

9. 6 細菌科

細菌科では、細菌性の感染症および食中毒の検査、収去された食品の検査、感染症発生动向調査事業のうち細菌関係の病原体検索等および食品化学情報の発信を行っている。また、細菌性の感染症や食中毒に関係する調査研究を行っている。

1. 試験検査、調査業務

(1) 結核の検査(薬事衛生課)

島根県結核菌分子疫学調査事業実施要領に基づき、結核菌 38 株について VNTR 法 (Variable Numbers of Tandem Repeats) による分子疫学解析を実施した。VNTR のプロファイルデータから遺伝系統を推定したところ、11 株が非北京型、22 株が北京型 (祖先型)、3 株が北京型 (新興型) に分類された。2 株は PCR で増幅されなかった。北京型 (祖先型) の 1 株は、過去の菌株と VNTR プロファイルパターンが一致し、1 株は 1 領域違いで一致した。

(2) 細菌性感染症の検査(薬事衛生課)

県東部(松江、出雲及び隠岐保健所管内)で発生した腸管出血性大腸菌及の便検査やレプトスピラ感染症の遺伝子検査を実施した。令和元年度の腸管出血性大腸菌感染症の便検査は 17 件で、レプトスピラ症の遺伝子検査は 2 件であった。

また、島根県で発生した腸管出血性大腸菌の分離株 9 株について H 血清型、Vero 毒素型の検査および薬剤感受性試験を行った。O157 については IS-printing と MLVA による遺伝子解析を 4 件実施した。O26 については MLVA による遺伝子解析を 2 件実施した。分離された株は、O157 : H7 (VT1, 2) 2 株、O157 : H7 (VT2) 2 株、O26 : H11 (VT1) 2 株、O121 : H19 (VT2) 2 株、O145 : H28 (VT2) 1 株である。レプトスピラ症の遺伝子検査の結果は陰性であった。

(3) 食中毒検査(薬事衛生課)

県東部(松江、雲南、出雲保健所管内)で発生した細菌性食中毒の検査を実施した (一部県西部保健所管内分も実施)。令和元年度の県内関係分の食中毒事例は表 1 に示すとおりである。食中毒 (疑いも含む) と有症苦情 (表 2) 計 18 事例 (原因施設が県外の事例を含む) について、細菌培養や寄生虫検査、核酸検査を行った。そのうち、細菌や寄生虫が原因として特定された事例 (県内関係分) は、カンピロバクターが 2 件、クドア・セブテンバクテリウムが 3 件であった。

(4) 食品の収去検査 (薬事衛生課)

令和元年度に、当所では県東部の保健所 (松江、雲南、出雲及び隠岐保健所) で収去された食品 106 件 (魚介類 9 件、魚介類加工品 18 件、穀類加工品 3 件、野菜及び果物加工品 9 件、菓子類 1 件、清涼飲

料水 2 件、牛乳 2 件、乳製品 1 件、そうざい 61 件) の細菌検査を実施した。そうざい 1 件が弁当及びそうざいの衛生規範 (細菌数) に定める規格に不適合であった。

(5) 感染症発生动向調査事業 (薬事衛生課)

県内の小児科定点医療機関 1 施設で採取された感染性胃腸炎患者の検体から、病原体の検索を行った。また、このほか医療機関等から依頼された *Salmonella* の同定、*Yersinia* の血清抗体価測定の実験を行った。

(6) カルバペネム耐性腸内科細菌 (CRE) の検査

県内で届出のあった CRE 感染症の分離株 35 株及び医療機関から依頼のあった 2 株について、カルバペネマーゼの遺伝子検出及び阻害剤を用いた β -ラクタマーゼ産生性の確認試験を行った。その結果、検査を実施した CRE37 株は、いずれもカルバペネマーゼ遺伝子は検出されなかった。

(7) 食品化学情報の発信

健康危機に関わる有害物質等の調査、情報の収集及びその情報を県庁薬事衛生課、保健所、食肉検査所などに提供した。

なお、情報収集は主にインターネットを活用し、保健所等関係機関への情報発信に努めた。

2. 研究的業務

(1) 腸管出血性大腸菌 O157 の Clade 分類と病原性の解析

近年、O157 の進化系統 (Clade) と病原性の関連性に関する研究が進んでいる。特定の Clade で病原性が高いことが報告されているが、国内の O157 の Clade 分類調査は十分に行われていない。そこで、今回、島根県で分離された O157 菌株を対象に調査を行った。その結果、Clade2 に分類された O157 菌株が最も多く、次いで Clade12、3 の順で多かった。これは既報の国内調査と異なる分布傾向を示した。さらに、最も株数が多い Clade2 株について、O157 ゲノム中の 32 領域に存在する挿入配列 (IS629) の有無を調べ、そのデータを用いて系統樹解析を行ったところ、2 つのクラスターに分類された (クラスター 1 と 2)。O157 が産生する VT2 の産生力価をクラスター間で比較したところ、クラスター 2 に属する菌株は有意に VT2 産生力価が高かった。Clade2 株の中に高病原性の遺伝系統が存在する可能性があり、今後の発生动向に注意を払う必要があると考えられた。

(2) *Corynebacterium ulcerans*に関する研究

*C. ulcerans*感染症は人獣共通感染症であり、ジフテリアに酷似した症状を起こす。近年、先進国における *C. ulcerans* 感染症の感染者数は *Corynebacterium diphtheriae* によるジフテリアより増加傾向にある。国内ではネコやイヌからヒトへの感染水平伝播が疑われている。島根県では2017年に *C. ulcerans*感染症が2件発生したことから、県が実施している地域猫活動事業にお

いて避妊去勢手術の対象となっているネコおよび保健所で引き取られたネコの一部を対象に2018年から保菌率の調査を行っている。2019年は85匹を検査し3匹から当該菌が分離された(分離率3.5%)。2018年は84匹中11匹から分離されていた(分離率13.1%)ことから、2019年は分離率の低下がみられた。しかしながら2019年12月に1例の感染事例が発生しており今後もさらなる感染症発生に注意が必要だと考えられた。

