
東京都微生物検査情報

MONTHLY MICROBIOLOGICAL TESTS REPORT, TOKYO

第42巻（2021年）
総 集 編



東京都健康安全研究センター

<https://idsc.tmiph.metro.tokyo.lg.jp/>

ISSN 1883-2636

第 42 巻 目 次

号	題名	項
第1号	COVID-19流行下におけるインフルエンザの流行状況 (東京都：第36週～第4週)	1
第2号	新型コロナウイルス感染症の流行下における感染症発生 動向調査定点把握疾患報告数の変化	5
第3号	東京都内の畜水産食品における食中毒菌分離状況 (2019年度)	8
	2020年度に東京都内で発生したノロウイルス GⅡ.2[P16]による食中毒事例	11
第4号	カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) における β ラ クタマーゼ遺伝子保有状況 (平成31年4月～令和3年3月)	13
第5号	奮線虫の分子疫学解析による新たな知見	17
第6号	病原体レファレンス事業に基づく病原体等の収集と解析 結果 (令和2年度)	19
第7号	結核菌の薬剤耐性	23
第8号	東京都内の医療機関で分離された溶血性レンサ球菌感染 症由来株の血清型別及び <i>Streptococcus pyogenes</i> の薬 剤感受性状況 (2020年)	25
第9号	電子顕微鏡を使って微生物を観察する	29
第10号	2020年の全国及び東京都における食中毒発生状況	32
	東京都における胃腸炎起因ウイルスの検出状況 (2018/19シーズンから2020/21シーズン)	34
第11号	東京都において分離された赤痢菌の菌種、血清型および 薬剤感受性について (2019－2020年)	37

号	題名	項
第12号	ヒト免疫不全ウイルス（HIV）の抗体確認検査について	40
	新型コロナウイルスの変異株B.1.1.529系統（オミクロン株）の全ゲノム解析について	42
	新型コロナウイルス簡易抗原検査試薬のオミクロン株（BA.1）を用いた検討	44
	東京都における新型コロナウイルス変異株（オミクロン株）スクリーニング検査について	46

第1号

COVID-19流行下におけるインフルエンザの流行状況

東京都健康安全研究センター 微生物部
ウイルス研究科 熊谷 遼太

1. はじめに

インフルエンザウイルスは、オルトミクソウイルス科に属するエンベロープを持つ一本鎖 RNA ウィルスであり、急性呼吸器疾患の主要な原因ウィルスの一つである。インフルエンザウイルスは、A～D の 4 つの型に分類され、ヒトでの流行は主に A および B 型が原因となっている。A 型インフルエンザウイルスは、膜タンパク質であるヘマグルチニン (HA) およびノイラミニダーゼ (NA) の組み合わせにより、さらに多くの亜型に分類される。

日本におけるインフルエンザの流行は主に冬季にみられ (46 週～翌年 20 週)、A/H3N2 亜型、A/H1N1pdm09、B 型 Victoria 系統並びに Yamagata 系統の 4 種類が原因となる。一方で、北半球と季節が逆になる南半球では、インフルエンザの流行は夏季にみられ、7 月をピークとした流行が繰り返されている。

現在、新型コロナウイルス感染症 (COVID-19) が世界各地で蔓延している。このような背景を踏まえ、本稿では、COVID-19 流行下における国内外のインフルエンザ流行状況について報告する。

2. 海外におけるインフルエンザの流行状況

WHO のデータリソース (<https://apps.who.int/fluart/Default?ReportNo=12>) に基づき、オーストラリア、米国、カナダ等のインフルエンザの発生状況について報告する。

2020 シーズン、南半球の 3 か国 (オーストラリア、チリ、南アフリカ) では、COVID-19 の影響を強く受けていることが報告されている (図 1)^{1,2)}。これら 3 国の過去 3 シーズン (2017-2019 シーズン) では 178,690 件中 24,512 件 (13.7%) で、インフルエンザウイルスが検出されていたが、2020 シーズンは 83,307 件中 51 件 (0.06%) と著しく減少した¹⁾。なお、これらの国々においては、COVID-19 検査を行うと共にインフルエンザ検査を維持しており、検査

数減少による検出数低下ではないとされている。

2019/2020 シーズン、米国においては、COVID-19 による国家緊急事態宣言後、インフルエンザウイルス検査数を維持していたにも関わらず、急激に陽性率が低下したことが報告されている (図 2)¹⁾。また、カナダにおいても、最も人口が多いオンタリオ州での緊急事態宣言後、同様の傾向が確認されている。なお、2020/2021 シーズンの米国 (第 40～第 4 週) やカナダ (第 35 週～第 4 週) においては、陽性率が 0.16～0.38% (2019/2020 シーズン: 1.3～28.28%)、0.02～0.08% (過去 5 シーズン平均: 0.82～23.96%) と低値で推移している^{3,4)}。

3. 都内における 2020/2021 シーズン流行状況

日本におけるインフルエンザの流行シーズンは、毎年 9 月 (第 36 週) を境にシーズン分けされており、2020 年第 36 週～2021 年第 35 週が 2020/2021 年シーズンとなる。

都の 2020/2021 シーズンの定点あたりの患者報告数は、0.00～0.01 人で推移し (第 36 週～第 4 週)、流行開始基準 (1 人/定点) に至っておらず、昨年比の 100 分の 1 以下と著しく少ない (図 3)⁵⁾。また、感染症発生動向調査による東京都健康安全研究センターへの検体搬入は、例年と比較し非常に少なく、19 件 (同時点: 2018/2019 シーズン 257 件、2019/2020 シーズン 376 件) であった (図 4、図 5)。なお、これら 19 件からインフルエンザウイルスは検出されおらず、他のウィルス遺伝子が 8 件 (ライノウィルス 5 件、アデノウィルス 2 件、コクサッキーウィルス 4 型 1 件) 検出されている。

日本におけるインフルエンザ患者報告数は、1 月に国内で COVID-19 が報告されて以降、大きく減少している。これは、主に COVID-19 への感染対策 (マスク着用、ソーシャルディスタンス等の 3 密防止策等) が寄与していると考えられる。

今後、インフルエンザがどのように発生してくるのか、予測がつかないが、今シーズン以降の流行状況を注意深く監視していく必要がある。

<引用文献>

- 1) Sonja, J. O., et al.: *Am J Transplant*, **12**: 3681-3685, 2020.
- 2) 国立感染症研究所: 病原微生物検出情報, 41,

18-19, 2019.

- 3) CDC : Flu View Interactive, <https://www.cdc.gov/flu/weekly/fluviewinteractive.htm>
- 4) Canada.ca : Weekly influenza reports, <https://www.canada.ca/en/public-health/services/diseases/flu-influenza/influenza-surveillance/weekly-influenza-reports.html>

- 5) 東京都感染症情報センター : WEB 感染症発生動向調査, <https://survey.tokyo-eiken.go.jp/epidinfo/epimenu.do>

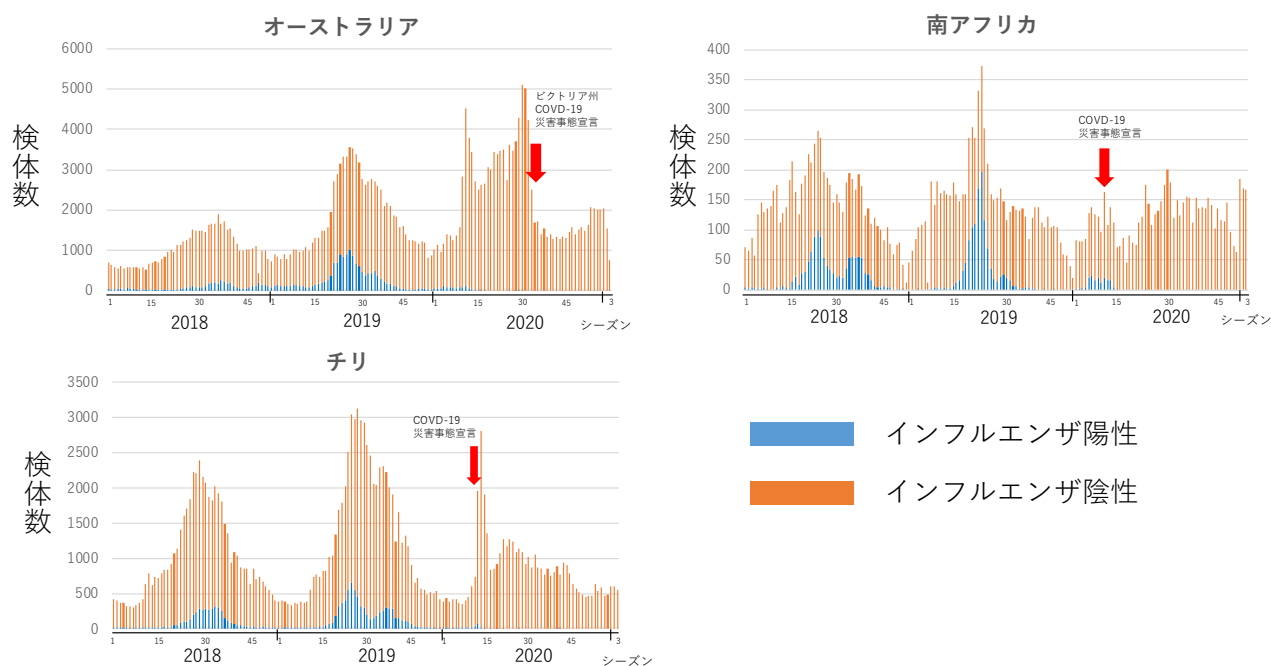


図 1. 南半球(オーストラリア、南アフリカ、チリ)におけるインフルエンザウイルスの流行状況 (2018 シーズン～2021 シーズン第 3 週)

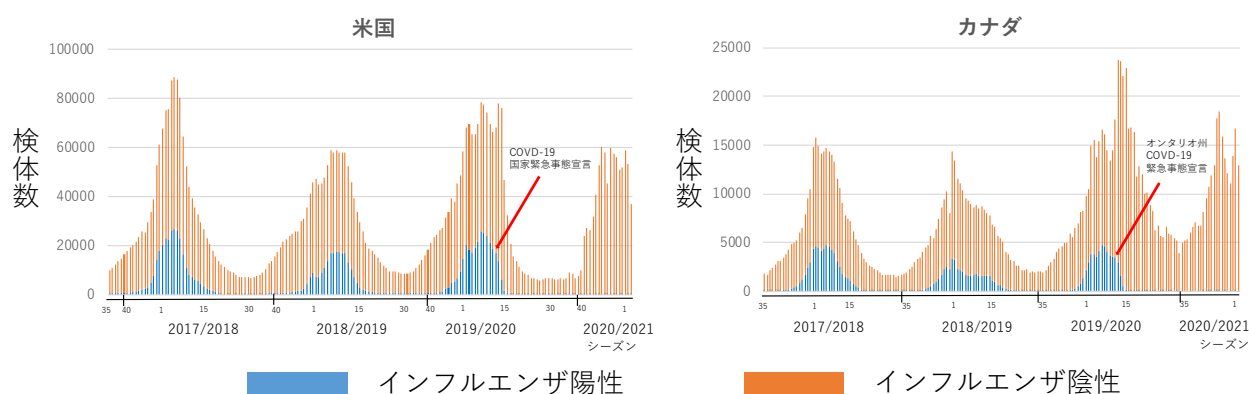


図 2. 米国、カナダにおけるインフルエンザウイルスの流行状況 (2017/2018 シーズン～2020/2021 シーズン第 3 週)

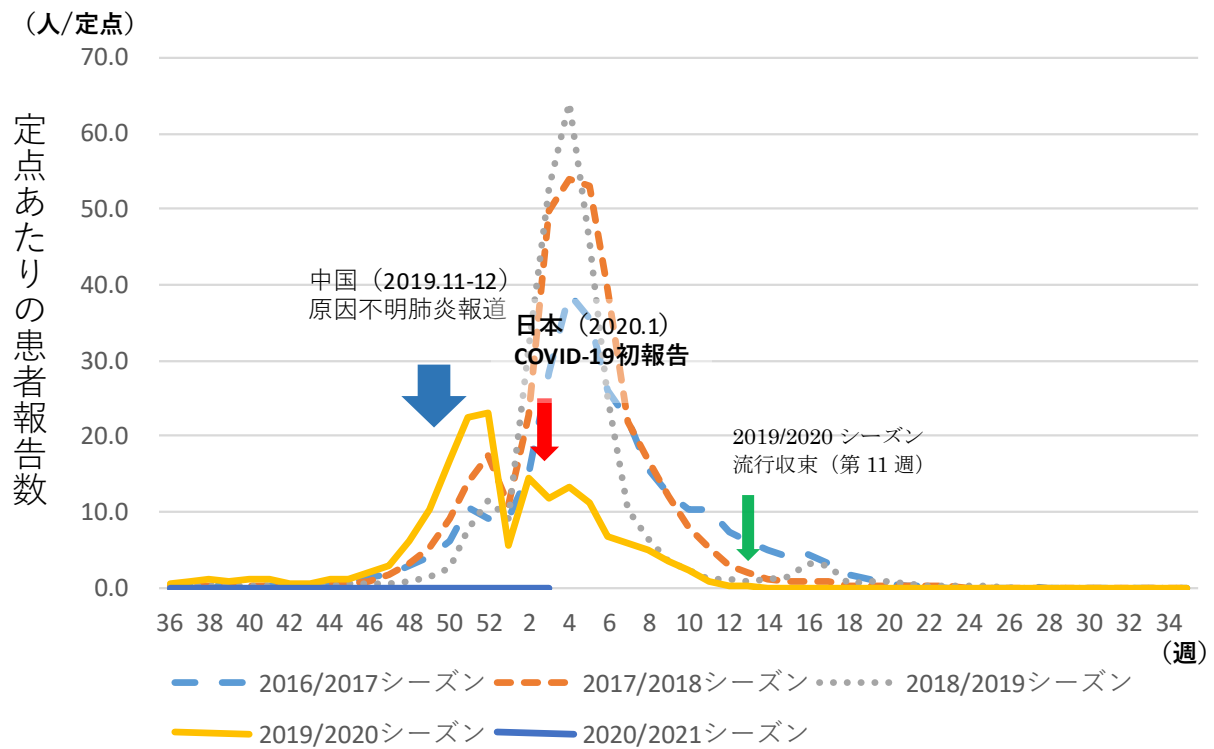


図 3. 東京都における定点医療機関当たり患者報告数

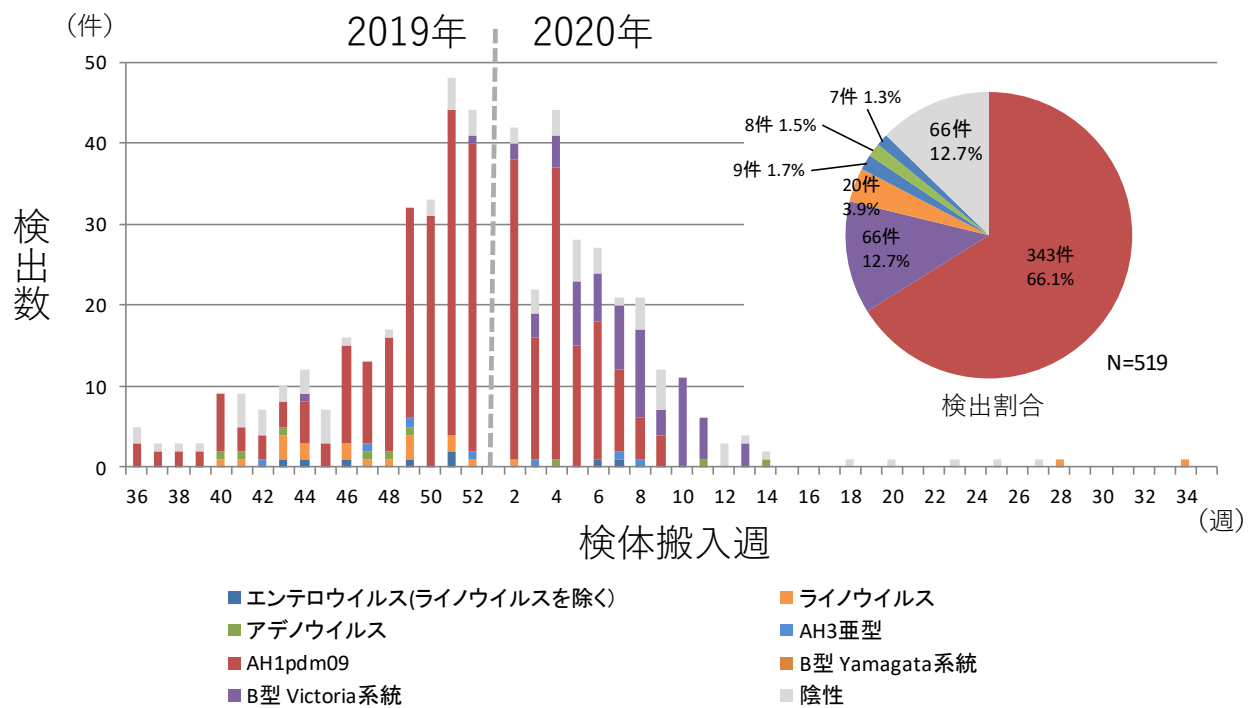


図 4. 2019/2020 シーズンのインフルエンザウイルス遺伝子検出数及び検出状況

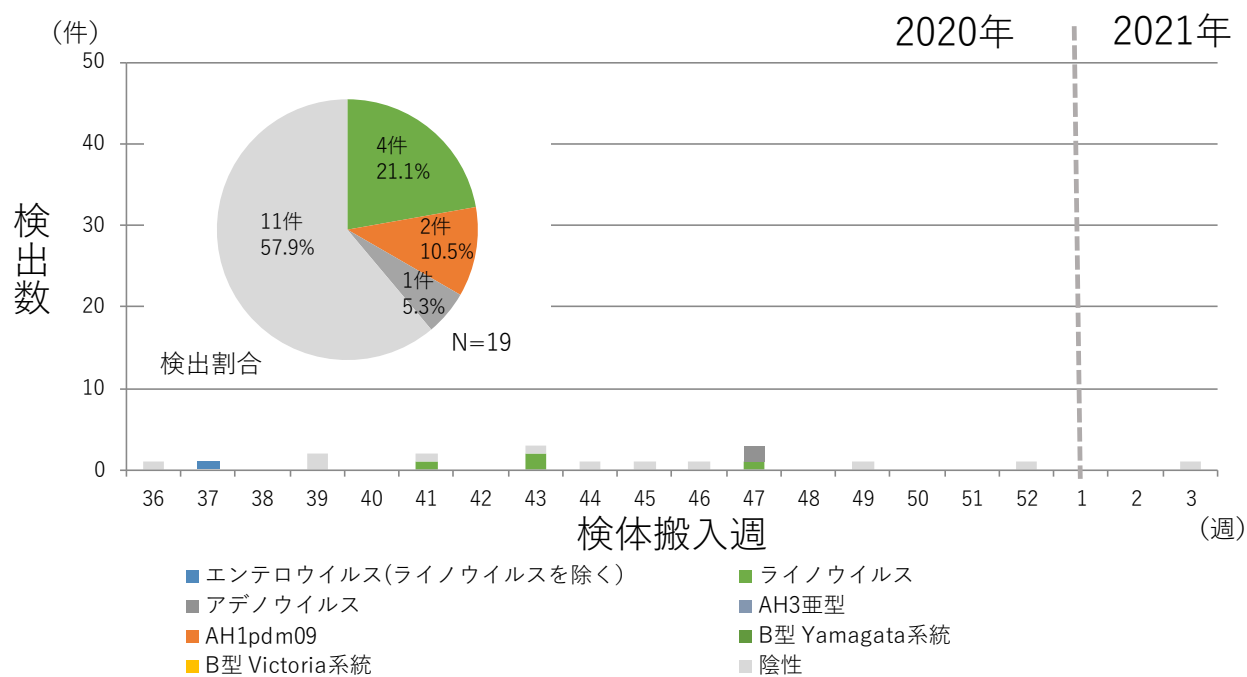


図 5. 2020/2021 シーズンのインフルエンザウイルス遺伝子検出数及び検出状況

第2号

新型コロナウイルス感染症流行下における感染症発生動向調査定点把握疾患報告数の変化

東京都健康安全研究センター

微生物部（企画調整部） 宗村 佳子

1. 感染症発生動向調査の位置づけ

感染症発生動向調査は、感染症の発生情報を正確に把握・分析し、その結果を迅速に提供・公開することによりの確な予防や治療を図ることを目的とし、1981年に開始された。その後、1999年の「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」施行に伴い、現在は同法に基づく施策として位置づけられている。対象は全数把握疾患と定点把握疾患に大別され、このうち定点把握疾患は同法の5類感染症の一部とされている。定点となる医療機関は、保健所管内人口や医療機関数に基づき定められ、東京都内のインフルエンザ定点医療機関は419カ所、小児科定点医療機関は264カ所で、個々の機関については変化があるものの、機関数は2011年以降変化していない。

