抗体保有状況の関連性の比較

森 嘉生¹、坂田真史¹、竹田 誠¹、長谷川秀樹¹、梁 明秀¹、林 愛²、菊池風花²、新井 智²、神谷 元²、鈴木 基²、感染症流行予測調査事業風疹調査グループ(愛知県衛生研究所 齋藤典子、諏訪優希、佐藤克彦、安井善宏他)

¹国立感染症研究所ウイルス第三部、²国立感染症研究所感染症疫学センター
病原微生物検出情報 45(4):65-68, 2024

1977年から日本で風疹含有ワクチンが定期接種として導入され、対象年齢や接種回数の変更が行われてきたが、2012～2013年および2018～2019年には大規模な流行が発生した。特に成人男性の患者が多く報告され、2019年度からは接種機会がなかった1962年4月2日～1979年4月1日生まれの男性を対象に第5期接種が開始された。本研究では、1972～2022年度の感染症流行予測調査データを用いて、延べ155,964名

の抗風疹赤血球凝集抑制抗体の保有状況を分析した。出生時期別に抗体保有状況を比較すると、男性では男女に定期接種機会がなかった世代よりも中学生女子にのみ接種機会が提供されていた出生集団(1962年4月～1979年3月)の方が抗体保有率は低かった。一方、女性の接種機会が提供された出生集団では、90%を超える抗体保有率が維持されていた。

感染症流行予測調査事業による新型コロナウイルス下水サーベイランス

実施都道府県(愛知県衛生研究所他)、新井 智¹、神垣太郎¹、喜多村晃一¹、鈴木 基¹、吉田 弘¹

¹国立感染症研究所
病原微生物検出情報 45(6):100-101, 2024

令和6(2024)年度にSARS-CoV-2下水サーベイランスは感染症流行予測調査事業(以下、事業)として感染源調査へ加わり、初年度は12カ所の地方衛生研究所(16処理場を対象)の協力を得て調査を実施する予定である。本事業による下水中のウイルス調査は、ポリオウイルス〔平成25(2013)年度開始〕に続き2番目である。

下水サーベイランスは地域内の感染動向を把握するための補完情報として活用することを想定している。

下水などの環境水中には膨大な微生物情報が含まれることを踏まえ、公衆衛生対策上、対象とする感染症の種類、手法の検討、流行予測方法の開発など、次期パンデミックに備えた研究として進展が期待される。

麻疹の抗体保有状況—2023 年度感染症流行予測調査（暫定結果）

大槻紀之¹、梁 明秀¹、菊池風花²、林 愛²、新井 智²、鈴木 基²、2023 年度麻疹感受性調査実施都道府県（愛知県衛生研究所 諏訪優希、安井善宏他）

¹ 国立感染症研究所ウイルス第三部、² 国立感染症研究所感染症疫学センター
病原微生物検出情報 45 (9):152-153, 2024

2023 年度の感染症流行予測調査において、麻疹の抗体保有状況が調査された。本調査は、国民の抗体保有状況を把握し、効果的な予防接種施策を立案することを目的としている。調査は全国 21 都道府県で実施され、酵素免疫測定 (EIA) 法により麻疹 IgG 抗体価が測定された。調査対象は 0 歳から 93 歳までの 5,483 名で、全体の抗体保有率

は 96.2% であったが、特定の年齢層では 95% 未満の保有率が見られた。特に 1 歳児や 10 代の抗体保有率の低さが目立ち、これは昨年度の調査結果と同様の傾向である。

ワクチン接種者からも患者の発生が続いており、麻疹の集団発生を防ぐには、高い予防接種率と抗体保有率の維持が重要である。今後も継続的な監視が求められる。

2023/24 シーズンのインフルエンザ分離株の解析

岸田典子¹、中村一哉¹、藤崎誠一郎¹、高下恵美¹、佐藤 彩¹、秋元未来¹、三浦秀佳¹、森田博子¹、永田志保¹、白倉雅之¹、菅原裕美¹、渡邊真治¹、長谷川秀樹、インフルエンザ株サーベイランスグループ（安達啓一、安井善宏他）

¹ 国立感染症研究所 インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター、
病原微生物検出情報 45(11):182-186, 2024

2023/24 シーズンのインフルエンザは、世界的には、過去 2 シーズンにみられたはっきりとした二峰性のピークではなく、新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) 流行前のようなピークが 1 つの流行であった。国・地域により割合は異なるが、全体としては A 型ウイルスでは A(H3N2) が多く検出され、B 型ウイルスはすべてが Victoria 系統であった。日本の流行は、2022/23 シーズンのピーク (2023 年第 6 週) 後、全国の定点当

たり患者報告数は減少したが 1.0 以下になることなく、そのまま 2023/24 シーズンに入った。2023 年第 36 週以降報告数は増加し、第 49 週でピークとなり年末に向かって減少したが、2024 年第 1 週以降再び増加後、第 6 週でピークとなり、二峰性のピークが確認された。亜型・系統別では、2023 年中は A/H3 と A/H1pdm09 が多く報告されたが、年明けから B 型 (Victoria 系統) が多く報告された。

2023 年度感染症流行予測調査におけるインフルエンザ抗体保有状況および予防接種状況 (2024 年 4 月現在)

2023 年度インフルエンザ感受性調査・予防接種歴調査実施都道府県 (安達啓一、安井善宏)、渡邊真治¹、長谷川秀樹¹、林 愛²、菊池風花²、新井 智²、神谷 元²、鈴木 基²

¹ 国立感染症研究所 インフルエンザ・呼吸器系ウイルス研究センター、² 国立感染症研究所

感染症疫学センター

病原微生物検出情報 45(11):189-190, 2024

接種歴調査の結果では、2～12歳と60歳以上の年齢群の接種割合が他の年齢群に比べて高く、二峰性を示した。これは過去の各シーズンと同様の傾向であった。

抗体保有割合は、それぞれの亜型・系統でピークの年齢層が異なり、A(H1N1)pdm09亜型では全年齢で非常に低く、A(H3N2)亜型では0～4歳群、40～44歳群および70歳以上群を除き31%未満で推移し、B型（山形系統）では30～34歳群および55～59歳

群、B型（Victoria系統）では55～59歳群でピークを示した。一方で、0～4歳群における抗体保有割合はすべての亜型に対して10-20%前後で推移した。

病原体サーベイランスによると2022/23シーズンの流行状況は2020/21シーズンおよび2021/22シーズンと異なり、2023年に入り主にA/H3亜型インフルエンザウイルスの流行が確認された。

愛知県衛生研究所報

第 75 号

令和 7(2025)年 3 月 発行

〒462-8576

名古屋市北区辻町字流 7 番 6

愛知県衛生研究所

電話：052-910-5618（代表）

FAX：052-913-3641

e-mail: eiseiken@pref.aichi.lg.jp

愛知県衛生研究所ウェブサイト：<https://www.pref.aichi.jp/eiseiken>

電話（ダイヤルイン）

総務課	052-910-5618
企画情報部	
健康科学情報室	052-910-5619
生物学部	052-910-5654
ウイルス研究室	052-910-5674
細菌研究室	052-910-5669
医動物研究室	052-910-5654
衛生化学部	052-910-5638
医薬食品研究室	052-910-5639
生活科学研究室	052-910-5643

Published by

AICHI PREFECTURAL INSTITUTE OF PUBLIC HEALTH

7-6 Nagare, Tsuji-cho, Kita-ku, Nagoya, 462-8576 Japan

（この刊行物は再生紙を使用しています）