表1. 令和元年度の島根県における食中毒発生状況

| No. | 発生年月日 | 発生場所 (管轄保健所) | 患者数 | 原因施設 | 原因食品 | 原因物質 |
|-----|------------|-----------------|-----|--------|------------|------------------|
| 1 | 令和元年 4月 5日 | 益田 | 28 | 飲食店 | ヒラメの刺身 | クドア・セブテンプリンクタータ |
| 2 | 4月 7日 | 松江市 | 24 | 飲食店 | 仕出し料理 | ノロウイルス |
| 3 | 4月 20日 | 邑智郡 | 1 | 家庭 | フグ | テトロドトキシン |
| 4 | 4月 20日 | 益田 | 7 | 飲食店 | ヒラメの刺身 | クドア・セブテンプリンクタータ |
| 5 | 4月 21日 | 益田 | 12 | 飲食店 | ヒラメの刺身 | クドア・セブテンプリンクタータ |
| 6 | 6月 17日 | 松江市 | 39 | 飲食店 | 仕出し弁当 | ノロウイルス |
| 7 | 7月 7日 | 出雲 | 19 | 飲食店 | 飲食店の食事 | 不明 |
| 8 | 8月 3日 | 出雲 | 10 | 飲食店 | 飲食店の食事 | 不明 |
| 9 | 8月 24日 | 出雲 | 6 | 飲食店 | 飲食店の食事 | カンピロバクター |
| 10 | 10月 1日 | 出雲 | 1 | 家庭 | オオシロカラカサタケ | モリブドフィリシン、ステロイド類 |
| 11 | 10月 28日 | 松江市 | 7 | 共同調理施設 | 自ら調理した食事 | カンピロバクター |
| 12 | 11月 2日 | 安来市 | 11 | 飲食店 | 飲食店の食事 | 不明 |
| 13 | 11月 23日 | 大田市 | 7 | 学校 | バーベキュー | カンピロバクター |
| 14 | 12月 5日 | 隠岐郡 | 1 | 不明 | 不明 | アニサキス |

表2. 令和元年度の島根県における集団胃腸炎発生状況
(保健環境科学研究所が検査を実施した事例)

| No. | 発生年月日 (探知年月日) | 発生場所 (管轄保健所) | 患者数 | 概 要 | 原因物質 |
|-----|------------------|-----------------|-----|-------------------|----------|
| 1 | 令和元年 7月 28日 | 松江 | 3 | 飲食店での下痢症事例 | 不明 |
| 2 | 8月 1日 | 松江 | 3 | 飲食店での下痢症事例 | カンピロバクター |
| 3 | 10月 11日 | 雲南 | 12 | 学校での下痢症事例 | カンピロバクター |
| 4 | 11月 22日 | 出雲 | 13 | 会合での嘔吐下痢症事例 | ノロウイルス |
| 5 | 11月 22日 | 出雲 | 2 | 飲食店での下痢症事例 | 不明 |
| 6 | 12月 24日 | 雲南 | 4 | 保育園での嘔吐下痢症事例 | ノロウイルス |
| 7 | 令和2年 1月 6日 | 雲南 | 4 | 介護老人保健施設での嘔吐下痢症事例 | ノロウイルス |

島根県で分離された *Salmonella* の血清型と年度別推移 (2019 年度)

小谷麻祐子・酒井智健・村上佳子・川瀬遵・和田美江子

1. はじめに

厚生労働省による感染症発生動向調査や食中毒の全国統計によると、近年、*Salmonella* 感染症の発生は全国的に減少しており、島根県においても減少傾向にある。

しかし、*Salmonella* 感染症は食生活の変化や海外との人の往来、さらに輸入食品の増加、外来生物のペット化などの影響を受けて、依然として監視すべき感染症と位置づけられる。当所では 1976 年以来 *Salmonella* 感染症の実態を継続調査しており、2019 年度においても患者及び健康保菌者から分離された *Salmonella* 菌株について、分離時期、血清型の種類、薬剤感受性等を検討したので報告する。

2. 材料と方法

県内の病院等で患者及び健康保菌者から分離され当所に送付された 37 株について、血清型別及び薬剤感受性ディスク 18 種類を用いた薬剤感受性試験を実施した。薬剤は、アンピシリン (ABPC)、セフトキシム (CTX)、カナマイシン (KM)、ゲンタマイシン (GM)、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)、シプロフロキサシン (CPF)、ホスホマイシン (FOM)、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)、ノフロキサシン (NFLX)、イミペネム (IPM)、メロペネム (MEPM)、セフトジジム (CAZ)、セフォキシチン (CFX)、アミカシン (AMK)、コリスチン (CL) を使用した。

なお、2018 年度からは、IPM、MEPM、CAZ、CFX、AMK、CL を加えた 18 剤で試験を行っている。

3. 結果と考察

3. 1 月別分離状況

例年、細菌性食中毒は、5 月から 9 月に多発するが、今年度、島根県では *Salmonella* による集団食中毒の発生は認められなかった。患者及び健康保菌者からの検出月別分離株数は、2019 年 4 月に 6 株、5 月に 5 株、6 月に 3 株、7 月に 5 株、8 月に 3 株、9 月に 5 株、10 月に 4 株、11 月に 4 株、12 月に 1 株、1 月に 1 株であった (表 1)。

3. 2 血清型別推移

今年度、多く分離された血清型は、*S. Thompson* で 9 株 (24%)、次いで *S. Schwarzengrund* が 5 株 (14%) であり、型別不明株が 3 株 (8%) であった (表 2)。

3. 3 薬剤感受性

分離された 37 株について、薬剤感受性試験を実施したところ、薬剤耐性なしが 22 株、1 剤耐性が 3 株、2 剤耐性が 2 株、3 剤耐性が 2 株、4 剤耐性が 4 株、5 剤耐性が 1 株、6 剤耐性が 2 株、12 剤耐性が 1 株であった (表 3)。12 剤耐性の *S. Thompson* が確認されたことから、薬剤耐性菌の浸潤に留意するとともに、全国的に流行する血清型には経年的な推移が見られることから、引き続き監視の必要がある。