2. 新型コロナウイルス感染症流行と行動変容

2020年初からの新型コロナウイルス感染症（COVID-19）の感染拡大に伴い、多くの行動変容がもたらされた。マスクの着用やソーシャルディスタンスの確保、手指消毒等が日常的な行動となった。また、社会においてはリモートワークやWeb会議・授業等が普及し、人と人とが直接接する機会が極端に減少した。2020年4月7日には7都府県に緊急事態宣言が出され（5月25日解除）、期間中はこの傾向はさらに顕著となった。集団感染の場となることが多い小学校・保育園等は休校・休園が相次ぎ、小児同士の接触機会も減少した。さらに、海外渡航制限等、人の移動パターンも大きく変化した。

こうした状況下におけるCOVID-19以外の感染症の発生動向を観察することは、今後の感染症対策を計画する上で有益と考えられる。そこで今回、定点把握疾患のうち、インフルエンザ及び小児科疾患について東京都における過去10年間の推移を示し、2020年の特徴を検証した。なお、分析に用いたデータは2021年1月12日現在のものに基づいた。

3. インフルエンザ及び小児科定点把握疾患の動向

図1に各疾患の週ごとの定点当たり報告数の推移を示し、また、図2に報告総数の年次推移を示した。

2020年は、いずれの疾患も過去10年間で最も報告数が少ない年となり、それまでの流行パターンも大きく崩れていた。国内においては、インフルエンザは冬期に流行、手足口病は1年おきに夏期に流行等、それぞれの疾患に特徴的な流行パターンが知られている。2011年から2019年までの東京都においても概ねその傾向が見受けられた。しかし、2020年には突発性発しんを除き、毎年流行する疾患でピークが見られない等変則的な動向となった。なお、突発性発しんは年ごとの報告数の変動が小さく、小児科定点報告が安定的に運用されていることを示す指標とされていることから¹⁾、東京都における調査の精度は2020年においても確保されていたと考えられる。

海外では、COVID-19の流行に伴うソーシャルディスタンスの確保等によりインフルエンザや呼吸器感染症が減少したとする報告がある²⁾³⁾。今回調査した2020年の各疾患の減数にも行動変容の影響があったと考えられるが、感染経路や好発年齢、病原体の抵抗性あるいはワクチン導入の有無等はそれぞれ異なっており、その寄与の程度には幅があると考えられる。

インフルエンザやRSウイルス感染症はここ数年増加の傾向にあったものが劇的に減少していたことから、COVID-19に対する行動変容の影響がより大きく表れたとも考えられる。一方、前述したように、突発性発しんはCOVID-19流行下においても一定の報告が見られたことから、行動変容の影響を受けにくい感染症と考えられる。2020年が非流行年であった手足口病や、ここ数年は減少傾向が続いていた感染性胃腸炎や水痘等は、2020年の減少はこれまでの流行パターンの延長とも受けとられ、行動変容がどの程度影響したかは、現段階では見極めが難しいといえる。2021年以降も引き続き動向を解析していく必要がある。

COVID-19流行に伴う行動変容や公衆衛生対策が、COVID-19以外の感染症の流行にどの程度寄与したかを明らかにすることは簡単ではない。しかし、かつてない感染症の脅威に対し社会や個人がとった行動の影響は小さくないと考えられる。今後も感染症の発生動向を注意深く見守る必要がある。

<引用文献>

- 1) 国立感染症研究所：突発性発疹，IASR, 41, 211-212, 2020.
- 2) Wiese AD, *et al.*, Clin Infect Dis. 2020 Jun 20: ciae834. doi: 10.1093/cid/caae834.
- 3) Chiu NC, *et al.*, J Med Internet Res. 2020 Aug 20; 22(8):e21257. doi: 10.2196/21257.

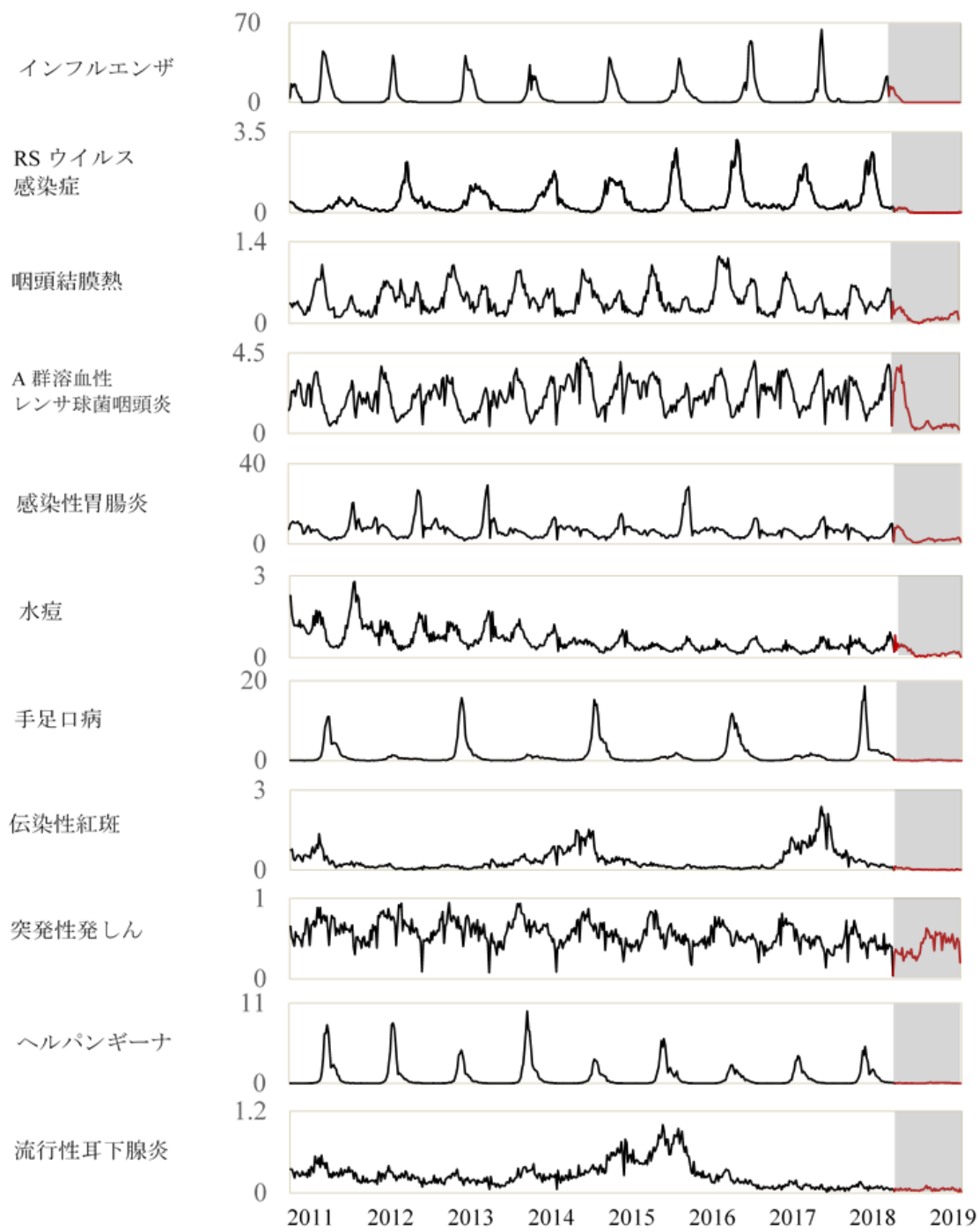


図 1. 感染症発生動向調査定点把握疾患の推移
(東京都, 2011 年～2020 年, インフルエンザ定点及び小児科定点,
縦軸はそれぞれの疾患の週ごとの定点当たり報告数(人)、横軸は年を表す。)

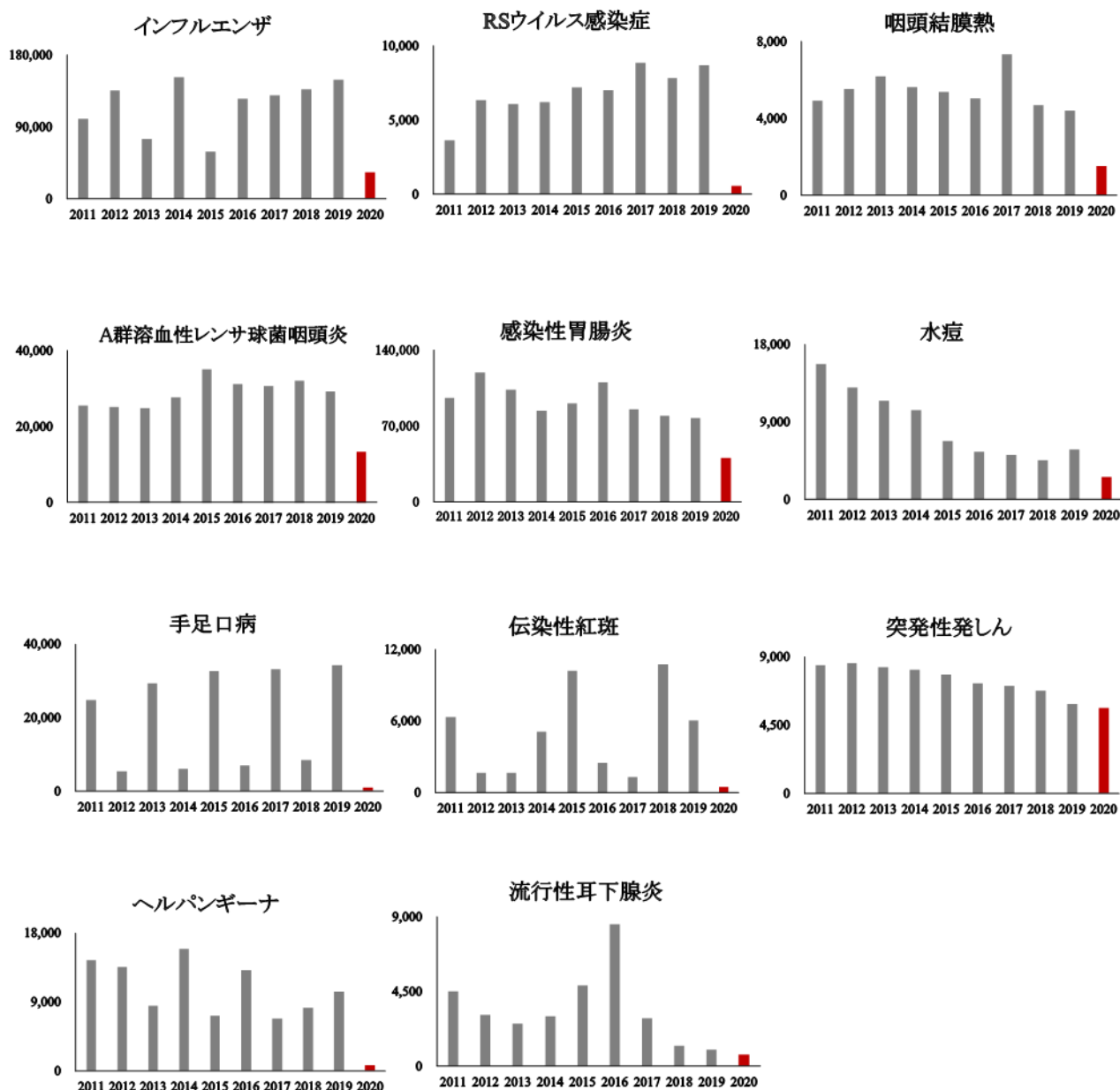


図2. 感染症発生動向調査定点把握疾患の患者報告総数の年次推移
 (東京都, 2011年～2020年, インフルエンザ定点及び小児科定点.
 縦軸はそれぞれの疾患の年間報告総数、横軸は年を表す。)

第3号-1

東京都内の畜水産における食中毒菌分離状況（2019年度）

東京都健康安全研究センター 微生物部
食品微生物研究科 福井 理恵

1. はじめに

2019年の全国における食中毒発生件数は1,061件で、そのうち細菌性食中毒は385件（36.3%）であった。原因物質別では、カンピロバクターが286件、次いで黄色ブドウ球菌が23件、ウエルシュ菌が22件、サルモネラが21件の順であった。これら上位を占める食中毒はいずれも食肉や鶏卵に関連する場合が多く、畜水産食品の適切な衛生管理が求められている。そのため、市場流通する畜水産食品を対象に汚染実態を把握することは、食中毒の未然防止の観点から重要となる。本稿では、2019年度に実施した都内流通畜水産食品の食中毒菌分離状況について概説する。

2. 検査対象食品及び方法

検査対象は、2019年度において東京都健康安全研究センターに搬入された食品713件である。内訳は、食肉272件（牛肉35件、豚肉75件、鶏肉115件、その他の食肉47件）、魚介類50件、食肉製品88件、魚介類加工品9件、魚肉練り製品48件、冷凍食品及び凍結食品112件、そうざい13件、鶏卵26件、はちみつ19件、チーズ32件、その他の乳製品44件である。

検査項目は、サルモネラ、黄色ブドウ球菌、腸炎ビブリオ、腸管出血性大腸菌（O157、O26、O103、O111、O121、O145）、カンピロバクター（カンピロバクター・ジェジュニ／コリ）、ウエルシュ菌、セレウス菌、リステリア（リステリア・モノサイトゲネス）、病原エルシニア（エルシニア・エンテロコリチカ／シュードツベルクローシス）、その他のビブリオ（コレラ菌、ナグビブリオ、ビブリオ・ミミカス、ビブリオ・フルビアリス／ファーニシィ）、エロモナス、プレジモナス、ボツリヌス菌である。このうち、各食品に応じた危害要因となりうる項目について公定法、厚労省通知及び食品衛生検査指針等に準じて検査した。

3. 食中毒菌分離状況

1) 食肉

牛肉1/35件（2.9%）から黄色ブドウ球菌、2/35件（5.7%）からカンピロバクター、2/35件（5.7%）からウエルシュ菌、2/35件（5.7%）からリステリア、1/35件（2.9%）から病原エルシニアが分離された。豚肉では1/75件（1.3%）からサルモネラ、1/75件（1.3%）から黄色ブドウ球菌、1/75件（1.3%）からカンピロバクター、1/75件（1.3%）からウエルシュ菌、5/75件（6.7%）からリステリア、3/75件（4.0%）から病原エルシニアが分離された。鶏肉では65/115件（56.5%）からサルモネラ、5/110件（4.5%）から黄色ブドウ球菌、44/115件（38.3%）からカンピロバクター、53/110件（48.2%）からウエルシュ菌、13/110件（11.8%）からリステリアが分離された。その他の食肉では鶏刺し、生フランクフルト、カンガルー肉等からサルモネラ、黄色ブドウ球菌、カンピロバクター、リステリアが分離された（表1）。

食品種別では、鶏肉からのサルモネラ、カンピロバクター及びウエルシュ菌の分離率が高かった。

2) 魚介類

魚介類2/50件（4.0%）から腸炎ビブリオが分離された（表2）。なお、規格基準に該当する、ゆでがに、冷凍食品（生食用冷凍鮮魚介類）、生食用鮮魚介類からは腸炎ビブリオは検出されなかった。

3) 畜水産加工品

食肉製品1/88件（1.1%）から黄色ブドウ球菌、2/76件（2.6%）からセレウス菌、魚介類加工品1/9件（11.1%）からリステリア、冷凍食品及び凍結食品1/107件（0.9%）からサルモネラ、3/67件（4.5%）からリステリア、そうざい1/13件（7.7%）からセレウス菌が分離された。（表3）。本調査ではチキンカツ（冷凍食品）からサルモネラが、チキンカツ（冷凍食品）、豚玉ねぎ串カツ（冷凍食品）及びメンチカツ（凍結食品）からリステリアが分離された。2016年には、そうざい半製品である冷凍メンチカツの腸管出血性大腸菌O157による食中毒事例が発生しており、未加熱の食肉を含む冷凍食品や凍結食品の調理は、製品に表示された方法に従い、中心部まで十分に加熱することが重要である。

4) 卵、はちみつ及び乳製品

はちみつ12/19件（63.2%）からセレウス菌、1/19件（5.3%）からボツリヌス菌が分離された（表4）。

2017年3月には、都内で「はちみつ」の摂取が推

定された乳児ボツリヌス症による死亡事例が発生している¹⁾。

今後も食中毒防止に向けて継続的に畜水産食品の検査を実施していく必要がある。

4. まとめ

畜水産食品に係る食中毒の防止対策として、生産から消費までの徹底した衛生管理、事業者や消費者への普及啓発が重要である。

都では、食品衛生法及び関係法令に基づき「東京都食品衛生監視指導計画」を策定し、食品安全に係る監視指導、普及啓発、調査研究を実施している²⁾。

<引用文献>

- 1) 厚生労働省：食中毒統計資料
https://www.mhlw.go.jp/stf/seisakunitsuite/bunya/kenkou_iryuu/shokuhin/syokuchu/04.html
- 2) 平成 31 年度 東京都食品衛生監視指導計画
https://www.fukushihoken.metro.tokyo.lg.jp/shokuhin/kansi/h31_kekka.html

表 1. 食肉からの食中毒菌分離状況

食品種別	検査項目（陽性件数/検査件数）						
	サルモネラ	黄色ブドウ球菌	腸管出血性大腸菌	カンピロバクター	ウエルシュ菌	リステリア	病原エルシニア
牛	0/35	1/35	0/35	2/35	2/35	2/35	1/35
豚	1/75	1/75	0/75	1/75	1/75	5/75	3/75
鶏	65/115	5/110	0/110	44/115	53/110	13/110	0/99
その他*	4/47	1/9	0/26	3/47	0/9	1/9	0/9

*：鴨，カンガルー，生ハンバーグ，生フランクフルト，串刺し鶏等

表 2. 魚介類からの食中毒菌分離状況

食品種別	検査項目（陽性件数/検査件数）							
	サルモネラ	黄色ブドウ球菌	腸炎ビブリオ	腸管出血性大腸菌	リステリア	その他のビブリオ	エロモナス	プレジオモナス
魚介類	0/50	0/50	2/50	0/11	0/11	0/11	0/10	0/10

表 3. 畜水産加工品からの食中毒菌分離状況

食品種別	検査項目（陽性件数/検査件数）							
	サルモネラ	黄色 ブドウ球菌	腸炎 ビブリオ	腸管出血性 大腸菌	カンピロ バクター	セレウス 菌	リステリア	病原 エルシニア
食肉 製品	0/88	1/88	—	0/67	—	2/76	0/88	0/76
魚介類 加工品	0/9	0/9	0/9	0/9	—	0/1	1/9	—
魚肉練り 製品	0/48	0/48	—	0/12	—	0/27	0/10	—
冷凍食品 凍結食品	1/107	0/112	0/16	0/91	0/61	0/44	3/67	0/61
そうざい	0/13	0/13	—	0/7	—	1/13	0/8	0/4

表 4. 卵、はちみつ及び乳製品からの食中毒菌分離状況

食品種別	検査項目（陽性件数/検査件数）						
	サルモネラ	黄色ブドウ 球菌	腸管出血性 大腸菌	ウエルシュ 菌	セレウス菌	リステリア	ボツリヌス 菌
鶏卵	0/26	—	—	—	—	—	—
はちみつ	—	—	—	0/19	12/19	—	1/19
チーズ	0/32	0/32	0/28	—	0/32	0/29	—
その他の乳 製品	0/44	0/44	0/16	—	0/17	0/17	—

第3号-2

2020年度に東京都内で発生したノロウイルス GII.2[P16]による食中毒事例

東京都健康安全研究センター 微生物部
ウイルス研究科 矢尾板 優

ノロウイルス (NoV) は、冬季に発生する嘔吐や下痢などの急性胃腸炎症状の原因物質 (病原体) の1つである。近年、ポリメラーゼ領域と VP1 領域間のジャンクション領域でのゲノムの組み換え体の存在が知られており、VP1 領域のみならず、ポリメラーゼ領域を含んだ遺伝子解析が推奨されている¹⁾。今回、2020 年 4 月から、2021 年 2 月までに、食中毒疑い事例として当センターに搬入された糞便検体のうち、ノロウイルス陽性事例についてポリメラーゼ領域を含んだ分子疫学的解析を行ったところ、GII.2[P16]の組み換え体が検出されたものが 7 事例と多く検出されたため、その概要について報告する。

2020 年 4 月から 2021 年 2 月までに食中毒疑い事例として当センターに搬入された糞便検体のうち、ノロウイルス GII が陽性となったものを対象に、ポリメラーゼ領域の増幅を行った。増幅には、Mon431/G2SKR プライマーセットを用いる方法、または 1stPCR で 1421f/NV2oR、2ndPCR で 1364f/G2SKR の各プライマーセットを用いる方法²⁾のいずれかを行った。PCR による増幅産物は BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequence Kit(Applied Biosystems) によるシーケンス反応を行い、反応産物は BigDye XTerminator(Applied Biosystems)を用いて精製後、3500 Genetic analyzer(Applied Biosystems)により遺伝子型を決定した。得られた塩基配列については、オランダ国立公衆衛生環境研究所が提供する遺伝子型分析ツール Norovirus Typing Tool Version 2.0 (<https://www.rivm.nl/mpf/typingtool/norovirus>)を用いて遺伝子型を決定した。

2020 年 4 月から 2021 年 2 月までに搬入された食中毒疑い 125 事例のうち、ノロウイルスが検出された事例は 12 事例 (9.6%) で、そのうち GI 陽性が 4 事例 (33%)、GII 陽性が 7 事例(58%)、GI・GII の両方が陽性となったのは 1 事例 (8%) であった。

ポリメラーゼ領域を含んだ遺伝子型別の結果、GII.2[P16]が 7 事例(53.8%)、GI.6[P11]が 3 事例 (23.1%)、GI.4[P4]、GI.7[P7]、GII.17[P17]が 1 事例 (7.7%)ずつ検出された。

GII.2[P16]が検出された 7 事例の内訳は、保育所などの小児が関わる施設での感染 (3 事例)、ケータリングによる感染 (2 事例)、旅行先での感染 (2 事例) であり、そのうち 1 事例は牡蠣の喫食による GI と GII の複合感染であった。系統樹解析の結果、今回検出された GII.2[P16]は、2016/2017 年シーズンに大阪府や東京都で検出された株と高い相同性 (≧97.5%) を示した。2016/2017 年シーズンには小児を中心とした GII.2[P16]による流行がみられたが³⁾、2020 年度においても数多く検出され、主な流行株の一つであった。

2020 年度は新型コロナウイルス感染拡大防止対策が取られた影響もあり、2019 年度の同時期に比べて検体搬入数、ノロウイルス陽性事例数の大幅な減少が見られた。また、今までの流行株の 1 つである GII.4Sydney_2012 は、2020 年度中には食中毒事例から検出されていないが、GII.4 はこれまで数年ごとに変異株の検出が見られてきた型別であるため、今後も継続し、流行株の監視を続けていく必要がある。

<引用文献>

- 1) Bull, R.A., Hasman, G.S., Clancy, L.E., *et al.*: *Emerg Infect Dis*, **11**, 1079-1085, 2005.
- 2) Nakamura, K., Iwai, M., Zhang, J., *et al.*: *J Infect Dis*, **62**, 394-398, 2009.
- 3) 植木 洋, 小泉 光, 菅原直子, 他: 病原微生物検出状況, **38**, 17-18, 2017.

第4号

カルバペネム耐性腸内細菌（CRE）における
βラクタマーゼ遺伝子保有状況（平成31年4
月～令和3年3月）

東京都健康安全研究センター 微生物部
病原細菌研究科 有吉 司

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）感染症は、グラム陰性菌による感染症の治療で最も重要な抗菌薬であるカルバペネム系抗菌薬および広域β-ラクタム剤に対して耐性を示す腸内細菌科細菌による感染症の総称である。東京都では、平成27年10月から積極的疫学調査事業として、CREの菌株確保事業を開始した。本事業では、*Enterobacter* 属（*E. cloacae* 等）、*Klebsiella aerogenes* については、基幹定点医療機関（25機関）のみに対して、その他の菌種についてはすべての医療機関に対して菌株確保の協力を依頼している。

平成31年4月から令和3年3月までの2年間に122株のCREが確保された（表1）。*Klebsiella pneumoniae*（肺炎桿菌）を含む*Klebsiella*属が最も多く、次いで*Escherichia coli*（大腸菌）が多くを占めていた。前回集計¹⁾の187株と比べ搬入菌株数が4割ほど減っているが、これは今回の集計期間の半分以上が、新型コロナウイルスの流行期間と重なっており、それに伴うCRE感染症の届出減少や管轄保健所の菌株確保業務の難航などの影響と考えられる。

これら確保したCRE株については、主に病原体検出マニュアル（国立感染症研究所編；<http://www.niid.go.jp/niid/ja/labo-manual.html>）に基づいたβラクタマーゼ遺伝子の検出（PCR法）を行い、医療機関にその結果を報告している。令和3年3月までに確保したCRE株から検出されたβラクタマ

ーゼ遺伝子の内訳を表2に、菌種ごとの詳細な内訳を表3に示した。

CREの中でも疫学的に特に重要なカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌（CPE）と呼ばれるカルバペネマーゼ遺伝子（NDM、IMP、VIM-2、KPC、OXA-48）を持つ菌株に注目すると、前回集計¹⁾と比べ、IMP型の検出割合が、25.1%（47回/187株）から18.9%

（23回/122株）に減少しており、反対にNDM型の検出割合は、6.4%（12回/187株）から9.8%（12回/122株）に増加していた。また、NDM型遺伝子が検出された12株の内訳は、*K. pneumoniae*が5株、*E. coli*が4株、その他の菌種が3株であった（表4）。

CRE病原体サーベイランス³⁾においても、NDM型の検出報告地域は、平成29年は6都県であったのに対し、平成30年は16都道府県と大幅に増加しており²⁾、令和3年現在でも東京都を含む国内全体で、検出報告が増加し続けていると考えられる。

NDM型やKPC型を含む海外型カルバペネマーゼは、従来では大学病院などの大規模病院での検出が多くを占めていたが、近年では、市中病院などの中小病院での検出も報告されている。そういった背景から、今後多くの医療機関で、多様なCREに直面する機会が増えると考えられるため、引き続きCREの実態把握、情報提供を実施していきたい。

<引用文献>

- 1) 有吉司：東京都微生物検査情報,40,12, 1-5,2019.
- 2) 国立感染症研究所薬剤耐性研究センター 他：IASR,40,158-159,2019.
- 3) 厚生労働省健康局結核感染症課長：健感発 0328 第4号、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）感染症等に係る試験検査の実施について、平成29年3月28日

表 1. 積極的疫学調査で確保した CRE 株(平成 31 年 4 月～令和 3 年 3 月)

菌種	株数
(ア) <i>Enterobacter cloacae</i>	7
(イ) 上記以外の <i>Enterobacter</i> 属	11
(ウ) <i>Klebsiella aerogenes</i>	22
(エ) <i>Klebsiella pneumoniae</i> (肺炎桿菌)	23
(オ) <i>Klebsiella oxytoca</i>	6
(カ) 上記以外の <i>Klebsiella</i> 属	2
(キ) <i>Escherichia coli</i> (大腸菌)	24
(ク) <i>Citrobacter freundii</i>	11
(ケ) 上記以外 <i>Citrobacter</i> 属	1
(コ) <i>Serratia marcescens</i>	8
(サ) 上記以外の腸内細菌科細菌	7
合計	122

表2. CREから検出された β ラクタマーゼ遺伝子(全菌種)

β ラクタマーゼ分類	遺伝子	検出数 (回)
クラスA- β ラクタマーゼ 遺伝子 (KPC型を除く)	TEM型	24
	SHV型	24
	CTX-M-1 group	25
	CTX-M-2 group	4
	CTX-M-9 group	10
カルバペネマーゼ遺伝子 (クラスB- β ラクタマーゼ、 ただしKPC型はクラスA、 OXA-48型はクラスD)	NDM型	12
	IMP-1型	22
	IMP-2型	1
	VIM-2型	0
	KPC型	0
	OXA-48型	0
プラスミド性AmpC- β ラクタマーゼ遺伝子 (クラスC- β ラクタマーゼ)	MOX型	0
	DHA型	10
	ACC型	0
	CIT型	12
	FOX型	0
	EBC型	8

表3. CREから検出された β ラクタマーゼ遺伝子(菌種ごと) ～その1～

遺伝子	検出回数 (回)					
	<i>E. cloacae</i> (7株)	その他の <i>Enterobacter</i> (11株)	<i>K. aerogenes</i> (22株)	<i>K. pneumoniae</i> (23株)	<i>K. oxytoca</i> (6株)	その他の <i>Klebsiella</i> (3株)
TEM	0	0	0	13	0	0
SHV	0	0	0	20	0	2
CTX-M-1	0	0	0	10	1	0
CTX-M-2	1	0	0	1	2	0
CTX-M-9	0	0	0	5	0	0
NDM	0	0	0	5	0	0
IMP-1	4	0	0	4	4	2
IMP-2	0	0	0	1	0	0
VIM-2	0	0	0	0	0	0
KPC	0	0	0	0	0	0
OXA-48	0	0	0	0	0	0
MOX	0	0	0	0	0	0
DHA	0	0	0	4	0	1
ACC	0	0	0	0	0	0
CIT	0	0	1	0	0	0
FOX	0	0	0	0	0	0
EBC	3	5	0	0	0	0

表3. CREから検出されたβラクタマーゼ遺伝子(菌種ごと) ～その2～

遺伝子	検出回数 (回)				
	<i>E. coli</i> (24株)	<i>C. freundii</i> (11株)	その他の <i>Citrobacter</i> (1株)	<i>S. marcescens</i> (8株)	その他の 腸内細菌科細菌 (7株)
TEM	7	1	0	2	1
SHV	0	1	1	0	0
CTX-M-1	13	1	0	0	0
CTX-M-2	0	0	0	0	0
CTX-M-9	5	0	0	0	0
NDM	4	1	0	0	2
IMP-1	1	7	0	0	0
IMP-2	0	0	0	0	0
VIM-2	0	0	0	0	0
KPC	0	0	0	0	0
OXA-48	0	0	0	0	0
MOX	0	0	0	0	0
DHA	1	0	0	0	4
ACC	0	0	0	0	0
CIT	1	9	1	0	0
FOX	0	0	0	0	0
EBC	0	0	0	0	0

表 4. NDM 型遺伝子が検出された CRE (12 株)

菌種	検出された遺伝子
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	NDM + SHV NDM + TEM + SHV (2株) NDM + TEM + SHV + CTX-M1 NDM + TEM + SHV + CTX-M9
<i>Escherichia coli</i>	NDM (3株) NDM + TEM
<i>Raoultella</i> sp.	NDM + DHA (2株)
<i>Citrobacter freundii</i>	NDM + CIT

第5号

糞線虫の分子疫学解析による新たな知見

東京都健康安全研究センター 微生物部
病原細菌研究科 神門 幸大

1. はじめに

糞線虫症は糞線虫属線虫によって引き起こされる腸管寄生虫症で、世界的には熱帯・亜熱帯地域を中心に3,000万～1億人の感染者がいるとされる¹⁾。我が国では沖縄・奄美地方が主な浸淫地であり、約19,000人の感染者がいると推測されている²⁾が、都内でも流行地域への明らかな滞在歴のない患者からの糞線虫症の症例が報告されている³⁾。糞線虫属線虫は約50種が報告されているが、ヒトの糞線虫症のほとんどが糞線虫 (*Strongyloides stercoralis*) によるものである。*S. stercoralis* の生活史は特異的で、宿主を必要とする寄生世代と宿主を必要としない自由生活世代が存在し、寄生生活および自由生活の両方で生活環を完成することができる (図1)。寄生世代において腸管内で生じた幼虫の一部は、腸管、肛門周囲の皮膚から宿主に再感染する (自家感染)。このため、長年に渡り感染が持続することが多い。

ヒトへの感染は経皮的に起こり、感染した虫体は主に血行性またはリンパ行性に肺に到達し、気管支を経由して最終的には十二指腸や空腸に寄生するが、通常は無症状もしくは軽度の消化器症状を呈するのみである。自家感染によりヒト体内で糞線虫の生活環が維持されて保虫状態が続くが、宿主の免疫により寄生数が抑えられるため問題になることは少ない。しかし、成人T細胞性白血病ウイルス (HTLV-1) 感染者や、免疫抑制剤、抗癌剤の使用により細胞性免疫が低下した患者では、自家感染が加速して寄生数が爆発的に増加する。この過剰感染状態に陥ると、皮膚、呼吸器、消化器症状が顕在化し (過剰感染症候群)、さらに腸管から移行する糞線虫と共に大量の腸内細菌が体内に散布されると、敗血症や肺炎、髄膜炎などを合併し播種性糞線虫症と呼ばれる重篤な状態となる。駆虫にはイベルメクチンの投薬が有効である。

2. 糞線虫の検査法

糞線虫症の診断は患者の便から虫体を証明するこ

とが基本であり、最も感度が高い検査法は普通寒天平板培養法である。直接塗抹法、ろ紙培養法、ホルマリン・エーテル法は感度が低く、少数寄生の場合検出できないことが多い。また、播種性糞線虫症を発症している場合、喀痰や腹水等の鏡検により虫体が検出されることもある。

3. *S. stercoralis* の分子疫学解析

S. stercoralis のヒト以外の宿主として重要な動物はイヌであり、糞線虫症は動物由来感染症としての側面をもっているが、これまではヒト由来虫体およびイヌ由来虫体の系統関係に関する知見はほとんど存在していなかった。しかし、近年行われた *S. stercoralis* の分子疫学解析⁴⁾により、ヒト由来虫体とイヌ由来虫体を特徴づける遺伝マーカーの有用性が示され、両者の系統関係が明らかになりつつあるので、その内容を以下に紹介する。

(1) ミトコンドリア *cox 1* の系統解析

ミトコンドリア *cox 1* の部分配列を用いた系統解析では、大きく2つのClade (Clade I、Clade II) に分かれ、ヒト由来虫体と一部のイヌ由来虫体はClade Iに、その他のイヌ由来虫体はClade IIに属する。

(2) major sperm protein domain-containing protein (MSP) 遺伝子の系統解析

核ゲノム MSP 遺伝子の系統解析では3つのハプロタイプ (H1-H3) が見出され、ヒト由来虫体はH1に属し、イヌ由来虫体のうち *cox 1* のClade Iに属するものはH2に、*cox 1* のClade IIに属するものの大部分はH3に属する。

(3) 18S rDNA に存在する hyper-variable region I (HVR-I) 多型解析

HVR-I の4番目および5番目の塩基がTである5T/5T型、4番目の塩基がTであり5番目の塩基が欠失している4T/4T型、そのヘテロ接合体である4T/5T型の3つの型が見出され、ヒト由来虫体の大部分が5T/5T型、イヌ由来虫体の大部分が4T/4T型である。4T/5T型はヒト由来虫体のごく一部に見出される。

(4) 28S rDNA の系統解析

核ゲノム 28S rDNA の系統解析では12のハプロタイプ (H1-H12) が見出され、イヌ由来虫体のうち *cox 1* のClade Iに属するものはH6-H7に、*cox 1* のClade IIに属したのもも大部分はH1-H5に属

する。ヒト由来虫体は H7－H12 に属する。H7 はイヌ由来虫体とヒト由来虫体の両方から見出される。

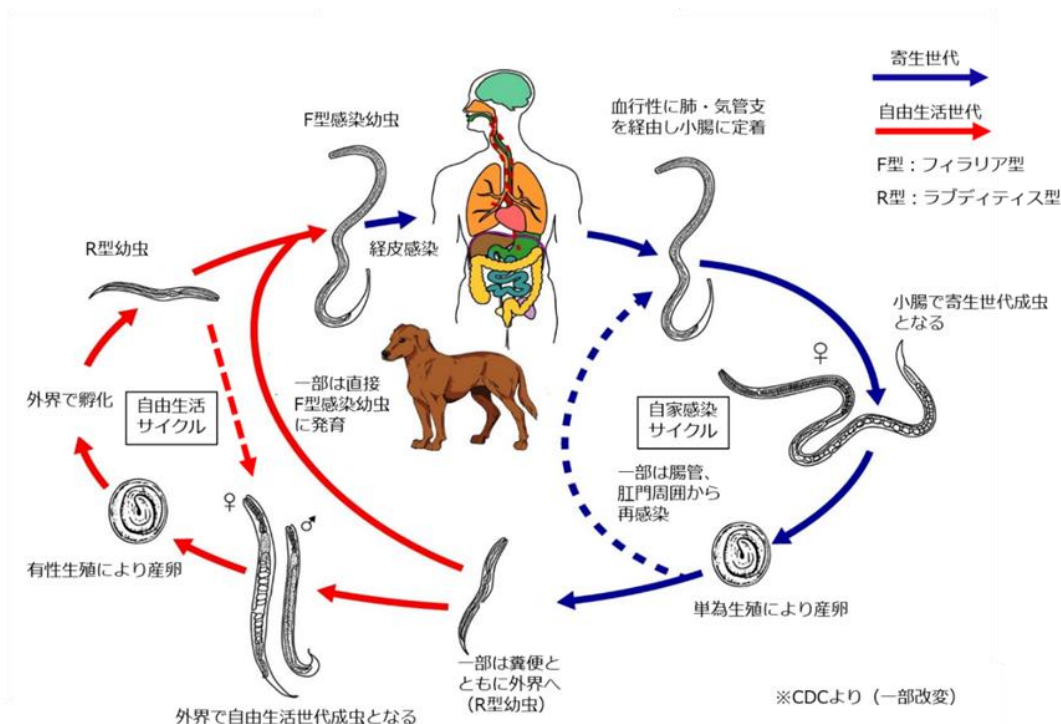
4. まとめ

分子疫学解析により、ヒトとイヌから分離される *S. stercoralis* は大きく TypeA1、TypeA2、TypeB の 3 つに分けられ (図 2)、主にヒトの糞線虫症を引き起こしているのは TypeA1、イヌの糞線虫症を引き起こしているのは TypeA2 および TypeB であることが明らかとなってきた。しかし、ペットとしてのイヌがヒトと密接に関係して生活していることや、ヒトと

イヌでの種間感染の有無が不明である点を考慮すると、イヌ由来虫体 (TypeA2 および TypeB) の公衆衛生上のリスクがゼロであるとは言えず、動物由来感染症としての注意が必要であると考えられる。

<引用文献>

- 1) Bisoffi, Z, *et al.*: PLoS Negl Trop Dis, 7, e2214, 2013.
- 2) 田中照久ら: Clin Parasitol, 29, 12-14, 2018.
- 3) 黒瀬嘉幸ら: 気管支学, 38, 521-525, 2016.
flu/weekly/fluviewinteractive.htm
- 4) Nagayasu, E, *et al.*: Sci Rep, 7, 4844, 2017.