表 1. 島根県でヒトから分離された *Salmonella* の血清型の月別推移 (2019 年 4 月～2020 年 3 月)

| O 抗原群 | 血清型 | 2019 年 | | | | | | | | | | 2020 年 | | | 合計 | |
|---------|--------------------------|--------|---|---|---|---|---|----|----|----|---|--------|---|--|----|----|
| | | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 1 | 2 | 3 | | | |
| O4 | <i>S. Stanley</i> | 1 | 1 | | | | 1 | | | | | | | | | 3 |
| | <i>S. Schwarzengrund</i> | 2 | 3 | | | | | | | | | | | | | 5 |
| | <i>S. spp. (不明)</i> | | | 1 | | | | | | | | | | | | 1 |
| O7 | <i>S. Braenderup</i> | | | | | | 1 | | | | | | | | | 1 |
| | <i>S. Thompson</i> | | | | | 2 | 1 | 3 | 3 | | | | | | | 9 |
| | <i>S. Infantis</i> | 1 | 1 | | | | | | 1 | | | | | | | 3 |
| | <i>S. spp. (不明)</i> | | | | | | | | | | 1 | | | | | 1 |
| O8 | <i>S. Narashino/II</i> | | | | | 1 | | | | | | | | | | 1 |
| | <i>S. Manhattan</i> | | | | 1 | | 1 | | | | | | | | | 2 |
| | <i>S. Newport</i> | | | 1 | | | | | | 1 | | | | | | 2 |
| | <i>S. Blockley</i> | 1 | | | | | | | | | | | | | | 1 |
| | <i>S. Corvallis</i> | | | | 3 | | | | | | | | | | | 3 |
| O3,10 | <i>S. Anatum</i> | | | 1 | | | | | | | | | | | | 1 |
| O1,3,19 | <i>S. Senftenberg</i> | | | | 1 | | | | | | | | | | | 1 |
| O21 | <i>S. Minnesota</i> | 1 | | | | | | | | | | | | | | 1 |
| O28 | <i>S. Pomona</i> | | | | | | | | 1 | | | | | | | 1 |
| UT | <i>S. spp. (不明)</i> | | | | | | | | | 1 | | | | | | 1 |
| | 合計 | 6 | 5 | 3 | 5 | 3 | 5 | 4 | 4 | 1 | 1 | 0 | 0 | | | 37 |

表2. 島根県でヒトから分離された*Salmonella*の血清型の年別推移（2010年度～2019年度）

| O抗原群 | 血清型 | 2010 | 2011 | 2012 | 2013 | 2014 | 2015 | 2016 | 2017 | 2018 | 2019 | 合計 | |
|-------------------------|-------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-----|---|
| O4 | <i>S. Paratyphi B</i> | 1 | | | 1 | | | | | | | 2 | |
| | <i>S. Stanley</i> | | 1 | | 1 | 2 | | 1 | 2 | | 3 | 10 | |
| | <i>S. Schwarzengrund</i> | 2 | 4 | 3 | 3 | 2 | | 6 | 7 | 3 | 5 | 35 | |
| | <i>S. Saintpaul</i> | | 3 | 2 | 1 | 5 | | | 6 | 4 | | 21 | |
| | <i>S. Derby</i> | | | 2 | | | | | | | | 2 | |
| | <i>S. Agona</i> | | | | | | | 1 | 4 | | | 5 | |
| | <i>S. Typhimurium</i> | 2 | | 3 | | | | | 1 | | | 6 | |
| | <i>S. Brandenburg</i> | | | | 1 | | | | | | 1 | 2 | |
| | <i>S. Heidelberg</i> | | | | | 1 | | | | | | 1 | |
| | <i>S. Haifa</i> | | | 1 | | | | | | | | 1 | |
| | <i>S. spp. (O4:i:-)</i> | 14 | 2 | | 1 | | | | 1 | 1 | 1 | 20 | |
| <i>S. spp.</i> | | | | 2 | | | | | | 1 | 1 | 4 | |
| O6,8 | <i>S. spp.</i> | | | | | | | | | 1 | | 1 | |
| O7 | <i>S. Oslo</i> | | | | | 1 | | | | | | 1 | |
| | <i>S. ParatyphiC</i> | | | 1 | | | | | | | | 1 | |
| | <i>S. Livingstone</i> | | | 1 | | | | | | | | 1 | |
| | <i>S. Braenderup</i> | | | 3 | 5 | | 3 | | | 1 | 1 | 13 | |
| | <i>S. Rissen</i> | | 2 | | 1 | | | | | | | 3 | |
| | <i>S. Montevideo</i> | | 1 | | | | | | | | | 1 | |
| | <i>S. Thompson</i> | 3 | 8 | 6 | 6 | 3 | | 2 | 5 | 2 | 9 | 44 | |
| | <i>S. Daytona</i> | | | 1 | | | | | | | | 1 | |
| | <i>S. Irumu</i> | 1 | | | | | | | | | | 1 | |
| | <i>S. Potsdam</i> | 2 | | | | 1 | | | 1 | | | 4 | |
| | <i>S. Infantis</i> | 6 | 6 | 3 | 3 | | | | 1 | 1 | 3 | 23 | |
| | <i>S. Bareilly</i> | | 1 | 2 | 9 | 1 | | | | | 1 | 14 | |
| | <i>S. Mikawasima</i> | | 1 | | | | | | | | 1 | 2 | |
| | <i>S. Obogu</i> | | | 1 | | | | | | | | 1 | |
| | <i>S. Mbandaka</i> | | | | 1 | 1 | | | | 1 | | 3 | |
| <i>S. Tennessee/ II</i> | | | | | | | | 6 | 1 | | 7 | | |
| <i>S. spp.</i> | | | | | | | | | | | 1 | 1 | |
| O8 | <i>S. Narashino</i> | 1 | | 2 | | | | | | | | 3 | |
| | <i>S. Narashino/ II</i> | | | | | 2 | | 1 | 1 | | 1 | 5 | |
| | <i>S. Yovokome/Manhattan</i> | | 2 | 1 | 1 | | | | | | | 4 | |
| | <i>S. Manhattan</i> | | | | | | | 2 | | | 2 | 4 | |
| | <i>S. Bardo/Newport</i> | | 2 | 1 | | | | | | | | 3 | |
| | <i>S. Newport</i> | | | | | | | 1 | | | 2 | 3 | |
| | <i>S. Kottbus</i> | | | 1 | | | | | | | | 1 | |
| | <i>S. Blockley</i> | | | | 1 | | | 3 | | | | 5 | |
| | <i>S. Pakistan/Litchfield</i> | 1 | | | | | | | | | | 1 | |
| | <i>S. Litchfield</i> | | | | | | | | | 1 | | 1 | |
| | <i>S. Goldcoast</i> | | | | | | | | | 1 | | 2 | |
| | <i>S. Corvallis</i> | | | | 5 | 1 | | | | | | 3 | 9 |
| | <i>S. Istanbul/Hadar</i> | 1 | 2 | | | | | | | | | 3 | |
| <i>S. spp.</i> | 3 | | | | | | | | | | 3 | | |
| O9 | <i>S. Typhi</i> | | | | | | 1 | | | | | 1 | |
| | <i>S. Enteritidis</i> | 3 | 1 | | 2 | | 1 | | 4 | 1 | | 12 | |
| | <i>S. Panama</i> | | | | | | | | | 2 | | 2 | |
| | <i>S. Houston</i> | | | | | | | | | 1 | | 1 | |
| | <i>S. Napoli</i> | | | | 1 | | | | | | | 1 | |
| O3,10 | <i>S. Anatum</i> | | | 1 | | | | | | | 1 | 2 | |
| | <i>S. Uganda</i> | | | | 1 | | | 7 | | | | 8 | |
| O1,3,19 | <i>S. Senftenberg</i> | | 1 | | | | | 1 | | | 1 | 3 | |
| | <i>S. spp.</i> | | | | | 1 | | | 5 | | | 6 | |
| O11 | <i>S. Aberdeen</i> | | | | 1 | | | | | | | 1 | |
| O13 | <i>S. Havana</i> | | 1 | | | | | | | | | 1 | |
| | <i>S. spp.</i> | | | 1 | | | | | | 1 | | 2 | |
| O16 | <i>S. Hvitvingfoss/ II</i> | 1 | 1 | | | | | | | | | 2 | |
| | <i>S. Rhydyfelin</i> | | | | | 1 | | | | | | 1 | |
| | <i>S. Frankfurt</i> | | | | | | | | | 1 | | 1 | |
| O21 | <i>S. Minnesota</i> | | | | | | | | | | 1 | 1 | |
| O28 | <i>S. Pomona</i> | | | | | | | | | | 1 | 1 | |
| O35 | <i>S. spp.</i> | | | | | | | | | 1 | | 1 | |
| UT | | | 1 | 2 | | | | | | 1 | 1 | 5 | |
| | 合計 | 41 | 40 | 38 | 47 | 23 | 5 | 32 | 40 | 27 | 37 | 330 | |