(<https://www.cdc.gov/dpdx/strongyloidiasis/index.html>)

図 1. 糞線虫 (*S. stercoralis*) の生活環

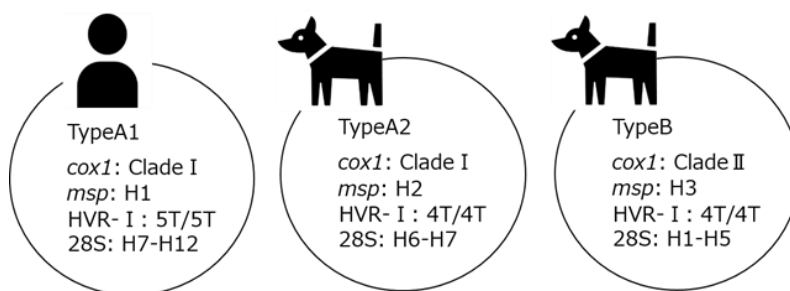


図2. ヒトおよびイヌ由来 *S. stercoralis* の系統関係と各型に見出される主なハプロタイプと遺伝子型

第6号

病原体レファレンス事業に基づく病原体等の収集と解析結果（令和2年度）

東京都健康安全研究センター 微生物部

食品微生物研究科 小西 典子、赤瀬 悟

病原細菌研究科 奥野 ルミ

ウイルス研究科 森 功次

病原体レファレンス事業は、都内で発生する感染症の病原体等を積極的に収集し、病原体の性状や遺伝子を比較・解析することにより流行型の血清型や薬剤耐性、遺伝子変異等を把握し監視していくことを目的としている。

本事業では、医療機関や保健所等の協力により主として感染症法では収集体制が確保されていない病原体の収集と、積極的疫学調査で実施した麻しん検査における陰性検体の類症鑑別診断等を実施している。

1. 協力医療機関から収集した病原体の解析

医療機関等の協力により、カンピロバクター、大腸菌、サルモネラ、エルシニア、レンサ球菌、インフルエンザ菌、黄色ブドウ球菌、髄膜炎菌等を収集している。令和2年度に都立病院及び都保健医療公社病院から搬入された病原体（菌株）は、表1のとおりである。また、各病原体の種類・解析結果は以下のとおりである。

1) カンピロバクター

カンピロバクター属菌は 91 株が搬入され、内訳は *Campylobacter jejuni* 84 株 (92.3%)、*C. coli* 4 株 (4.4%) および *Helicobacter cinaedi* 3 株 (3.3%) であった。由来別にみると、糞便由来が 86 株 (94.5%) で多くを占めていたが、他には血液由来 5 株 (*C. jejuni* 2 株、*H. cinaedi* 3 株) であった。

C. jejuni の血清型は、型別不能の 55 株を除き 11 種類に型別された（型別率 34.5%）。検出頻度の高い血清型は、D 群: 7 株 (8.3%)、C 群: 5 株 (5.9%)、U 群: 3 株 (3.6%)、Y 群: 3 株 (3.6%) であった（表 2）。

2) 大腸菌

下痢症患者由来の大腸菌は 44 株が搬入された。前年度と比較して搬入菌株数が大幅に減少したが、

これは新型コロナウイルス感染症の影響で海外渡航者が減少し、対象となる大腸菌が検出されなかったためと推定された。搬入された大腸菌を対象にベロ毒素産生性、エンテロトキシン産生性および侵入性遺伝子の保有について検査を実施した。その結果、血清型は O25 : NM で、LT 産生の毒素原性大腸菌 (ETEC) が 1 株 (2.3%) 検出された。ETEC が検出された患者に海外渡航歴は認められなかったが、この菌株の搬入と同じ時期に、都内 23 区では喫食者数 37,441 名、患者数 2,548 名の大規模食中毒が発生していた。本食中毒の原因菌も血清型 O25 : NM、LT 産生の ETEC であったことから、この患者は本食中毒に関連していた可能性が考えられた。

3) サルモネラ

サルモネラは 8 株が搬入され、血清型別試験の結果 6 種類の血清型に分類された。血清型の内訳は、O4 群 Saintpaul および O7 群 Infantis が各 2 株、O4 群 (i : -)、O4 群 Chester、O7 群 Thompson および O7 群 Oranienburg が各 1 株であった（表 4）。感染地は、不明の 1 株を除き全て国内感染が推定された。

搬入された株についてアンピシリン (ABPC)、セフトキシム (CTX)、ゲンタマイシン (GM)、カナマイシン (KM)、ストレプトマイシン (SM)、テトラサイクリン (TC)、クロラムフェニコール (CP)、ST 合剤 (ST)、ナリジクス酸 (NA)、シプロフロキサシン (CPFX)、ノルフロキサシン (NFLX)、オフロキサシン (OFLX)、ホスホマイシン (FOM) を用いた薬剤感受性試験を実施した。その結果、いずれか 1 剤以上に耐性を示した株は 3 株 (37.5%) であった（表 5）。

4) エルシニア

エルシニア属菌は 6 株が搬入され、全て *Yersinia enterocolitica* であった。*Y. enterocolitica* の血清型は全て O8 群、いずれも渡航歴はなく、国内での感染が疑われた。

5) レンサ球菌

溶血性レンサ球菌は 19 株搬入され、その内訳は A 群が 2 株、B 群が 15 株、G 群が 2 株であった（表 6）。

A 群レンサ球菌 2 株は *Streptococcus pyogenes* であり、その T 血清型は 6 型及び Imp19 型であった。

B 群レンサ球菌 (*S. agalactiae*) 15 株の血清型は、

I a 型が 3 株、I b 型、Ⅲ型、V 型、VI 型が各 2 株、II 型、IV 型、VII 型が各 1 株であり、型別不能株が 1 株あった。また G 群レンサ球菌 2 株は、いずれも *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* であった。

6) インフルエンザ菌

インフルエンザ菌は 2 株搬入され、免疫血清及び PCR 法による血清型別を実施した結果、いずれの株も型別不能であった。

7) 黄色ブドウ球菌

黄色ブドウ球菌については黄色ブドウ球菌性熱傷様皮膚症候群 (SSSS) 患者由来 MSSA が 1 株搬入された。そのコアグララーゼ型は VII 型で、毒素非産生株であった。

8) 髄膜炎菌

髄膜炎菌は、2 株搬入され PCR 法による血清型別を実施した結果は、いずれも型別不能であった。

9) その他

多剤耐性アシネトバクター、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌疑い株等の薬剤耐性遺伝子検査依頼が 40 株あった。また、その他同定検査依頼が 22 株搬入された。

2. 麻しん・風しんウイルス検査 (積極的疫学調査) 陰性例における類症鑑別検査とその他の依頼検査

麻しん・風しんが疑われる全症例に対して、積極的疫学調査で麻しんウイルス及び風しんウイルスの検査を行っている。病原体レファレンス事業では、麻しん・風しんウイルス陰性例を対象に発しん症起因ウイルスの類症鑑別検査 (ヒトパルボウイルス B19、2 歳以下についてはヒトヘルペスウイルス検査を追加) を実施した。66 件の陰性検体について類症鑑別検査を行った結果、ヒトパルボウイルス B19 が 1 検体から検出され、ヒトヘルペスウイルス 6 型及び 7 型は検出されなかった。

またその他の依頼検査として、先天性風しん症候群に関連した児のフォローアップの検査を 1 件実施したが風しんウイルス遺伝子は検出されなかった。

表 1. 対象病原体 (令和 2 年 4 月～令和 3 年 3 月)

病原体	菌株数
カンピロバクター	91
大腸菌 (下痢症患者由来株) ¹⁾	44
サルモネラ	8
エルシニア	6
レンサ球菌 ²⁾	19
インフルエンザ菌 ²⁾	2
黄色ブドウ球菌 ³⁾	1
髄膜炎菌 ²⁾	2
その他	62
計	235

¹⁾ 腸管出血性大腸菌を除く

²⁾ 劇症型及び侵襲性感染症由来株を除く

³⁾ 感染症由来株を除く

表 2. *C. jejuni* の血清型 (Penner 法)

血清型	菌株数	(%)
D群	7	(8.3)
C群	5	(5.9)
U群	3	(3.6)
Y群	3	(3.6)
その他	11	(13.1)
UT	55	(65.5)
合計	84	(100)

UT:型別不能

表 3. 毒素原性大腸菌の血清型

血清型	産生毒素	菌株数	推定感染地
O25 : NM	LT	1	国内
計		1	

表 4. サルモネラの血清型

O群	血清型	菌株数
O4	Saintpaul	2
O7	Infantis	2
O4	i: —	1
O4	Chester	1
O7	Thompson	1
O7	Oranienburg	1
	計	8

表 5. 薬剤耐性を示したサルモネラの血清型と薬剤耐性パターン

O群	血清型	薬剤耐性パターン	推定感染地	菌株数
O4	i: -	ABPC, KM, CP, TC	国内	1
O4	Saintpaul	ABPC, SM, TC	国内	1
O7	Infantis	KM, SM, TC	不明	1
計				3

表 6. 溶血性レンサ球菌の群別及び菌種名

菌種名	Lancefield群				計
	A	B	C	G	
<i>Strptococcus pyogenes</i>	2				2
<i>Strptococcus agalactiae</i>		15			15
<i>Strptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>equisimilis</i>				2	2
計	2	15	0	2	19

第7号

結核菌の薬剤体制

東京都健康安全研究センター 微生物部

病原細菌研究科 長谷川 乃映瑠

1. はじめに

東京都における2019年の結核罹患率（人口10万対）は13.0で、年々減少傾向にはあるが、全国の11.5と比較すると依然として高い状況である¹⁾。かつて「不治の病」と恐れられていた結核だが、医療技術の進歩や有効な抗結核薬の開発により、現在は化学療法によって治療可能な疾患となっている。しかし、薬の不適切な処方や不規則な内服、治療の中断などによって耐性菌が生じる場合もある。耐性菌については、治療が困難となる例や入院が長期化する例、世界的な蔓延などの問題があり、薬剤耐性結核菌の感染状況の把握は公衆衛生上重要である。

2. 多剤耐性結核菌

薬剤耐性結核菌は少なくとも一つの抗結核薬に耐性を示す結核菌を指すが、中でも世界的に問題となっているのが多剤耐性結核菌（MDR-TB）や超多剤耐性菌（XDR-TB）である。MDR-TBは最も効果的な作用を持つイソニアジド（INH）とリファンピシン（RFP）の両剤耐性の結核菌であり、XDR-TBはINH・RFPに加え、ニューキノロン系製剤（フルオロキノロン・レボフロキサシンなど）のうち1種類以上および注射二次薬（カナマイシン・アミカシン・カプレオマイシン）のうち1種類以上に耐性を示す結核菌と定義されている。2020年のWHOの報告では、世界の新規結核患者のうちMDR-TBとRFP単剤耐性を合わせた割合が3.3%、再治療患者のうちでは18%と推定されており、新規結核患者のうちMDR-TBの割合が20%と推定される国もある²⁾。一方、日本では新登録肺結核培養陽性結核患者のうちMDR-TBの割合はここ数年0.5%程度で推移している³⁾。再治療患者のほか、外国出生患者や海外渡航者による輸入例でMDR-TBが確認されることがあり、グローバル化に伴って今後増加することが懸念されている。MDR-TBやXDR-TBに感染した場合、治療に使用できる薬剤が制限され、通常より治療にかかる時間が長期化する。耐性菌の蔓延防止のため

には、患者自身の治療・服薬への理解、DOTS（直接服薬確認療法）を利用した服薬支援により確実に治療を完了することが重要である。

3. 薬剤感受性試験

結核の治療は複数の抗結核薬を組み合わせた多剤投与により行われている^{4, 5)}。これは結核の治療時に結核菌の中に変異を起こした自然耐性菌が生じることがあり、単剤投与で治療を行うと自然耐性菌が増え、最終的に耐性菌に置き換わってしまうからである。これを防ぐため、多剤投与による強力な治療で生き残る菌を減らす必要がある。特に耐性菌に感染している場合は、使用できる薬剤の組み合わせを検討しなければならない。そこで適切な治療のために必ず薬剤感受性試験を行う。

薬剤感受性試験には培養による表現型試験と遺伝子変異を検出する遺伝子型試験がある。

1) 表現型試験は、大きく分けて固形培地を用いる方法と液体培地を用いる方法があり、測定法や対象薬剤が異なるいくつかの診断キットが販売されている。固形培地を用いる比率法は、世界的に標準法とされている方法で、結核菌の集団中の耐性菌の比率を測定するものである。基準となる濃度の薬剤が添加された培地と対照培地に発育したコロニー数を比較して感受性/耐性を判定する。液体培地を用いる方法は固形培地の場合より発育が速いため、結果も早く得られる。固形培地と同様の比率法のほか、最小発育阻止濃度（MIC）を求め、判定基準に従って感受性/中間/耐性を判定する微量液体希釈法などがある。しかし、結核菌は発育が遅いため、表現型試験は結果が出るまでに時間がかかる・目視で発育具合を確認するため判定者によって結果に違いが生じうるなどの課題もある。

2) 遺伝子型試験は、結核菌が薬剤の作用機序に関連するタンパク質などをコードする遺伝子上に起こる変異により獲得した薬剤耐性を、対象領域のPCR・シーケンスにより検出された変異を元に判定する。遺伝子型試験は、培養を必要としないため、迅速な判定が可能である。一部の薬剤では、耐性菌で出現頻度の高い変異を対象に、特異プローブによるハイブリダイゼーションを用いた検出キットが販売されている。喀出痰から直接検出でき、シーケンスよりもさらに迅速に結果が得られる。しかし、結核菌が変異によって耐性化する機序は解明されていない

部分も多く、表現型と遺伝子型で結果が一致しない場合や耐性との関連が不明な変異が検出される場合も多い。治療にあたっては、表現型試験と遺伝子型試験の結果、臨床経過などを総合的に判断する必要がある。

近年、次世代シーケンサー（NGS）技術の発達により、結核菌の薬剤耐性にも全ゲノム解析が活用されている⁶⁾。全ゲノムデータから薬剤耐性に関連する遺伝子変異を検出して、薬剤耐性を推定できる解析ツールがインターネット上でも利用可能となっている。多くの検体を解析し、表現型試験の結果との比較により、統計学的に耐性との関連が示された変異が検出対象とされるが、解析ツールによって検出対象としている遺伝子変異に違いがあり、対象薬剤や耐性推定感度に差がある。また、まれな変異や新しい変異などの場合に耐性と判定できないという課題もある。現在、統計学的なアプローチに加え、変異導入実験やマルチオミクス解析、機械学習などの手法を用いて、遺伝子型による耐性推定精度の向上や耐性に関連のない変異（系統特異的な変異など）のリスト化が目指されている。加えて、全ゲノムデータと表現型試験の結果、臨床経過を統合したデータベースの構築も進められている。また、結核菌の

全ゲノム解析からは薬剤耐性変異以外にも遺伝系統や一塩基変異（SNP）といった疫学的に有用な情報を得ることができ、感染対策に活用されている。全ゲノム解析を臨床現場でも活用するため、喀出痰からの直接解析などの技術開発が進められている。

<引用文献>

- 1) 東京都感染症情報センター：東京都における結核の概況（2019 年<平成 31 年・令和元年>）。
http://idsc.tokyo-eiken.go.jp/diseases/tb/year_tb/y2019/
- 2) WHO: Global tuberculosis report 2020.
<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/336069/9789240013131-eng.pdf>
- 3) 厚生労働省：2019 年 結核登録者情報調査年報集計結果，<https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/000661460.pdf>
- 4) 四元秀毅，他：医療者のための結核の知識，第 5 版.
- 5) 日本結核・非結核性抗酸菌症学会：抗酸菌検査ガイド 2020.
- 6) Meehan CJ, *et al.* : Whole Genome Sequencing of Mycobacterium Tuberculosis: Current Standards and Open Issues. *Nat Rev Microbiol* **17**(9), 533-545, 2019.

第8号

東京都内の医療機関で分離された溶血性レンサ球菌感染症由来株の血清型及び *Streptococcus pyogenes* の薬剤感受性 状況（2020年）

東京都健康安全研究センター 微生物部
病原細菌研究科 奥野 ルミ

東京都における「劇症型溶血性レンサ球菌感染症」（以下、劇症型）の届出数は、2015年以降増加傾向にあったが、2020年は2019年に比べおよそ20%減少した。2021年では、第31週現在40例で、2020年の同時期に比べ半減し、全国においても同様な傾向が見られている（図1）。一方、定点把握対象疾患である「A群溶血性レンサ球菌咽頭炎」（以下、咽頭炎）についてみると、2019年までは例年第16週から25週あたりと、第50週あたりにも発生のピークがみられていた。しかし、2020年第8週をピークに減少し、その後は、第17週から横ばい状態が続いている（図2）。都では、劇症型患者から分離されたβ溶血性レンサ球菌について、協力が得られた医療機関から積極的疫学調査として菌株を確保し、血清型別等の疫学解析を実施している。また、咽頭炎については、感染症発生動向調査事業として病原体定点医療機関の患者検体から *Streptococcus pyogenes* を分離し、同様に調査を実施している。

1. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症由来株の群別及び菌種

2020年に当センターに搬入された劇症型患者由来株95株について、Lancefield分類による群別を実施した。その結果、最も多かったのはA群40株（42.1%）で、次いでG群30株（31.6%）、B群24株（25.3%）、F群1株（1.0%）の順であった。

菌種の内訳を見ると、A群は *S. pyogenes*、B群は *S. agalactiae*、G群は *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis*（SDSE）であり、F群の1株は *S. constellatus* であった（表1）。

2. *S. pyogenes* のT血清型別

収集された *S. pyogenes* のT血清型別結果を表2に示した。劇症型由来株では22型：10株（25.0%）が最も多く、次いで1型と11型がそれぞれ5株（12.5%）

であり、B3264型が4株（10.0%）、28型が3株（7.5%）等であり、型別不能は10株（25.0%）であった。

一方、感症発生動向調査事業で、2020年に咽頭炎患者から分離された *S. pyogenes* 50株のT血清型は、多く見られた順に1型：18株（36.0%）、25型と28型がそれぞれ7株（14.0%）、B3264型：5株（10.0%）、4型：4株（8.0%）等であり、型別不能は4株（4.0%）であった。

劇症型の届け出数は約20%減にとどまったが、搬入された *S. pyogenes* のT血清型はこれまで最も多く見られていた1型に代わって、22型であった。しかし、咽頭炎患者定点当たりの発患者数は、図2に示すように2020年第17週以降ほとんど増加していないため、検体搬入数も2019年に比べ2020年は半減したものの、最も多いT血清型は2019年と同様の1型であった。

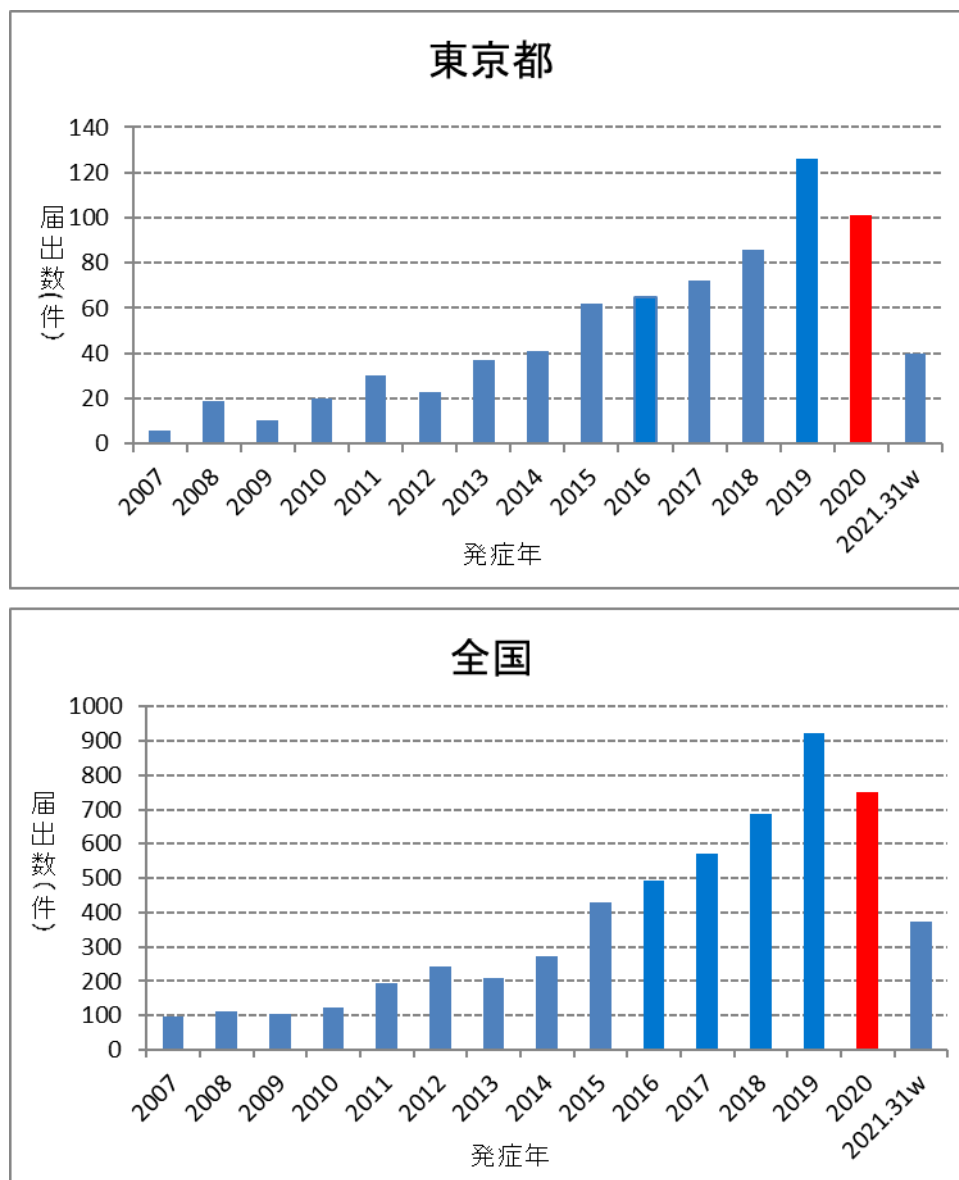
3. *S. pyogenes* の薬剤感受性状況

劇症型由来40株及び咽頭炎由来50株、計90株の *S. pyogenes* について薬剤感受性試験を実施した（表3・4）。方法は、ドライプレート（オーダープレート TNE4）の処方を用いて、IA40MIC（栄研化学）により培養及び測定を行った。供試薬剤は表3・4に示した10薬剤である。その結果、βラクタム系薬剤4剤（ABPC、CFDN、CEX、CDTR）及びCPについては、供試株すべてが良好な感受性を示した。TC耐性は劇症型由来株では40.0%であったが、咽頭炎由来株ではみられなかった。マクロライド系薬剤であるEM及びCAMの耐性は劇症型由来株で15.0%、咽頭炎由来株で20.0%であった。劇症型患者の治療薬としてペニシリン系薬剤とともに第一選択薬とされるCLDMの耐性は、劇症型由来株で5.0%、咽頭炎由来株で6.0%であった。耐性が見られた4薬剤に対する耐性株の割合は、劇症型由来株と比較して咽頭炎由来株の方が高く、2019年とは反対の傾向を示した。

マスク着用や手洗いなど呼吸器系感染症対策が行われることで、咽頭炎の発生が抑えられていると考えられる一方、劇症型の届け出数は2019年に比べ減少したものの、高い値を示している。今後も、劇症型や咽頭炎由来株等の動向を把握・監視して行く必要がある。

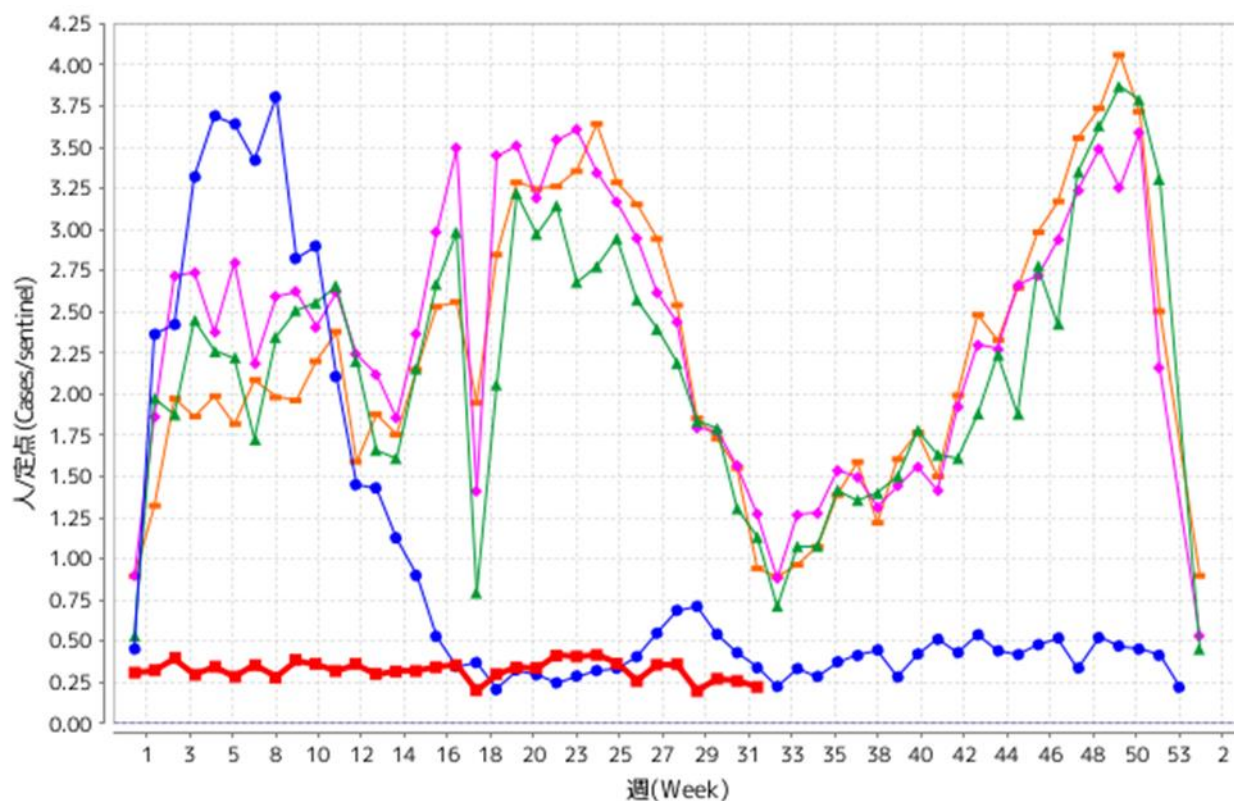
<引用文献>

- 1) 東京都感染症情報センター：東京都感染症週報
- 2) 東京都微生物検査情報：37, 総集編, 22-26, 2016
- 3) 東京都微生物検査情報：38, 総集編, 26-28, 2017
- 4) 東京都微生物検査情報：39, 総集編, 26-28, 2018
- 5) 東京都微生物検査情報（月報）, 40, 8月号, 2019.
- 6) 東京都微生物検査情報（月報）, 41, 7月号, 2020



(東京都感染症週報より作成)

図1. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症発生届出数の年次推移



(C)2002-2021 Tokyo Metropolitan Institute of Public Health

(東京都感染症週報より引用)

図2. A群溶血性レンサ球菌咽頭炎報告数(定点)の年次推移

表1. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者由来株の群別及び菌種名 (2020年: 東京都)

菌種名	Lancefield 分類 群別				計
	A	B	F	G	
<i>S. pyogenes</i>	40				40
<i>S. agalactiae</i>		24			24
<i>S. dysgalactiae ssp. equismilis</i>				30	30
<i>S. constellatus</i>			1		1
合計	40	24	1	30	95
(%)	(42.1)	(25.3)	(1.1)	(31.6)	(100)

表2. 劇症型及び咽頭炎由来A群レンサ球菌 (*S. pyogenes*) T血清型別 (2020年: 東京都)

由来	血清型													合計
	1	2	4	6	9	11	12	13	14/49	22	25	28	B3264 型別不能	
劇症型	5			1		5		1	1	10		3	4	40
(%)	(12.5)			(2.5)		(12.5)		(2.5)	(2.5)	(25.0)		(7.5)	(10.0)	(100)
咽頭炎	18	1	4	3	1		2				7	7	5	50
(%)	(36.0)	(2.0)	(8.0)	(6.0)	(2.0)		(4.0)				(14.0)	(14.0)	(10.0)	(100)

表3. 2020 年に都内の医療機関で分離された劇症型溶血性レンサ球菌患者由来 *S. pyogenes* の薬剤感受性

MIC(μg/ml)	ABPC	CFDN	CEX	CDTR	TC	CP	EM	CAM	LCM	MIC(μg/ml)	CLDM
>64							2 (5.0)		2 (5.0)		
64					7 (17.5)						
32					9 (22.5)			2 (5.0)			
16							3 (7.5)				
8								3 (7.5)		>4	2 (5.0)
4						17 (42.5)				4	
2						23 (57.5)	1 (2.5)			2	
1								1 (2.5)		1	
0.5			30 (75.0)		3 (7.5)				7 (17.5)	<=0.5	38 (95.0)
0.25			10 (25.0)		20 (50.0)				27 (67.5)		
0.12					1 (2.5)		3 (7.5)		3 (7.5)		
0.06	1 (2.5)						31 (77.5)	32 (80.0)	1 (2.5)		
0.03	32 (80.0)							2 (5.0)			
0.015	7 (17.5)	4 (10.0)		1 (2.5)							
0.008		30 (75.0)		32 (80.0)							
<=0.004		6 (15.0)		7 (17.5)							
合計(%)	40 (100)	40 (100)	40 (100)	40 (100)	40 (100)	40 (100)	40 (100)	40 (100)	40 (100)	合計(%)	40 (100)

1) 耐性: 実線以上、感性: 点線以下

*CAM 32 = >16

2) 使用薬剤 ABPC: Ampicillin, CFDN: Cefdinir, CEX: Cefalexin, CDTR: Cefditoren, TC: Tetracycline,

CP: Chloramphenicol, EM: Erythromycin, CAM: Clarithromycin, LCM: Lincomycin, CLDM: Clindamycin

表4. 2020 年に都内の小児科定点病院で分離された *S. pyogenes* の薬剤感受性

MIC(μg/ml)	ABPC	CFDN	CEX	CDTR	TC	CP	EM	CAM	LCM	MIC(μg/ml)	CLDM
>64							3 (6.0)		3 (6.0)		
64											
32											
16							5 (10.0)	3 (6.0)			
8							2 (4.0)	6 (12.0)		>4	3 (6.0)
4								1 (2.0)		4	
2						14 (28.0)				2	
1						36 (72.0)				1	
0.5			43 (86.0)		20 (40.0)				27 (54.0)	<=0.5	47 (94.0)
0.25			7 (14.0)		30 (60.0)				19 (38.0)		
0.12							13 (26.0)	3 (6.0)	1 (2.0)		
0.06	1 (2.0)						26 (52.0)	36 (72.0)			
0.03	41 (82.0)						1 (2.0)	1 (2.0)			
0.015	8 (16.0)										
0.008		49 (98.0)		49 (98.0)							
<=0.004		1 (2.0)		1 (2.0)							
合計(%)	50 (100)	50 (100)	50 (100)	50 (100)	50 (100)	50 (100)	50 (100)	50 (100)	50 (100)	合計(%)	50 (100)

1) 耐性: 実線以上、感性: 点線以下

*CAM 32 = >16

2) 使用薬剤 ABPC: Ampicillin, CFDN: Cefdinir, CEX: Cefalexin, CDTR: Cefditoren, TC: Tetracycline,

CP: Chloramphenicol, EM: Erythromycin, CAM: Clarithromycin, LCM: Lincomycin, CLDM: Clindamycin

第9号

電子顕微鏡をつかって微生物を観察する

東京都健康安全研究センター 微生物部
病原細菌研究科 吉田 勲

1. はじめに

細菌や真菌などは、寒天培地上などに発育したコロニーの状態であれば肉眼で確認することができる。また、その形態観察には光学顕微鏡が、さらに微細な観察には電子顕微鏡が用いられている。

一方、ウイルスはメガウイルス属や細菌などに比べて非常に小さいため、電子顕微鏡でないと観察できない。電子顕微鏡は対象物に電子線をあてて観察する機器であり、その分解能は理論的には0.1nm¹⁾ほどで、光学顕微鏡に比較し分解能が非常に優れている。電子顕微鏡を用いて実施した幾つかの細菌とウイルスを例に微生物の観察について述べていきたい。

2. 微生物を観察する前処理

細菌を電子顕微鏡で観察するには、寒天培地上のコロニーから白金線で釣菌した菌をホルマリン加リン酸緩衝液に浮遊、あるいは対象の菌を液体培地で培養しホルマリンを加えるなどの方法で、菌を固定したサンプルを作製後、染色を行う。

一方、ウイルスを観察するためには、サンプル1ml中に10⁶個以上のウイルス粒子が必要と言われている。そのため、培養が可能なウイルスでは、適当な細胞を用いてウイルスを増殖する必要がある。増殖したウイルスが含まれたサンプルをパラフォルムアルデヒドなどで固定試料とするが、このままでは電子顕微鏡でウイルス像を見ることはできない。ウイルスはタンパク質と核酸で構成されているため、原子番号が小さい元素(H, O, N など)のみでは電子線が透過してしまいコントラストが得られないためである。そこで、ウランやモリブデン、タングステンなどを含む染色液でネガティブ染色²⁾する。当所では、モリブデンによる染色をおこなっている。以上は、透過型電子顕微鏡による観察法である。

走査型電子顕微鏡での観察は透過型電子顕微鏡に比べ低倍率であり、培養細胞の表面などの観察に使用している。ウイルスを含むサンプルを接種した細胞を固定し、アルコールにより脱水、乾燥した後、

表面に金属を蒸着し観察試料としている。

3. 細菌の観察

細菌の大きさは μm 単位なので、透過型電子顕微鏡で菌体全体を観察する場合は、数千倍までしか倍率を上げることはできない。また、菌体の厚さもウイルスなどのnm単位ではないので薄切しない場合は黒色に見える。

腸炎ビブリオの全体像を撮影したものと(写真1)、鞭毛の付け根を観察したもの(写真2)を示す。写真2では、特に鞭毛が菌体の中へ貫通しているところが観察されている。

カンピロバクターの電子顕微鏡像(写真3)は、両極に鞭毛を持った菌の形状がよく保存されていることがわかる。

結核菌は、ミコール酸と呼ばれる脂質に富んだ細胞壁を持つため染色液を弾いてしまうため、前述の菌(写真1, 写真3)と異なり菌体が白く観察されている(写真4)。

4. ウイルスの観察

咽頭結膜熱患者の咽頭拭い液からHeLa細胞を使って分離したアデノウイルスは、特徴的な正20面体の構造が観察できる(写真5)。

インフルエンザウイルスは、A型インフルエンザ患者の咽頭拭い液からMDCK細胞を使って分離したものである(写真6)。写真上部の長いウイルスは長さ約800nmほどある。このような長いインフルエンザウイルスは培養世代数が若いほど見られ、培養を重ねると写真下のような球形のウイルスが大多数を占めるようになる。右下の写真は、コンピューターによって見やすいように着色したものである。インフルエンザウイルスの大きさは、ほぼ100nm程度である。

新型コロナウイルス(SARS-CoV-2)は、新型コロナウイルス感染症者の咽頭拭い液からVeroE6/TMPRSS2細胞を用いて分離したもので、コロナウイルスの名前の由来となった王冠状のスパイクがよく見えている(写真7)。大きさは、約100nm程度である。

また、このウイルスは感染症法上の特定病原体(4種)であり、Biosafety Level 3 (BSL3) 実験室対応のウイルスであるため、細胞への試料の接種、接種した細胞の培養、パラフォルムアルデヒドなどの固定

液を培養上清へ添加するまでの操作は、BSL3 実験室内にて行う必要がある。培養に用いた培養プレートの細胞を固定後、脱水、乾燥させた後、金属を蒸着し、走査型電子顕微鏡の観察に供した。上の写真の右上に花びらのように5つのウイルスが出芽している部分を拡大し、着色したのが下の写真である(写真8)。

5. 電子顕微鏡の今後

電子顕微鏡による観察は、日常的な病原体の同定検査法として用いられていない。しかし、2002年にSARS コロナウイルスが出現した際には、当初、原因不明の病原体とされていたが、電子顕微鏡でコロナウイルスの一種であると確認されたことにより、その後の遺伝子検査の開発と解析が導かれたといえる。現在は、次世代シーケンサー(NGS)などの遺

伝子解析機器の発達により検査の場で電子顕微鏡が活躍することは稀である。その一方で、電子顕微鏡によって得られるウイルスの画像は、新型コロナウイルス感染症(COVID-19)のニュースなどで取り上げられ、活用されている。

SARS-CoV-2だけでなく、他のウイルスの電子顕微鏡写真は病原体の実態を把握する目的や教育用として微生物部門への見学者、あるいは研修の補助教材にも用いられている。今後もウイルスや細菌などを画像に残し、ライブラリーとして利用できるようにすることは必要である。