表3 島根県でヒトから分離された*Salmonella* の薬剤耐性

| 血清型 | 薬剤耐性パターン | 菌株数 |
|--------------------------|--|-----|
| <i>S. Schwarzengrund</i> | KM, SM, TC, ST, MEPM | 1 |
| <i>S. Schwarzengrund</i> | KM, SM, TC, NA | 3 |
| <i>S. Schwarzengrund</i> | SM, TC | 1 |
| <i>S. Thompson</i> | ABPC, CTX, KM, SM, TC, CP, CPF, ST, NA, NFLX, CAZ, CFX | 1 |
| <i>S. Thompson</i> | SM | 1 |
| <i>S. Infantis</i> | SM, TC, ST | 1 |
| <i>S. Manhattan</i> | SM | 2 |
| <i>S. Blockley</i> | KM, SM, TC, CP | 1 |
| <i>S. Anatum</i> | ABPC, SM, TC, CP, ST, CFX | 1 |
| <i>S. Minnesota</i> | ABPC, CTX, TC, NA, CAZ, CFX | 1 |
| <i>S. spp.</i> | ABPC, SM, TC | 1 |
| <i>S. spp.</i> | SM, TC | 1 |
| 合 計 | | 15 |

島根県における結核菌の Variable-Number of Tandem-Repeats (VNTR) の 試験結果 (2019 年度)

酒井智健・川瀬遵・村上佳子・小谷麻祐子・和田美江子

1. はじめに

当所では結核の感染源や感染経路の究明を行うため、2012 年度から「島根県結核菌分子疫学調査事業実施要領」に基づき、Variable Number of Tandem Repeats 法(以下 VNTR 法)による結核菌分子疫学解析を実施している。2018 年度の要領改訂により島根県内で登録された結核患者のうち、結核菌が分離された全ての患者が調査対象者となり、島根県内の結核菌遺伝子タイピング情報のデータベース構築が可能となった。2019 年度に当所で行った VNTR 検査の結果について報告する。

2. 検体および方法

2. 1 検体

検体は保健所から依頼のあった38株のうち、DNA抽出が可能な状態であった36株を対象とした。小川培地又は MGIT 液体培地に培養された結核菌から DNA を熱抽出 (95°C10分)したものを使用した。

2. 2 検査方法

VNTR 法分析は前田らの方法¹⁾に従い、JATA(12)-VNTR 分析法の12 領域(Mtub04、MIRU10、Mtub21、Mtub24、QUB11b、VNTR2372、MIRU26、QUB15、MIRU31、QUB3336、QUB26、QUB4156)で分析し、必要に応じて JATA(15)3 領域(QUB-18、QUB-11a、ETR-A)、超可変(hypervariable: HV)3 領域(QUB-3232、VNTR3820、VNTR4120)、国際比較6 領域(Mtub39、MIRU40、MIRU04、Mtub30、MIRU16、ETR-C)を分析した。

2. 3 系統分類解析

瀬戸らの報告²⁾に従い VNTR パターンデータから非北京型株、祖先型北京型株(ST11/26、STK、ST3、ST25/19)、新興型北京型株に系統分類を推定した。

3. 結果

3. 1 VNTR 反復数

検査した菌株のうち、解析した12領域で反復数が完全一致であったものは、No. 19-28とNo. 18-2、No. 19-36とNo. 14-2、No. 19-37とNo. 16-8の3組6株であり、そのうち24 領域で反復数が完全に一致したものは、No. 19-28とNo. 18-2の1組2株であった(表1)。

また、和田らが報告している³⁾多発性大規模感染株 (putative expanding cluster types: pECTs)と24 領域で反復数が完全に一致したものはなかった。

3. 2 系統分類

VNTR パターンによる系統推定の結果については、祖先型北京株が22 株(61.1%)、非北京株が11 株(30.6%)、新興型北京株が3 株(8.3%)であった。また祖先型北京株の内訳は、図1のとおりでありST3、ST25/19とST11/26、STKの順に多く分離された。

4. 考察

今回、24 領域で反復数が完全に一致したNo. 19-28とNo. 18-2の例は同じ保健所管内の患者由来株であったが、患者に関する疫学情報は得られなかったため、関連性を示すにはいたらなかった。

今年度はpECTsと同一型の菌株は分離されなかったが、pECT07は首都圏で分離されるストレプトマイシン (SM)耐性菌であるいわゆるM株と呼ばれる菌と同一型であることから³⁾⁴⁾、今後も監視が必要である。

系統解析では非北京型の割合が30.6%、北京型の割合が69.4%であり、全国での報告とほぼ同様の傾向であった。新興型北京株は感染伝播性及び病原性が高く、特に若年層に多いことが報告されているが、当県における若年層では2018年度と同様に少なかった(表2)。その原因については今後データの蓄積によって明らかにしていきたい。

2019年度の島根県の結核罹患率は対10万人で8.0と全国での11.5と比べ低い状況であるが、VNTR解析データは疫学調査による患者間の関連性の科学的な裏付けや、新興型北京株の動向把握、県内クラスターの解析等、有効な活用が期待できる。そのため今後も継続的な結核菌株の収集およびVNTR解析データの蓄積が重要となると考えられる。

表1 VNTR反復数の一致した菌株とその数値

| 菌株 | Mtub04 | MIRU10 | Mtub21 | Mtub24 | QUB11b | V2372 | MIRU26 | QUB15 | MIRU31 | QUB3336 | QUB26 | QUB4156 |
|-------|--------|--------|--------|---------|--------|-------|--------|--------|--------|---------|--------|---------|
| 19-28 | 2 | 1 | 3 | 2 | 7 | 4 | 7 | 4 | 5 | 7 | 8 | 7 |
| 18-2 | 2 | 1 | 3 | 2 | 7 | 4 | 7 | 4 | 5 | 7 | 8 | 7 |
| | QUB18 | QUB11a | ETR-A | QUB3232 | V3820 | V4120 | Mtub39 | MIRU40 | MIRU04 | Mtub30 | MIRU16 | ETR-C |
| 19-28 | 10 | 9 | 4 | 16 | 14 | 11 | 3 | 3 | 2 | 4 | 3 | 4 |
| 18-2 | 10 | 9 | 4 | 16 | 14 | 11 | 3 | 3 | 2 | 4 | 3 | 4 |

図1 2019年度分離株系統分類解析結果

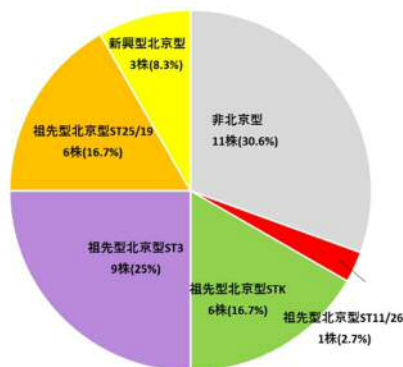


表2 2019年度と2018年度における患者年齢別推定遺伝子系統

| 2019年度 | | | | | | | 2018年度 | | | | | | | | |
|--------|------|---------|-----|-----|---------|-----|--------|-------|------|---------|-----|-----|---------|-----|----|
| 年齢 | 非北京型 | 北京型 | | | | | 合計 | 年齢 | 非北京型 | 北京型 | | | | | 合計 |
| | | 祖先型 | | | | 新興型 | | | | 祖先型 | | | | 新興型 | |
| | | ST11/26 | STK | ST3 | ST25/19 | | | | | ST11/26 | STK | ST3 | ST25/19 | | |
| ≤39 | 0 | 0 | 1 | 1 | 1 | 0 | 3 | ≤39 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| 40-59 | 3 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 5 | 40-59 | 3 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0 | 5 |
| 60-79 | 5 | 0 | 1 | 3 | 3 | 1 | 13 | 60-79 | 3 | 0 | 1 | 5 | 3 | 1 | 13 |
| ≥80 | 3 | 0 | 4 | 5 | 2 | 1 | 15 | ≥80 | 4 | 3 | 1 | 2 | 2 | 3 | 15 |
| 計 | 11 | 1 | 6 | 9 | 6 | 3 | 36 | 計 | 10 | 3 | 3 | 8 | 5 | 5 | 34 |

- 1) 前田伸司 他：国内結核菌型別のための迅速・簡便な反復配列多型(VNTR)分析システム-JATA(12)-VNTR 分析法の実際，結核，83(10)，673～678(2008)
- 2) Seto J et al.: Phylogenetic assignment of Mycobacterium tuberculosis Beijing clinical isolates in Japan by maximum a posteriori estimation , Infect Genet Evol, 35, 82～88(2015)
- 3) 和田崇之 他：結核菌の縦列反復配列多型(VNTR)解析に基づく分子疫学とその展望—大阪市の例，結核，85(12)，845～852(2010)
- 4) 大角晃弘 他：首都圏における，ストレプトマイシン耐性結核菌M株の伝播状況，結核，2009；84：388

島根県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) の解析結果 (2019 年度)