<引用文献>

- 1) (社) 日本顕微鏡学会電子顕微鏡技術認定委員会
- 2) (社) 日本顕微鏡学会：第26回電顕サマースクール2015 テキスト



写真1. 腸炎ビブリオ 透過型電子顕微鏡(TEM) 像

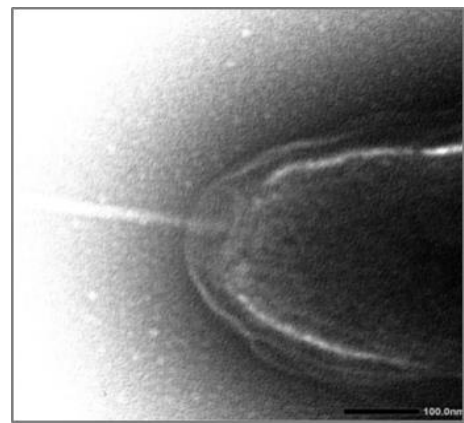


写真2. 腸炎ビブリオ部分拡大(TEM 像)

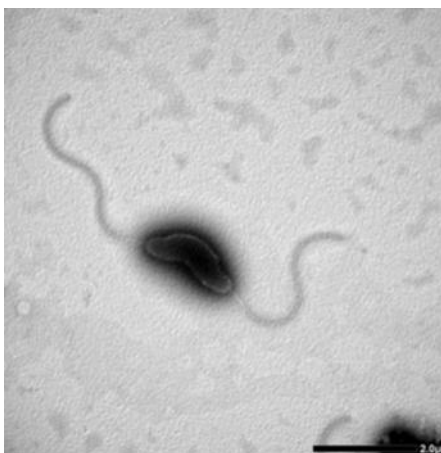


写真3. カンピロバクターTEM 像

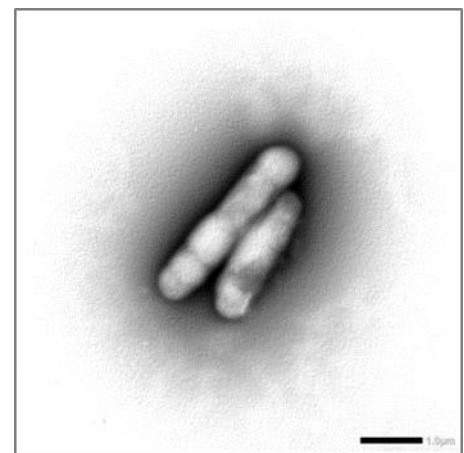


写真4. 結核菌 TEM 像

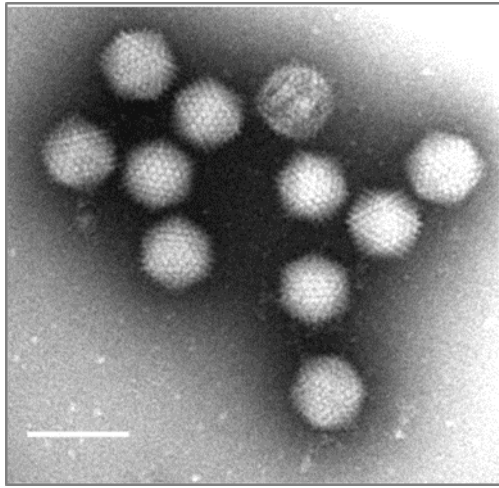


写真5. アデノウイルス TEM 像

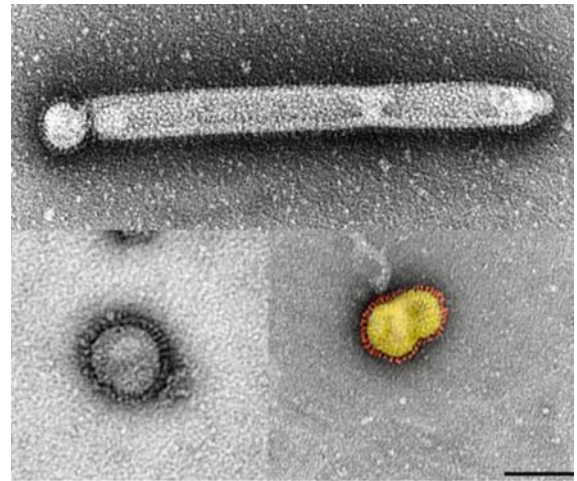


写真6. インフルエンザウイルス TEM 像

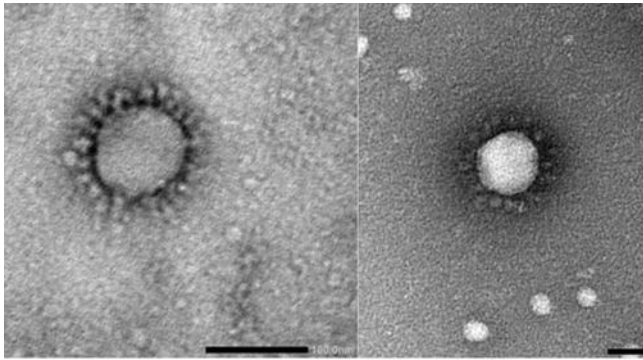


写真7. 新型コロナウイルス TEM 像

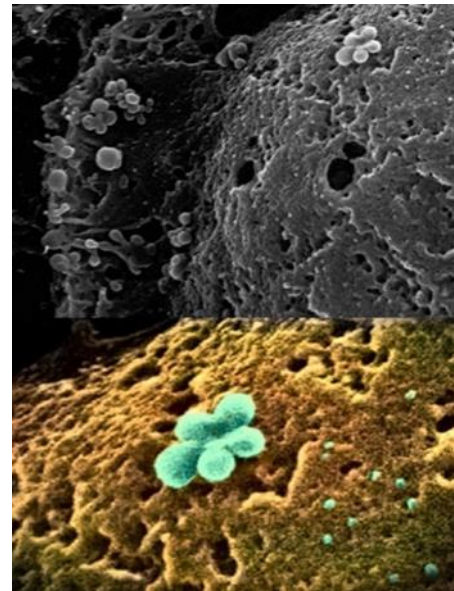


写真8. 新型コロナウイルス
走査型電子顕微鏡（SEM）像

第10号-1

2020年の全国及び東京都における食中毒発生状況

東京都健康安全研究センター 微生物部
食品微生物研究科 前田 雅子

2020年に全国及び東京都内で発生した食中毒事件の概要と特徴について、厚生労働省医薬・生活衛生局食品監視安全課並びに東京都福祉保健局健康安全部の資料に基づいて紹介する。

1. 全国における食中毒発生状況

食中毒事件数は887件、患者数は14,613名（死者数3名）であり（表）、2019年の事件数1,061件、患者数13,018人と比べ、事件数は前年比0.83、患者数は1.12で患者数が増加した。そのうち病因物質不明は15件（1.7%）、患者数351名（2.4%）であった。

細菌性食中毒の事件数は273件（30.8%）であり、前年比0.71で減少した。病因物質別にみると、第1位は2003年以降連続してカンピロバクター182件（20.5%）であり、以下、サルモネラ33件（3.7%）、ウエルシュ菌23件（2.6%）、黄色ブドウ球菌21件（2.4%）、その他の病原大腸菌6件（0.7%）、腸管出血性大腸菌5件（0.6%）、セレウス菌と腸炎ビブリオ1件（0.1%）の順であった。細菌性食中毒の患者数は9,632名（65.9%）で、前年比2.03で増加した。病因物質別では、その他の病原大腸菌6,284名（43.0%）、ウエルシュ菌1,288名（8.8%）、カンピロバクター901名（6.2%）、サルモネラ861名（5.9%）、黄色ブドウ球菌260名（1.8%）の順であった。

1事件あたり患者数500名以上の食中毒は2件発生し、いずれもその他の病原大腸菌によるものであった。6月に埼玉県の小中学校で、給食の海藻サラダを原因食品とした病原大腸菌（O7:H14）により2,958名、8月には東京都大田区で、仕出し弁当を原因とした毒素原性大腸菌（O25,LT産生）により2,548名の患者が発生した。患者が2,000名を超える大規模な細菌性食中毒は近年発生しておらず、2000年に加工乳等を原因としたブドウ球菌による13,420名（最終報告では14,780名）の患者を出した食中毒に次ぐ患者数となった。

ウイルス性食中毒では、ノロウイルスによる事件数は99件（11.2%）で、患者数が3,660名（25.0%）

であり、前年比で事件数0.47、患者数0.53と減少した。1事件あたり患者数500名以上の食中毒は、山形県で原因食品不明として患者数559名が報告された、ノロウイルスを原因とする1件のみであった。その他のウイルス2件はどちらもサポウイルスによるものであった。

寄生虫による食中毒では、アニサキスによる事件数が386件（43.5%）、患者数396名（2.7%）で前年比事件数1.18、患者数1.18で増加した。また、クドアによる食中毒は9件（1.0%）であった。化学物質による食中毒は16件（1.8%）で、植物性自然毒は49件（5.5%）、動物性自然毒は35件（3.9%）であった。

食中毒による死者数は3名で、病因物質は植物性自然毒のグロリオサによるもの1名と、キノコによるもの1名、動物性自然毒のフグ1名によるものであった。

6月に「鮮ミンククジラ肉」を原因とする食中毒事件が発生した。患者は全国に分布し、147名に及んだ。患者らは、宮城県で解体処理されたミンククジラ肉を生で喫食後、下痢、発熱、腹痛、嘔吐、頭痛などの症状を呈した。原因物質の特定には至らなかったが、今後、クジラ肉の危害要因分析が必要と考えられた。

2. 東京都における食中毒発生状況

都内の食中毒事件数は114件、患者数は3,359名で、死亡例は報告されなかった（表）。2019年の事件数119件、患者数865名と比べ、前年比事件数0.96、患者数3.88で、患者数が大幅に増加した。患者数の増加は毒素原性大腸菌による大規模事件発生の影響である。新型コロナウイルス感染症拡大防止のため、東京都には2020年4月7日から2020年5月25日に緊急事態宣言が出され、飲食店への休業や営業時間の短縮が要請された。2020年の食中毒発生状況に少なからず影響が及んだと見られ、飲食店を原因施設とする都内の食中毒事件数は前年比0.78で減少した。

細菌性食中毒の事件数は32件（28.1%）で、病因物質別ではカンピロバクターが21件（18.4%）と最多で、次いで黄色ブドウ球菌4件（3.5%）、ウエルシュ菌4件（3.5%）、腸管出血性大腸菌とその他の病原大腸菌、セレウス菌が1件（0.9%）、であった。細菌性食中毒の患者数は3,104名（92.4%）が報告され、前年比6.91で大幅に増加した。病因物質別では、そ

の他の病原大腸菌 2,548 名 (75.9%)、ウエルシュ菌 336 名 (10.0%)、カンピロバクター177 名 (5.3%)、黄色ブドウ球菌 29 名 (0.9%)、腸管出血性大腸菌 10 名 (0.3%)、セレウス菌 4 名 (0.1%) の順であった。1 事件あたり患者数 100 名以上の食中毒は 1 件で、前述の通り、仕出し弁当を原因食品とした毒素原性大腸菌 O25 による患者数 2,548 名の事例であった。

ウイルス性食中毒では、ノロウイルスによる食中毒事件数は 14 件 (12.3%)、患者数 131 名 (3.9%) であったが、前年比事件数 1.0 患者数 0.49 で減少し

た。1 事件あたり患者数 100 名以上の食中毒はなかった (昨年 0 件)。

寄生虫による食中毒では、アニサキスによる食中毒事件数が 58 件 (50.9%)、患者数 60 名 (1.8%) で、事件数では都内最多発生件数であり、前年比事件数、患者数ともに 1.13 と増加した。

病因物質不明の食中毒は 2 件 (1.8%)、患者数 6 名 (0.2%) で、いずれも飲食店で提供された食事が原因であり、カンピロバクターとサルモネラの複合感染であった。

表. 2020年の食中毒発生状況 (全国、東京都)

病因物質		全国			東京都		
		事件数(%)	患者数 (%)	死者数	事件数 (%)	患者数 (%)	死者数
細菌	サルモネラ	33 (3.7)	861 (5.9)	—	—	—	—
	黄色ブドウ球菌	21 (2.4)	260 (1.8)	—	4 (3.5)	29 (0.9)	—
	ボツリヌス菌	—	—	—	—	—	—
	腸炎ビブリオ	1 (0.1)	3 (0.0)	—	—	—	—
	腸管出血性大腸菌	5 (0.6)	30 (0.2)	—	1 (0.9)	10 (0.3)	—
	その他の病原大腸菌	6 (0.7)	6,284 (43.0)	—	1 (0.9)	2,548 (75.9)	—
	ウエルシュ菌	23 (2.6)	1,288 (8.8)	—	4 (3.5)	336 (10.0)	—
	セレウス菌	1 (0.1)	4 (0.0)	—	1 (0.9)	4 (0.1)	—
	エルシニア・エンテロコリチカ	—	—	—	—	—	—
	カンピロバクター	182 (20.5)	901 (6.2)	—	21 (18.4)	177 (5.3)	—
	その他の細菌	1 (0.1)	1 (0.0)	—	—	—	—
	総数	273 (30.8)	9,632 (65.9)	—	32 (28.1)	3,104 (92.4)	—
ウイルス	ノロウイルス	99 (11.2)	3,660 (25.0)	—	14 (12.3)	131 (3.9)	—
	その他のウイルス	2 (0.2)	41 (0.3)	—	—	—	—
	総数	101 (11.4)	3,701 (25.3)	—	14 (12.3)	131 (3.9)	—
寄生虫	アニサキス(シュドテラノーバを含む)	386 (43.5)	396 (2.7)	—	58 (50.9)	60 (1.8)	—
	クドア・セブテンブククタータ	9 (1.0)	88 (0.6)	—	—	—	—
	サルコシステイス	—	—	—	—	—	—
	その他の寄生虫	—	—	—	—	—	—
	総数	395 (44.5)	484 (3.3)	—	58 (50.9)	60 (1.8)	—
化学物質	化学物質	16 (1.8)	234 (1.6)	—	4 (3.5)	48 (1.4)	—
自然毒	植物性自然毒	49 (5.5)	127 (0.9)	2	1 (0.9)	3 (0.1)	—
	動物性自然毒	35 (3.9)	65 (0.4)	1	1 (0.9)	1 (0.0)	—
	総数	84 (9.5)	192 (1.3)	3	2 (1.8)	4 (0.1)	—
その他	*1	3 (0.3)	19 (0.1)	—	2 (1.8)	6 (0.2)	—
原因物質不明		15 (1.7)	351 (2.4)	—	2 (1.8)	6 (0.2)	—
総数		887 (100)	14,613 (100)	3	114 (100)	3,359 (100)	—

*1 その他(3 件)は、カンピロバクター及びサルモネラ(東京)2 件、カンピロバクター及び腸管出血性大腸菌(大阪府)との混合感染

第10号-2

東京都における胃腸炎起因ウイルスの検出状況（2018/19シーズンから2020/21シーズン）

東京都健康安全研究センター 微生物部
ウイルス研究科 永野 美由紀

2018/19 シーズンから 2020/21 シーズン（2018 年 9 月から 2021 年 8 月）にかけて都内で発生した食中毒事例（有症苦情を含む）、保育園等の施設内の集団胃腸炎発生事例および感染症発生動向調査において、当センターに検査依頼のあった 933 事例の胃腸炎起因ウイルスの検出状況について報告する。対象としたウイルスは、ノロウイルス（Norovirus : NoV）、サポウイルス（Sapovirus : SaV）、A 群ロタウイルス（Rotavirus group A : RVA）、C 群ロタウイルス（Rotavirus group C : RVC）、アストロウイルス（Astrovirus : AstV）およびアデノウイルス（Adenovirus : AdV）である。

1. 2018/19 シーズンから 2020/21 シーズンの概要

当該期間に検査依頼のあった 933 事例の内訳は、食中毒事例（有症苦情を含む）が 700 件、集団胃腸炎発生事例が 33 件、感染症発生動向調査が 200 件であった。供試検体数は、臨床検体（ふん便、直腸ぬぐい液、吐物）が 7,749 検体（胃腸炎発症者 4,373 検体、非発症者 192 検体、調理従事者等 3,184 検体）、食品が 825 検体、拭き取りが 1,159 検体であった。

シーズンごとに事例数を比較すると、2018/19 シーズンはほぼ例年通りであったが、2019/20 シーズンと 2020/21 シーズンは、食中毒事例と感染症発生動向調査が例年の半数に近い事例数であった（表）。食中毒事例数が減少した原因としては、2019 年 12 月以降から流行している新型コロナウイルス感染症の影響により、例年では食中毒の原因施設として多い飲食店の利用が減少したことが考えられる。また、感染症発生動向調査の事例数の減少については、コロナ禍における感染者数の減少や定点医療機関からの患者数報告の減少が一因と推察された。

リアルタイム PCR 法を用いて対象とする胃腸炎起因ウイルスの検査を実施したところ、933 事例中 362 事例（38.9%）の胃腸炎発症者からウイルスが検

出された。シーズンごとにウイルス陽性事例数を比較すると、2018/19 シーズンと 2019/20 シーズンは例年通り 11 月から 2 月にピークを迎えたが、緊急事態宣言が発出された 2019/20 シーズンの 4 月以降から 2020/21 シーズンにかけて例年と比較して少ない陽性事例数で推移した（図 1）。検出されたウイルスの内訳は、NoV が最も多く 362 事例中 300 事例（82.9%）を占めた。その他は RVA が 29 事例（8.0%）、SaV が 16 事例（4.4%）、AstV が 10 事例（2.8%）、AdV が 3 事例（0.8%）、SaV と RVA の混合事例が 2 事例（0.6%）、NoV と RVA の混合事例および SaV と Adeno の混合事例がそれぞれ 1 事例（0.3%）であった。なお、NoV 以外のウイルスが検出された 62 事例中 58 事例（93.5%）は、感染症発生動向調査の小児科定点病院からの依頼検体であった。

NoV が検出された食中毒事例の中で、調理従事者等の検査依頼もあった 142 事例については、72 事例（50.7%）の調理従事者等から NoV が検出された。この結果は、NoV を原因とした食中毒の半数が調理従事者等を介して発生している可能性を示唆しており、近年は同様の傾向が続いている。一方、食品検体は 92 事例について検査依頼があり、4 事例（4.3%）4 検体から NoV が検出された。内訳はカキ（加熱用を含む）が 2 検体、白菜のコールスローとパプリカが 1 検体ずつであった。また、拭き取り検体は 112 事例について検査依頼があり、28 事例（25.0%）43 検体から NoV が検出された。内訳はトイレ便器が 31 検体、床やじゅうたんが 5 検体、トイレのドアノブが 3 検体、換気フィルターが 2 検体、トイレのフラッシュバルブとおむつ交換台がそれぞれ 1 検体ずつであった。以上のことから、食中毒の発生および拡大防止には、従事者の健康管理に対する意識向上や施設内の衛生管理・指導の強化が必要であると考えられた。

2. NoV の遺伝子型

検出された NoV を遺伝子群別にみると、GI が 33 事例（11.0%）、GII が 251 事例（83.7%）、GI と GII がともに検出された事例が 16 事例（5.3%）であった。300 事例の Capsid 領域の遺伝子型別を実施したところ、GII.4 が最も多く 99 事例（33.0%）から検出され、亜型は全て Sydney_2012 に分類された。次いで GII.2 が 77 事例（25.7%）、GII.17 が 29 事例（9.7%）、GII.3 が 28 事例（9.3%）から検出された（図 2）。こ

これらの遺伝子型は、過去にノロウイルスによる胃腸炎の大流行の原因となって以来、主流の遺伝子型であり、近年におけるノロウイルスの遺伝子型の傾向に大きな変化はみられないことが明らかとなった。さらに、GII.4 について RdRp 領域の解析を行ったところ、解析可能であった 90 事例のうち、GII.4 Sydney[P31]が 71 事例、GII.4 Sydney[P16]が 19 事例であった。2017/18 シーズンに都内で初めて検出され