小谷麻祐子・川瀬 遵・村上佳子・酒井智健・和田美江子

1. はじめに

感染症法 5 類全数把握対象疾患であるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: CRE) 感染症は、2017 年 3 月 28 日発出の通知 (健感発 0328 第 4 号) により、症例の届出があった際には医療機関に対し病原体の提出を求め、保健環境科学研究所等で試験検査を実施し、結果を病原体検出情報システムにより報告することとなっている。

2019 年度に島根県内で CRE 感染症の届出のあった症例のうち、当所で菌株試験を実施した結果について概要を示す。

2. 材料

2019 年度の発生動向調査の届出数は 37 件で、昨年度 34 件より増加した。37 症例の平均年齢は 77.3 歳、男女比は男性 22 名 (59.5%) 女性 5 名 (40.5%) で、男性の罹患率が高かった¹⁾。

保健所別届出数は、出雲保健所が最も多く 18 件で、次いで益田保健所が 11 件、松江保健所が 8 件、雲南・県央・浜田・隠岐保健所については届出がなかった (図 1)。

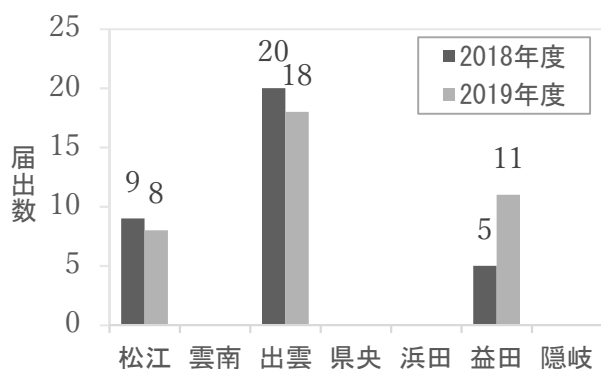


図 1 保健所別届出数

CRE 菌株が分離された検体は、尿 (n=11, 27.5%), 血液 (n=9, 22.5%), 胆汁 (n=7, 17.5%), 喀痰 (n=6, 15.0%), 腹水 (n=2, 6.0%) の順に多く、昨年度と同様の傾向が見られた (図 2)。

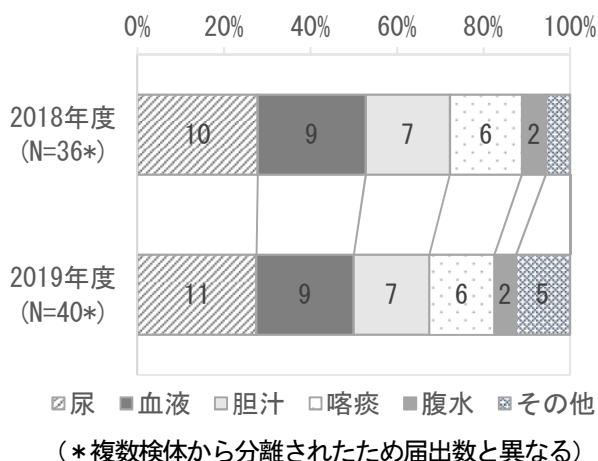


図 2 検体内訳

菌種は、*Klebsiella aerogenes* (2017 年に *Enterobacter aerogenes* の学名が変更された) (n=24, 64.9%) が最も多く、次いで *Enterobacter cloacae complex*^{**} (n=8, 21.6%) (^{**} *Enterobacter cloacae complex* は、*Enterobacter cloacae*, *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter hormaechei*, *Enterobacter kobei*, *Enterobacter ludwigii*, *Enterobacter nimipressuralis*, および *Enterobacter xiangfangensis* の菌種を含む。) が多く、その他に *Enterobacter kobei* が 1 株分離された (図 3)。 *Klebsiella aerogenes* の比率が、昨年度と同様に高かった。

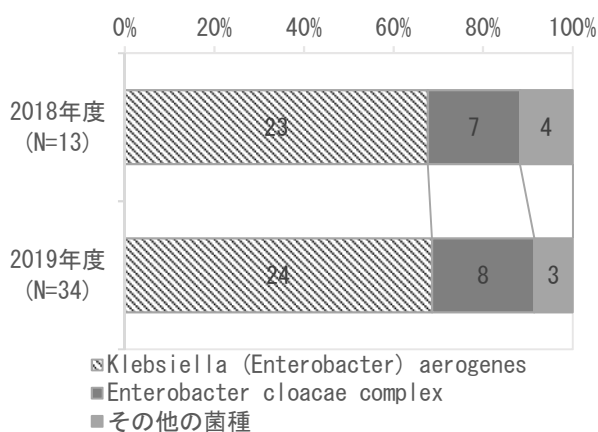


図 3 菌種内訳

3. 方法

発生動向調査で届出のあった 37 件のうち、菌株が収集できた 35 株について試験検査を実施した。菌株の試験検査は、通知により原則実施とされている PCR 法によるカ

ルバペネマーゼ遺伝子検出及び阻害剤を用いた β -ラクタマーゼ産生性の確認を行った。PCR 法によるカルバペネマーゼ遺伝子検出は、原則実施とされている IMP 型、NDM 型、KPC 型、OXA-48 型の 4 種について実施した。ディスク拡散法による阻害剤を用いた β -ラクタマーゼ産生性の確認についても、通知の方法に従い、メルカプト酢酸ナトリウムには、セフトジジム (CAZ) ・メロペネム (MPM)、ボロン酸には、イミペネム (IPM) ・メロペネム (MPM) を用いて実施した。また、mCIM 法によるカルバペネマーゼ産生性についても確認した。

4. 結果と考察

阻害剤を用いたディスク拡散法による β -ラクタマーゼ

産生性の確認試験を行った結果、当所で試験を実施した 35 株のうちボロン酸を用いた検査で陽性となった株は 3 株、残りの 32 株は陰性であった。35 株について PCR 法による 4 種のカルバペネマーゼ遺伝子検査を行った結果、いずれも検出されなかった。また mCIM 法によるカルバペネマーゼ産生性の確認試験についても、試験を実施した株はすべて陰性であった (下表)。

CRE 届出数は年々増加傾向にあるが、今のところ県内で分離され当所で検査を実施した株については、カルバペネマーゼを産生する菌株は検出されていない。しかしながら、今後も国内型や海外型のカルバペネマーゼ産生菌の分離状況を把握するため、引き続き監視を行っていく必要がある。

表 各検査実施数と陽性数

| | 検査項目 | 検査実施株数 | % | 陽性数 | % | |
|------|-------|------------------------|----|-----|---|-----|
| 原則実施 | 遺伝子検査 | IMP 型 | 35 | 100 | 0 | 0 |
| | | NDM 型 | 35 | 100 | 0 | 0 |
| | | KPC 型 | 35 | 100 | 0 | 0 |
| | | OXA-48 型 | 35 | 100 | 0 | 0 |
| | 表現型検査 | メタロ- β -ラクタマーゼ試験 | 35 | 100 | 0 | 0 |
| | | ボロン酸試験 | 35 | 100 | 3 | 8.6 |
| 推奨 | 表現型検査 | mCIM 法 | 35 | 100 | 0 | 0.0 |

島根県におけるネコ及び野生動物の *Corynebacterium ulcerans* 保菌調査

酒井智健、川瀬尊、福間藍子、角森ヨシエ、藤澤直輝、村上佳子、小谷麻祐子

第 162 回日本獣医学会学術集会 (令和元年 9 月 10~12 日 : 茨城県つくば市)

【背景】

Corynebacterium ulcerans は、ジフテリア毒素に極めて類似した毒素を産生する場合があります、ヒトにジフテリア様症状を引き起こす。島根県ではネコを感染源とする *C. ulcerans* 感染症が 2017 年に初めて確認されたが、本県におけるネコの保菌状況は明らかとされていない。さらに国内の野生動物からの本菌の分離報告は少なく、フクロウ、ヒミズからの分離報告のみである。今回、ネコと野生動物の保菌調査等を行ったので、その概要を報告する。

【目的】

本県におけるネコ及び野生動物からの感染リスクについて評価することを目的とする。

【材料と方法】

ネコ(所有者不明 : n=84)、アカネズミ (n=66)、アライグマ (n=54)、ニホンアナグマ (n=4) の鼻咽頭及び口などからスワブを採取した後、羊脱繊維血液寒天培地及び勝川変法荒川培地を用いて分離培養を行った。疑われる菌集落について PCR 法によりジフテリア毒素産生遺伝子 (DT 遺伝子) の検出を行った後、ApiCoryne または *rpoB* の塩基配列解析により菌種を決定した。さらに、県内の患者と動物由来株を用いて PFGE 解析を行った。

【結果】

ネコ 11 匹 (保有率 : 13%)、ニホンアナグマ 1 匹 (保有率 : 25%) から *C. ulcerans* が分離され、DT 遺伝子はすべて陽性であった。PFGE 解析の結果、一部のネコとニホンアナグマ由来株は患者由来株と類似したパターンを示した。

【考察】

ニホンアナグマとネコ由来株の一部は、患者由来株の泳動パターンと類似した結果を示したことから、さらに詳細な検討が必要である。ニホンアナグマからの本菌の分離報告は初めてであるが、ニホンアナグマはジビエ料理として提供される場合があるため、狩猟者・処理業者等への啓発の必要性などの検討が今後の課題となる。

同一由来株でベロ毒素産生能の異なる腸管出血性大腸菌 0157 が 分離された集団感染事例

小谷麻祐子、川瀬尊、辰巳智香、福間藍子、酒井智健、村上佳子、和田美江子

令和元年度島根県獣医学会 (令和元年 8 月 1 日 : 松江市)

令和元年度獣医学術中国地区学会 (令和元年 10 月 19 日~20 日 : 松江市)

腸管出血性大腸菌 (EHEC) は、人に感染すると、下痢、腹痛、血便等の症状を引き起こす。感染症予防法に基づく 3 類感染症であり、その試験方法については、ベロ毒素 (VT) 産生の確認、VT 遺伝子の検出が定められている。2018 年に出雲保健所管内で発生した感染事例については、同一由来株でありながら、ベロ毒素 (VT) 産生能が異なる EHEC 0157 が複数分離された。当県ではこういった事例は少なく、今後の試験方法の方向性を検討するため、若干の検討及び考察を行った。

患者 1 名、患者親族 11 名、患者親族が通園している保育園の園児 64 名、保育園職員 34 名の便検体を用い、0157 の分離培養を行った。生化学性状試験等により血清型 0157 の大腸菌と同定された株について、VT の検出 (イムノクロマト法、VTEC-RPLA、Vero 細胞を用いた試験) と PCR 法による VT 遺伝子の検出を行った。さらに、IS-printing 及び MLVA

法による分子疫学解析を行った。

患者 1 名、患者親族 4 名、園児 2 名の便より 0157 が分離された。分離株すべてが VT2 遺伝子陽性であったが、イムノクロマト法 (IC 法) では 7 検体中 4 検体が VT2 陽性、3 検体が陰性であった。VTEC-RPLA では、IC 法陽性の株は VT2 を検出し、IC 法陰性の株については不検出であった。7 株すべてについて、VT2 遺伝子は VT2c 遺伝子と分類された。Vero 細胞を用いた毒性試験では、IC 法陽性株では最大 64 倍希釈試料の接種で細胞壊死像がみられた一方、IC 法陰性株では 2 倍希釈試料でわずかに壊死像がみられた程度であり、2 群間の VT2 産生量の差が明瞭に確認された。IS-printing については、すべて同じ IS コードを示した。MLVA 法においては 3 種類の MLVA type に分類されたが、対象としている 8 遺伝子座のうち 1 ローカス違いであり同一由来株と判定された。

本事例において一部の株で IC 法陰性となった原因は、IC 法の感度が低い VT2c 遺伝子を保有し、且つ VT2 産生量が少ない株であったことが考えられた。0157 による食中毒及び感染症検査の際には、IC 法の特徴を理解した上で、遺伝子検査を併用し判定を行うことが適当と考えられる。VT2 遺伝子陽性・IC 法陰性の EHEC は過去にも分離例があり、今後の発生状況等に注意が必要である。