た GI.4 Sydney[P12]（本誌 39 巻 9 号にて報告）は、当該期間には検出されなかった。

NoV は、遺伝子の変異や組み換えによって抗原性や増殖率が変化したウイルスが出現し、場合によっては大流行を引き起こす可能性がある。今後も NoV 遺伝子の変異や流行株の動向について監視し、必要に応じて情報提供や注意喚起をしていく必要がある。

表 事業別の検査依頼事例数（2018/19 シーズンから 2020/21 シーズン）

	2018/19 シーズン	2019/20 シーズン	2020/21 シーズン	合計
食中毒事例	329	210	161	700
集団胃腸炎発生事例	12	3	18	33
感染症発生動向調査	96	54	50	200

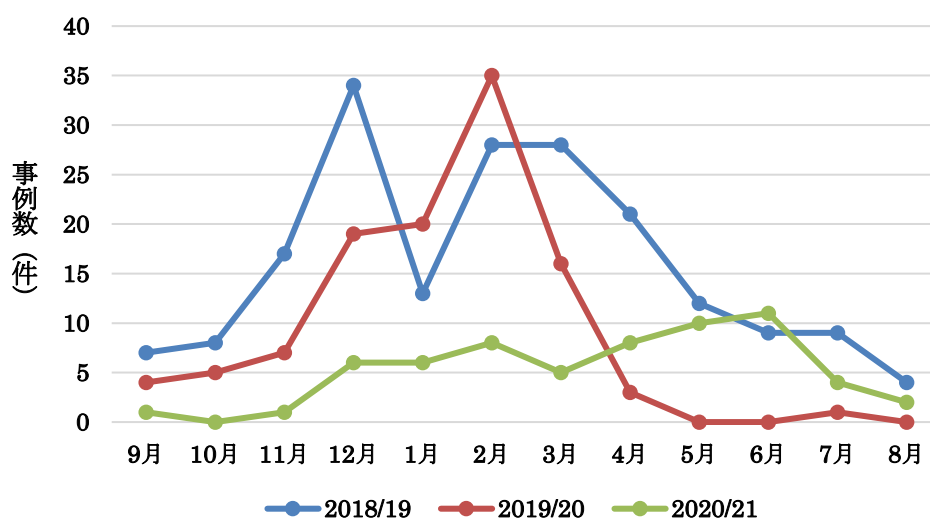


図1 東京都内におけるウイルス陽性事例数の推移
(2018/19 シーズンから 2020/21 シーズン)

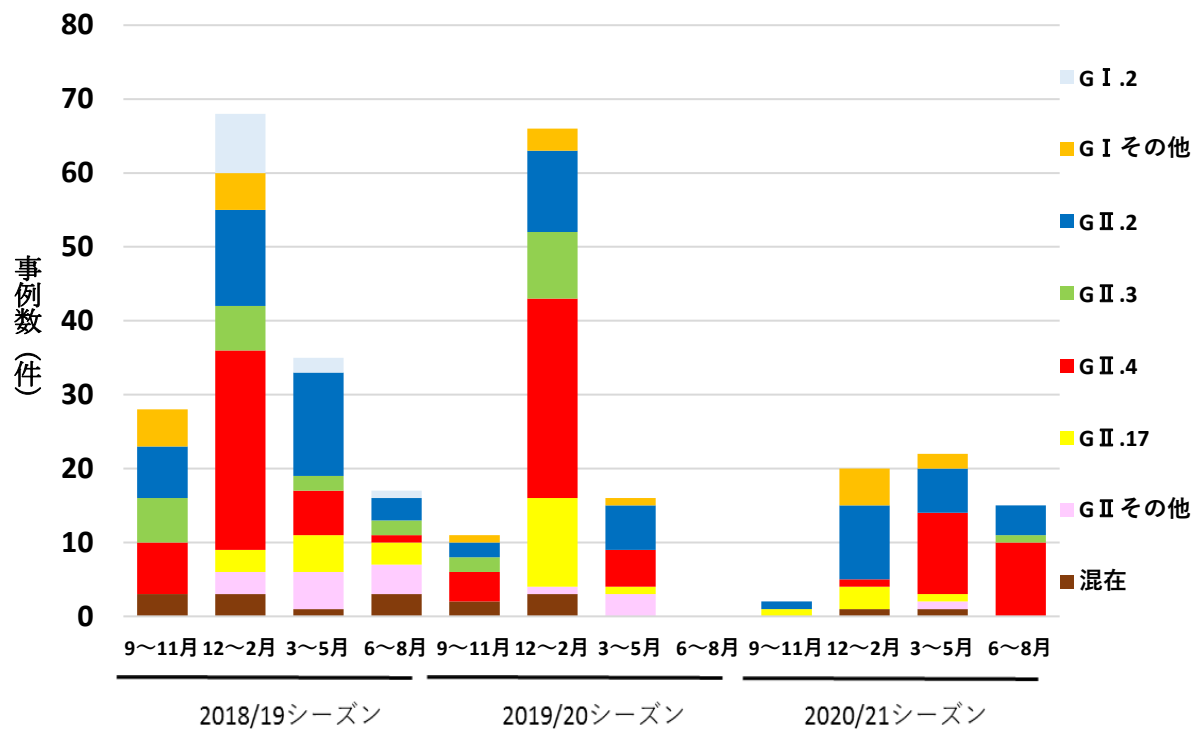


図2 東京都内で検出されたノロウイルスの遺伝子型
(2018/19 シーズンから 2020/21 シーズン)

第11号

東京都において分離された赤痢菌の菌種、血清型及び薬剤感受性について（2019-2020年）

東京都健康安全研究センター 微生物部
食品微生物研究科 河村 真保

近年、我が国における細菌性赤痢の発生状況は、年間約 100～300 件、東京都では 30～100 件程度で推移している。2019 年の届出数は、全国で 140 件、東京都で 27 件であったのに対し、2020 年は全国で 86 件、東京都で 11 件であった。今回、2019～2020 年に都・区検査機関、都内の病院、登録衛生検査所等ならびに東京都健康安全研究センターで分離された赤痢菌を対象に、菌種、血清型および薬剤感受性について概略を紹介する。

1. 材料および方法

供試菌株は、都内の患者とその関係者の検便から分離された赤痢菌 33 株（海外旅行者由来 24 株、国内事例由来 9 株）である。血清型別は、常法により行った。薬剤感受性試験は、米国臨床検査標準化協会（CLSI：Clinical and Laboratory Standards Institute）の抗菌薬ディスク感受性試験実施基準に基づき、市販の感受性試験用ディスク（センシディスク；BD）を用いて行った。供試薬剤は、クロラムフェニコール（CP）、テトラサイクリン（TC）、ストレプトマイシン（SM）、カナマイシン（KM）、アンピシリン（ABPC）、スルファメトキサゾール・トリメトプリム合剤（ST）、ナリジクス酸（NA）、ホスホマイシン（FOM）、ノルフロキサシン（NFLX）およびセフトキシム（CTX）の 10 剤である。また、NA 耐性株については Etest（バイオメリュウ・ジャパン）を用いてシプロフロキサシン（CPFX）、レボフロキサシン（LVFX）、NFLX の 3 種類のフルオロキノロン系薬剤に対する最小発育阻止濃度（MIC）を測定した。CTX 耐性株については、Etest および Double disk synergy 法により ESBL 産生の確認を行った。

2. 菌種および血清型

赤痢菌は腸内細菌科に属するグラム陰性の桿菌で、ディセンテリー、フレキシネル、ボイド、ソネの 4 菌種に分けられる。血清型はディセンテリーで 12

種類以上、ボイドで 18 種類が知られており、市販の血清型に該当しない未承認新血清型も報告されている。2019～2020 年に検出された赤痢菌の菌種別内訳は、フレキシネル菌 11 株（海外 10 株、国内 1 株）、ボイド菌 1 株（海外由来株）、ソネ菌 21 株（海外 13 株、国内 8 株）であり、ディセンテリー菌は検出されなかった。フレキシネル菌の血清型は 1b 型（2 株）、2a 型（5 株）、3a 型（4 株）で、ボイド菌の血清型は 4 型であった（表 1）。

3. 薬剤感受性試験

供試した 33 株の内 27 株が、10 種類の供試薬剤の内 1～7 薬剤に耐性を示した（耐性率 81.8%）。薬剤別の耐性頻度は、ST（60.6%）、TC および SM（ともに 48.5%）、ABPC（42.4%）、NA（24.2%）、CP（21.2%）、NFLX（15.2%）、CTX（9.1%）の順であった。KM または FOM に耐性の株は認められなかった。供試した 33 株の薬剤耐性パターンは 15 種類に分かれた（表 2）。

NA 耐性菌はフルオロキノロン系薬剤に対して低感受性を示し、高度耐性に移行しやすいことが問題視されている。今回、NA 耐性を示した 8 株（海外 4 株、国内 4 株）について、フルオロキノロン系薬剤に対する MIC を測定した。その結果、指標となる CPFX では 2 株が低感受性（MIC:0.125～0.25 µg/ml）を示し、残る 6 株は耐性（CPFX：4～32 µg/ml、LVFX：4～32 µg/ml、NFLX：16～256 µg/ml）であった。CPFX に耐性を示した 6 株は、海外由来、国内由来がそれぞれ 3 株ずつであった。海外由来の 3 株の推定感染国は全てインドで、フレキシネル菌が 2 株、ソネ菌が 1 株であった。また、国内由来 3 株は全てソネ菌であった。CTX 耐性は海外由来フレキシネル菌 2 株および国内由来ソネ菌 1 株に認められた。CTX 耐性株のうち、海外由来株 2 株の推定感染国はそれぞれインドおよびミャンマーであった。国内由来株は、2018 年 11 月から 12 月にかけて都内幼稚園で発生した集団発生事例¹⁾関連の患者株であった。これらの薬剤耐性パターンは、インド由来株が CP・TC・SM・ABPC・NA・CTX、ミャンマー由来株が TC・SM・ABPC・ST・CTX、国内由来株が TC・SM・ABPC・ST・NA・CTX であった。これらの株全てについてクラブラン酸による β-ラクタマーゼ阻害効果が認められたことから、ESBL 産生菌であることが確認された。PCR 法によるインド由来

株およびミャンマー由来株の遺伝子型は CTX-M-1 group であり、国内由来株は CTX-M-9 group であった。

4. 国内事例

今回調査した 2019～2020 年分離株について、分離年ごとの国内由来株の割合は 2019 年が 16.7% (24 株中 4 株)、2020 年が 55.6% (9 株中 5 株) であった。年により増減はあるものの、例年、東京都の細菌性赤痢の届け出のうち国内事例は 20～30% を占めているが、2020 年はそれを大きく上回った。これは、世界的な新型コロナウイルス感染症の影響で 2020 年の我が国への入国者数が前年の 51,409,309 名から 8,045,450 名と、20%以下に大きく減少した²⁾ことにより、輸入事例の発生が抑えられたためと考えられる。今回調査した国内由来株 9 株の菌種は、8 株がソネ菌、1 株がフレキシネル菌であった。これらの菌株のうち、2019 年に検出されたソネ菌 1 株は 2018 年末に都内幼稚園で発生した集団発生事例関連の患者株であり、2020 年に検出のソネ菌 1 株

は家族内感染が疑われた事例であった。その他 7 株については、感染経路は不明であった。

2020 年以降、海外からの入国者が例年よりも少ない状況が続いており、その影響で細菌性赤痢の発件数が抑えられていると考えられる。一方、国内感染事例は引き続き発生しており、今後、新型コロナウイルス感染症の収束後に日本人の出入国数および訪日外国人数がコロナ禍前の水準に戻ると、再び細菌性赤痢の発生増加も懸念される。今後も赤痢菌の菌種、血清型および薬剤耐性の動向を注意深く監視し、感染対策を行う必要がある。

<引用文献>

- 1) 東京都微生物検査情報 (月報) 40, 11 月号, 2019
- 2) 法務省・出入国在留管理庁：出入国管理統計統計表
https://www.moj.go.jp/isa/policies/statistics/toukei_ichiran_nyukan.html (2021 年 11 月 30 日現在)

表 1. 赤痢菌の菌種および血清型 (2019-2020 年：東京)

菌種	血清型	分離数
ディセンテリー		0
フレキシネル	1b	2 (1)
	2a	5 (5)
	3a	4 (4)
ボイド	4	1 (1)
ソネ		21 (13)
計		33 (24)

表 2. 菌種別薬剤耐性パターン (2019-2020 年 : 東京)

耐性パターン	フレキシネル	ボイド	ソネ	計
CP・TC・SM・ABPC・NA・NFLX	1			1
CP・TC・SM・ABPC・NA・CTX	1			1
TC・SM・ABPC・ST・NA・NFLX			2	2
TC・SM・ABPC・ST・NA・CTX			1	1
CP・TC・SM・ABPC・ST			2	2
TC・SM・ABPC・ST・CTX	1			1
TC・SM・ST・NA・NFLX			1	1
CP・TC・SM・ABPC	3			3
TC・SM・ABPC・ST	1		1	2
TC・SM・ST・NA			1	1
SM・ST	1			1
ABPC・ST			1	1
NA・NFLX			1	1
TC		1		1
ST			8	8
感受性	3		3	6
耐性株合計	8	1	18	27

供試薬剤: CP・TC・SM・KM・ABPC・ST・NA・FOM・NFLX・CTX

第12号-1

ヒト免疫不全ウイルス（HIV）の抗体確認検査について

東京都健康安全研究センター 微生物部
ウイルス研究科 河上 麻美代

ヒト免疫不全ウイルス（HIV）はレトロウイルス科レンチウイルス属に属するRNAウイルスであり、後天性免疫不全症候群（AIDS）の病原体として知られている。血液中に侵入したHIVは免疫応答を司るCD4陽性T細胞に感染し、細胞内で増殖し、CD4陽性T細胞は破壊される。そして、CD4陽性T細胞数はゆっくりと減少し、その結果、免疫系が破綻することで、AIDSを発症する。近年、HIV感染症は抗HIV薬を用いた適切な治療を早期に受けることにより、血中ウイルス量をコントロールすることが可能になってきているが、一度感染してしまうと体外に排出することは不可能であるため、HIV感染者を早期に発見し、治療に繋げることが極めて重要である。

厚生労働省エイズ動向委員会の報告によると、2020年の日本におけるHIV感染者報告数は750件であり4年連続の減少となったが、AIDS患者報告数は345件と4年ぶりに増加した。2020年に自治体が実施した保健所等におけるHIV検査実施件数は、68,998件（前年142,260件）であり、前年の検査数の約48.5%と大きく減少した。これは2019年末に発生した新型コロナウイルス感染症の国内流行によるHIV検査の受検機会の減少や受検控えが要因である。HIV感染を早期に発見するためにはHIV検査を受検しやすい体制を整えることが重要であり、コロナ禍においても東京都では、東京都新宿東口検査・相談室や東京都多摩地域検査・相談室を中心にHIV検査事業を継続的に実施している。

東京都健康安全研究センターでは、病原体検出マニュアル¹⁾を踏まえ、図1に示す検査フローチャートに従い、スクリーニング検査を実施し、陽性となった検体に対して確認検査を実施している。確認検査は、まず、ウエスタンブロット（WB）法を実施し、WB法で判定保留あるいは陰性となった場合に核酸増幅検査（NAT法）により最終判定を行っている。WB法は特異性が高く、HIV-1とHIV-2の抗体の検出が可能であり、確認検査として重要な検査法である反面、約3時間半程度の検査時間を要すること、

交差反応が生じやすく、目視による結果判定のために判定に苦慮する場合があるといった課題があった。そうした中、2018年11月に新たなHIV確認検査試薬であるGeenius HIV 1/2キット（以下、HIV-1/2抗体確認検査試薬）が我が国で体外診断用医薬品として承認された²⁾。HIV-1/2抗体確認検査試薬はイムノクロマト法の原理を用いており、WB法と比較して約30分程度の短時間で検査が実施できる。さらに、専用リーダーを用いると自動で結果判定が行われるうえ、検査結果を電子データとして残すことができるため、精度管理の観点からも有用である。

過去の報告³⁾では、WB法により判定保留であった感染初期検体13例中7例が陽性（6例は判定保留）でWB法に比べ高感度であり、陰性血清を用いた特異性も98.5%とWB法（HIV-1：81.5%、HIV-2：90.0%）と比べて高く、非特異反応も少ないことから、WB法より多くの点で優れているとしている。

当センターにおいても、搬入された検体のうち、HIV検査の結果HIV陰性となった19検体および、HIV-1陽性となった109検体を供試材料とし、HIV-1/2抗体確認検査試薬で検討を行った。その結果、HIV陰性19検体がすべてHIV-1/2抗体確認検査試薬において陰性となり、WB法でHIV-1陽性となった74検体がすべて陽性であった（表1）。また、WB法において判定保留であった29検体中25検体（NAT陽性検体）はHIV-1/2抗体確認検査試薬で陽性と判定され、WB法において陰性であった6検体中1検体はHIV-1/2抗体確認検査試薬で陽性と判定された（表1）。これらのことから、HIV-1/2抗体確認検査試薬では確定できずNAT検査が必要になる検体も認められたが、WB法では判定できなかった検体の約74.3%がHIV-1/2抗体確認検査試薬でHIV-1と判定され、WB法における判定保留ならびに陰性例に対するHIV-1/2抗体確認検査試薬の使用は有用であることが示された。

HIV-1/2抗体確認検査試薬はWB法よりも高感度であり、判定が容易である。また、作業が簡便で検査時間も短いことから、HIV-1/2抗体確認検査試薬のさらなる利用によりHIV検査の迅速化や拡充に繋がるのが期待される。WB法は2022年をもって販売終了との情報もあり、検査現場におけるHIV-1/2抗体確認検査試薬への移行が望まれる。

<引用文献>

- 1) 病原体検出マニュアル：後天性免疫不全症候群（エイズ）/HIV 感染症（2019 年 11 月改訂）
<https://www.niid.go.jp/niid/images/labmanual/>

HIV20191122.pdf

- 2) The Medical & Test Journal, N.1450, 2019/1/1
 3) Kondo, M. *et al.* : PLoS One, 13, e0198924, 2018

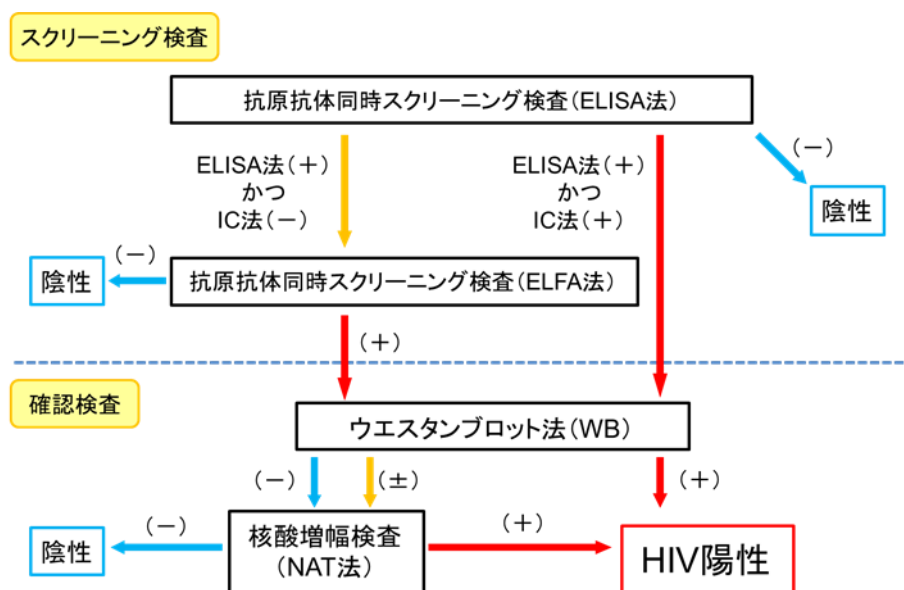


図 1. 東京都健康安全研究センターでの HIV 検査フローチャート

表 1. WB 法と HIV-1/2 抗体確認検査試薬（Geenius）の検出感度の比較

	スクリーニング検査 (-)	確認検査		
		WB (+)	WB (±) NAT (+)	WB (-) NAT (+)
Geenius (+)	0	74	25	1
Geenius (±)	0	0	1	1
Geenius (-)	19	0	3	4
合計 (検体数)	19	74	29	6

第12号-2

新型コロナウイルスの変異株B.1.1.529系統 (オミクロン株)の全ゲノム解析について

東京都健康安全研究センター 微生物部
ウイルス研究科 林 真輝

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の全ゲノム解析は、英国の研究者らを中心とした ARTIC Network が PCR ベースの全ゲノム解析手法を開発し、我が国では国立感染症研究所 (感染研) が改良したプロトコルが公開されている¹⁾。東京都健康安全研究センター (当センター) でも 2020 年 5 月からこのプロトコルによる全ゲノム解析を行ってきた。

2021 年 11 月 26 日に WHO は SARS-CoV-2 の懸念される変異株 (Variant of Concern; VOC) として新たに変異株 B.1.1.529 系統 (オミクロン株) を指定した。オミクロン株は基準株 (Wuhan-Hu-1 (NCBI : NC_045512.2)) と比較して約 50 か所のアミノ酸変異 (置換、欠失、挿入) が存在し²⁾、先の全ゲノム解析プロトコルにおける 98 領域を増幅できるマルチプレックス PCR のプライマー配列にも多くの変異が生じていた。そのため、国際データベースである GISAID に初期に登録された一部のオミクロン株の全ゲノム配列には多数の “N” が存在し、オミクロン株特有のアミノ酸変異の把握に課題が生じていた。これらを解決するために感染研から新しいバージョンの補完用のプライマー配列 (ver_N4) が公開された³⁾。当センターにおいても、より確実にオミクロン株の全ゲノム配列を取得することを目的とし、ver_N4 にさらにプライマーを追加した解析法の検討を行ったので報告する。

2021 年 12 月に当センターに搬入され、オミクロン株に特徴的なグルタミン酸 (E) からアラニン (A) への変異 (E484A 変異) を検出するリアルタイム PCR 検査の結果、オミクロン株が疑われた検体の核酸抽出物を用いた。

ライブラリ調製手順は既報⁴⁾に従い、オミクロン解析用として感染研から示されたプライマーセット (ver_N4) に、さらに 5 種類のプライマーを追加したプライマーセット (ver_N4+: 表 1) を構築し、オミクロン株が検出されるより前に使用されていたプライマーセット (ver_N3) と比較した。同一検体をそれぞれのプライマーセットを用いてライブラリを

調製し、既報⁴⁾に示す装置およびデータ処理手法でゲノム解析を行った。

都内で検出されたオミクロン株の基準株に対するマッピング像を図 1 に示す。ver_N3 でゲノム解析したマッピング像 (図 1. A) と ver_N4+ でゲノム解析したマッピング像 (図 1. B) を比較したところ、ver_N3 では 73L、92L で示した領域はほとんど増幅されず、75R、76L、83L、87R で示した領域も増幅量が少なかったのに対し、ver_N4+ ではこれらの 6 領域の増幅が改善した。これらの 6 領域では、ver_N3 プライマー配列部位に変異が入っており、特に 73L プライマー部位には 9 塩基の欠失があり、マルチプレックス PCR では十分な増幅ができていなかった可能性がある。残りの 5 領域は、ver_N4 プライマーセットでカバーはできていたが、87R プライマーを加えたことでこれら 6 領域の増幅は改善した。一方で、10L、34R、50R、88L の領域は ver_N3 と ver_N4+ で大きな差はなかった。これは、変異箇所がプライマー配列の中央部から 5' 末端側に位置し、PCR 増幅への影響が少なかったためと考えられた。

ver_N4+ を用いて 2021 年 12 月 13 日から 2022 年 1 月 8 日の間に当センターに搬入され、E484A 変異を示した 69 検体について全ゲノム解析を試みたところ、その全てから SARS-CoV-2 の全ゲノム配列が良好に得られ、Nextclade で 21K (オミクロン: BA.1、BA.1.1) または 21L (オミクロン: BA.2) と判定された。これらの株の配列情報は GISAID に登録し、情報を共有するとともに、都内事例の全ゲノム情報に基づく疫学解析等に活用している。

<引用文献>

- 1) 国立感染症研究所: 新型コロナウイルスゲノム解析マニュアル Qiagen 社 QiaSEQ FX 編 version 1.2 (2021 年 11 月)
- 2) Omicron Variant Report, 2022.
<https://outbreak.info/situation-reports/omicron>
- 3) Itokawa, K.: Alternative primers for the ARTIC Network's nCov2019 multiplex PCR. 2021.
https://github.com/ItokawaK/Alt_nCov2019_primers
- 4) 林 真輝, 他: 東京健安研七年报, 第 72 号 (2021). [先行公開]
https://www.tniph.metro.tokyo.lg.jp/files/archive/issue/kenkyunepo/nenpou72/06_hayashi.pdf

(いずれも 2022 年 1 月 31 日現在。URL は変更または抹消の可能性がある)

表 1. ver_N4+として ver_N3 に追加したプライマー

Name	Position	Covered mutations	sequence (5' to 3')	Version
nCoV-2019_10_L_Omicron	2826-2850	A2832G	TGAGA AG TGCTCTGCCTATACAGT	
nCoV-2019_34_R_Omicron	10437-10459	C10449A	AGTGAAATTG T GCCTCATAGCA	
nCoV-2019_50_R_Omicron	15224-15246	C15240T	TAACAT A TTGTGCCAACCACCA	
nCoV-2019_73_LEFT_b11529b	21955-21998	21987-21995del	GAATTTCAATTTTGTAAATGATCCATT TTTGG	ver_N4
nCoV-2019_75_RIGHT_b11529a	22877-22903	T22882G G22898A	ACCAC T AACCTTAGAATCAAG C TTGT	ver_N4
nCoV-2019_76_LEFT_b11529a	22797-22819	G22813T	AGGGCAAAC T GGAA T ATTGCT	ver_N4
nCoV-2019_83_LEFT_b11529a	24978-25003	C25000T	TCCTTTGCAACCTGAATTAG A TTCA	ver_N4
nCoV-2019_87_R_Omicron	26566-26590	C26577G	ACTAGGTTCCATT C TTCAAGGAGC	
nCoV-2019_88_L_Omicron	26520-26542	A26530G	CCATGGCAG G TTCCAACGGTAC	
nCoV-2019_92_LEFT_b11529a	27784-27808	C27807T	TTTGTGCTTTT A GCCTTTCTG T	ver_N4

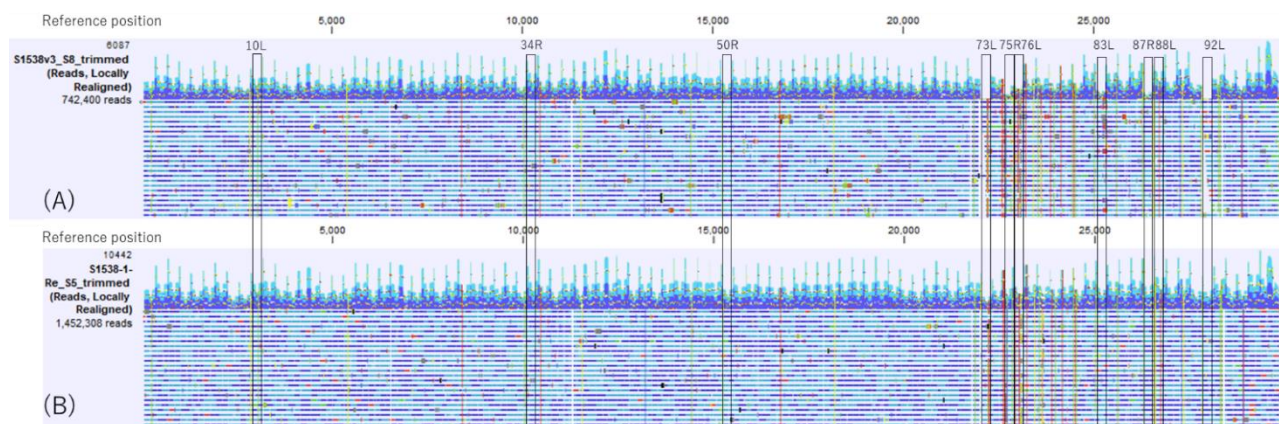


図 1. 都内で検出されたオミクロン株の基準株 (NCBI : NC_045512) に対するマッピング像

第12号-3

新型コロナウイルス簡易抗原検査試薬のオミクロン株 (BA.1) を用いた検討

東京都健康安全研究センター 微生物部
ウイルス研究科 山崎 貴子

新型コロナウイルス (SARS-CoV-2) の検査は、リアルタイム PCR 法等による核酸検出検査が感度と特異性が高く、最も信頼性が高い検査法である。しかしながら、特別な装置と経験が必要であり、検査結果が得られるまでに時間も要する。

一方、簡易抗原検査は、主としてイムノクロマト法を原理とした検出法である。核酸検出検査と比較して感度で劣るものの、迅速性で秀でており、多くの試薬が厚生労働省により承認されている¹⁾。

これまでに 11 種類の診断用の簡易抗原検査試薬について、臨床検体から分離された 5 種類の SARS-CoV-2 変異株 (従来株、R1 株、アルファ株、カッパ株、デルタ株) を用い、検出感度の検討を行った。その結果、各簡易抗原検査試薬の検出感度は 10^5 – 10^7 copies で、陽性として検出できる濃度に差は生じたが、変異株の違いによる感度差は認められなかったことを報告してきた²⁾。

今回、2021 年 12 月に当センターで分離されたオミクロン株 (BA.1 (B.1.1.529 系統): TKYX00012_2021) を用い、ウイルス原液 (2.9×10^7 copies/ μ L) を 100 倍、250 倍、500 倍、1,000 倍、2,500 倍にリン酸緩衝生理食塩水で希釈後、各希釈液を用い、上記 11 試薬のうちの 5 試薬を選択し、同様の検討を行った。

その結果、前回の検討結果と同様に、陽性として検出できる濃度に 2.5–10 倍の差は生じたが、株の違いによる感度差は認められなかった。これは各試薬の抗原認識部位はスパイクタンパクではなく、ヌク

レオカプシド (N) 蛋白であり、オミクロンの N 蛋白の変異が抗原検出には影響しないためと考えられる。

今回の検討結果から、オミクロン株感染の診断に、簡易抗原検査の使用が今までと同様に可能であることが示された。

当初、診断用の簡易抗原検査試薬は、医療機関等に限り販売されてきた。しかしながら、家庭等において体調が気になる場合等に、セルフチェックとして検査を実施できるようにすることで医療機関への受診につなげ、感染拡大防止に役立てる目的で、2021 年 9 月より薬局での医療用抗原検査キットの取扱いが可能となった。

2022 年の年頭からオミクロン株による国内感染が多く発生し始めている。オミクロン株は、今までのアルファ株やデルタ株などの変異株と比較し、重症化しにくいとの指摘もあるが、高い感染力を有することからも³⁾、検査の迅速性に優れた簡易抗原検査の効果的な利用は感染抑止に必要と考えられる。

<引用文献>

- 1) 新型コロナウイルス感染症の体外診断用医薬品 (検査キット) の承認情報
https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_11331.html
- 2) 山崎貴子, 他: 東京健安研セ年報, 第 72 号 (2021). [先行公開]
<https://www.tmiph.metro.tokyo.lg.jp/archive/issue/kenkyunenpo/nenpou72/>
- 3) 東京都: オミクロン株に関する情報
https://www.fukushihoken.metro.tokyo.lg.jp/iryo/kansen/corona_portal/henikabu/omicron_info.html

(いずれも 2022 年 1 月 31 日現在。URL は変更または抹消の可能性がある)

表. SARS-CoV-2 簡易抗原検査試薬のオミクロンを含むウイルス希釈液に対する判定結果
(100-2,500 倍希釈)

Pango系統	ウイルス株名	簡易抗原検査試薬																				抽出前濃度 (100倍希釈 ウイルス液) (copies/μL)		
		A					B				C				D				E					
		×100	×250	×500	×1000	×2500	×100	×250	×500	×1000	×100	×250	×500	×1000	×100	×250	×500	×1000	×100	×250	×500		×1000	×2500
B.1.1.214 従来株	TKYE641818 _2020	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	1.4×10 ⁵
R.1	TKYT76080 _2021	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	1.7×10 ⁵
B.1.1.7 アルファ	TKYT78062 _2021	+	+	+	+	-	+	+	±	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	2.9×10 ⁵
B.1.617.2 デルタ	TKYTK1734 _2021	+	+	+	+	-	+	+	±	±	+	±	-	-	+	+	+	±	+	+	+	+	-	3.8×10 ⁵
B.1.617.1 カッパ	TKYTK5356 _2021	+	+	+	+	-	+	+	-	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	1.3×10 ⁵
B.1.1.529 オミクロン	TKYX00012 2021	+	+	+	+	-	+	+	±	-	+	-	-	-	+	±	-	-	+	+	+	+	-	2.9×10 ⁵

第12号-4

東京都における新型コロナウイルス変異株（オミクロン株）スクリーニング検査について

東京都健康安全研究センター

微生物部 長島 真美

19年12月に中国で最初に確認された新型コロナウイルス感染症（COVID-19）は、2022年に入っても世界的流行が続いている。その原因の多くは免疫からの逃避や感染性・伝播性が増加した新型コロナウイルス（SARS-CoV-2）の変異株による感染拡大で、これら変異株の多くはスパイクタンパク遺伝子に特徴的な遺伝子変異（アミノ酸変異）を有している。WHOは感染・伝播性、抗原性の変化等を踏まえた評価に基づき、懸念される変異株（Variant of Concern; VOC）、注目すべき変異株（Variant of Interest; VOI）、監視下にある変異株（Variants under monitoring; VUM）、以前監視下においていた変異株（Formerly monitored variants）として変異株の位置づけを行い、世界各国で監視体制が敷かれている。これまで日本では、いずれもVOCに分類されているN501Y変異を持つアルファ株（第4波）、L452R変異を持つデルタ株（第5波）による全国的な流行がみられている。

WHOは、2021年11月24日にSARS-CoV-2の変異株B.1.1.529系統をVUMに分類したが、11月26日にウイルス特性の変化の可能性を考慮し、「オミクロン株」と命名し、VOCに格上げした¹⁾。オミクロン株は、基準株とされる武漢株（Wuhan-Hu-1 (NCBI: NC_045512.2)）と比較して約50か所のアミノ酸変異が存在し、スパイクタンパクには、30か所程度のアミノ酸変異と3か所の小欠失および1か所の挿入部位を持つ特徴があり^{2,3)}、このうち15か所程度の変異は受容体結合部位（Receptor binding protein (RBD); residues 319-541）に存在している。

WHOの指定するB.1.1.529系統（オミクロン株）と確定するためには、全ゲノム情報による塩基変異の全体像を知ることが不可欠である。全ゲノム解析はウイルスゲノム全体に渡る全ての変異が確認でき、症例間の疫学的リンクを追うための有効なツールにもなる。しかし、全ゲノム解析には数日に渡る複数の工程があり、出力されるデータは膨大であるため解析にも時間を要する。さらに、ウイルス量の多い検体（Ct値30未満）でのみ解析が可能であり、1件

当たりのコストも高い。日々急拡大する感染状況下においては、迅速にオミクロン株の可能性のある検体を早期に把握し、感染拡大の防止に寄与することが健康危機管理上の重要な要素となる。

オミクロン株は、現在、BA.1～BA.3に分かれ、L452L、E484AやN501Y等の特異的な変異を有し、BA.1の特異的な変異としてはins214EPE等がある。そのため、変異株スクリーニング検査として、アルファ株やデルタ株検出用に使用されていたリアルタイムPCR系の使用が可能であり、さらに、E484Aやins214EPEのリアルタイムPCRを用いることで、オミクロン株のスクリーニング検査を確実に行うことが可能である（表1）。

東京都では、12月3日から東京都健康安全研究センターで実施した陽性例および変異株検査依頼で搬入された検体を対象にオミクロン株を対象とした変異株スクリーニング検査を開始した。オミクロン株の可能性のある検体を早期に絞り込むためには、L452R変異PCR検査に加え、N501Y変異、E484A変異、ins214EPE等を検出する方法を状況に合わせて使用している（表2）。

2022年1月末現在、日々国内各地で過去最多の感染者数が報告されており、東京都でも1日の感染者数が1万人を超えている。海外では既にオミクロン株の感染者数がピークアウトしてきている国も出てきているが、我が国においては、未だ予断を許さない状況である。オミクロン株の動向も含め、SARS-CoV-2陽性例に対する変異株スクリーニング検査を今後も継続的に実施していく必要がある。

<引用文献>

- 1) WHO: Tracking SARS-CoV-2 variants.
<https://www.who.int/en/activities/tracking-SARS-CoV-2-variants/>
- 2) ECDC: Implications of the further emergence and spread of the SARS-CoV-2 B.1.1.529 variant of concern (Omicron) for the EU/EEA – first update 2 December
<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/threat-assessment-covid-19-emergence-sars-cov-2-variant-omicron-december-2021.pdf>
- 3) Omicron Variant Report, 2022.
<https://outbreak.info/situation-reports/omicron>

(いずれも 2022 年 1 月 31 日現在。URL は変更または抹消の可能性がある)

表 1. スパイクタンパク領域に変異を持つ変異株

WHO分類	WHO label	Pango lineage	スパイクタンパク領域のアミノ酸変異				
			N501Y	del 69-70	E484K/A	L452R/Q	ins214EPE
VOC	Alpha	B.1.1.7	Y	del	E	L	—
	Beta	B.1.351	Y	—	K	L	—
	Gamma	P.1	Y	—	K	L	—
	Delta	B.1.617.2	N	—	E	R	—
	Omicron	BA.1	Y	del	A	L	+
		BA.2	Y	—	A	L	—
VOI	Lamda	C.37	N	—	E	Q	—
	Mu	B.1.621	Y	—	K	L	—

VOC: Variant of Concern, VOI: Variant of Interest

表 2. 変異株検出用リアルタイム PCR のプライマーおよびプローブ

検出対象	名前	塩基配列 (5'→3')
S_E484A	S_E484A-F	TCTATCAGGCCGGTARCAMACC
	S_E484A-R	AGTGGGTYGAAACYATATGATYG
	S_E484a	FAM-ATGGTGTTCaAGGTTT-MGB
	S_A484c	VIC-GGTGTTCaAGGTTT-MGB
S_ins214EPE	Omi_ins214s-F1	TTCTAAGCACACGCCTATTATAGTGC
	Omi_ins214s-R1	TAAAGCCGAAAAACCCTGAGG
	Omi_ins214s	FAM-TGAGCCAGAAGATC-MGB

◆ 東京都微生物検査情報 ◆

2022年2月25日

編集・発行

東京都健康安全研究センター

東京都感染症情報センター

〒169-0073

東京都新宿区百人町 3-24-1

TEL : 03-3363-3213

FAX : 03-5332-7365

S0000786@section.metro.tokyo.jp

<https://idsc.tmiph.metro.tokyo.lg.jp/>

(2022年1月12日よりURLを変更しました)