腸管出血性大腸菌 0157 の IS629 プロファイルデータに基づく 系統樹解析と Stx2 産生力価の比較

川瀬 遵、林 美海、角森 ヨシエ、福間 藍子、酒井 智健、小谷 麻祐子、村上 佳子、和田 美江子

令和元年度島根県獣医学会 (令和元年 8 月 1 日：松江市)

令和元年度獣医学術中国地区学会 (令和元年 10 月 19 日～20 日：松江市)

令和元年度日本獣医師会獣医学術年次大会 (令和 2 年 2 月 7 日～9 日：東京都)

1. はじめに

腸管出血性大腸菌 0157 は、志賀毒素 (stx1 と stx2) を産生し、特に stx2 は重症化に関与している。一方、0157 の病原性と進化系統に関する研究が進み、近年の研究で、進化系統群として Clade 分類法が提唱された。さらに、Clade とゲノム上の転移性遺伝子 (IS629) や病原性との相関、国内外における Clade の分布状況に関する報告がなされているが、国内調査は限定的である。今回、本県で分離された人由来 0157 の IS629 (IS) の系統樹解析や Clade の推定、stx2 産生力価を解析した。

2. 材料および方法

(1) 菌株：2002～2015 年に本県で分離された人由来 0157 で、疫学的に関連のない 111 株を試験に供した。(2) IS の分布：0157 の抽出 DNA 試料と IS-printing system (IS-P) を用いて、2 種類の Multiplex PCR を行った。32 か所の IS の分布データから Dice 係数を用いた UPGMA 法で系統樹解析を行った。(3) Clade の推定：既報に従い、相対的相似度を利用した算出式により、0157 を Clade1～12 の分類に推定した。(4) stx2 産生力価の解析：既報に従い、0157 培養液の遠心上清を試料として、VTEC-RPLA により stx2 産生力価を測定した。

3. 成績

(1) 0157 は、IS の系統樹解析で、7 種類のクラスターに分類された。各クラスター間における stx2 産生力価を比較したところ、クラスター 2 は最も高く、クラスター 5 は最も低い力価を示した。(2) 0157 の Clade を推定したところ、Clade2、12、3 が優勢であり、既報の国内調査と異なる傾向を示した。(3) 系統樹と Clade 推定結果を組み合わせた結果、クラスター 1 は Clade2 と 3、クラスター 2 は Clade2、クラスター 3 は Clade8 と 7、クラスター 4 は Clade7、クラスター 5 は Clade12 で構成されていた。クラスター 2 は、一般的に高病原性と言われる Clade8 (クラスター 3) よりも高い stx2 産生力価を示したことが明らかとなった。

4. 考察

クラスター2に属するClade2株は、stx2産生力価が最も高く、高病原性であると推察された。今後の発生動向に注意を払う必要がある。推定結果ではあるが、Clade分布は他県と異なる傾向を示し、本県の環境中に存在する0157も異なるClade分布状況を呈している可能性がある。Clade分類は32か所の塩基多型解析が必要であり、時間と労力が必要である。簡便迅速な分子疫学解析ツールであるIS-Pは、Clade分布推定調査や0157のリスク評価を行うツールとしても有用であることが示唆された。

IS629分布データの系統樹解析に基づくクラスター間の病原性評価と STEC 0157のClade分類

川瀬 尊、林 芙海、角森 ヨシエ、福間 藍子、酒井 智健、小谷 麻祐子、村上 佳子、和田 美江子

第40回日本食品微生物学会学術総会（令和元年11月28日～29日：東京都）

【背景と目的】

志賀毒素産生性大腸菌（STEC）は、ヒトに下痢や血便等の症状を呈し、0157は特に公衆衛生上重要な血清型である。0157に関しては、進化系統と病原性に関する研究が進み、近年、進化系統群としてClade分類が提唱された。さらに、異なるClade菌株間でIS629の分布状況に偏りがあることやClade菌株間で病原性が異なることが報告されている。国内外でClade分布状況の報告がなされているが、国内調査は限定的で、幅広い地域での調査が必要である。今回、島根県で分離された0157のCladeの分布状況や病原性について解析を行った。

【材料と方法】

(1) 菌株：2002～2015年に島根県で分離されたヒト由来0157株で、疫学的に関連のない111株を試験に供した。(2) Clade分類：既報に従い、Amplification refractory mutation system PCR (ARMS-PCR)法を行うことで、8領域のSNPを決定した。次にlineage-specific polymorphism assay (LSPA-6)を行い、両解析法の成績を基にして、Clade 1～12に分類した。(3) IS629の分布：IS-printing system (IS-P)を用いて、2種類のMultiplex PCRを行った。32か所のISの分布データを基にして系統樹解析を行った。(4) stx2の解析：PCR法でstx2のサブタイピング、Stx2aフェージのサブタイピングを行った。(5) Stx2産生力価の解析：既報に従い、0157培養液にマイトマイシンCを添加し、追加培養を施した増菌液をポリミキシンBで処理後、遠心上清を用いて、VTEC-RPLAでStx2産生力価を測定した。

【結果】

0157 111株はClade2、3、4/5、7、8、12に分類され、Clade2と12が優勢に分布していた。過去の国内調査（Clade3と2が優勢）と異なる傾向を示した。IS629の系統樹解析によって、0157は7種類のクラスターに分類された。クラスターとCladeの関連を確認したところ、Clade2はクラスター1と2、Clade3はクラスター1、Clade7はクラスター3と4、Clade8はクラスター3、Clade12はクラスター5に属していた。stx2の解析を行ったところ、stx2陽性株（n=109）の内、23株（Clade7又は12）でstx2c単独保有が確認され、それ以外はstx2a又はstx2a+stx2c株であった。また、フェージサブタイピングの結果、Clade2は ϕ Stx2a $_{\alpha}$ 、Clade3と8は ϕ Stx2a $_{\gamma}$ が主であった。Stx2産生力価の比較をクラスター及びClade間で行ったところ、クラスター2に属するClade2はStx2の力価が最も高く（ $p < 0.01$ ）、高病原性と言われるClade8より高い力価を示した。

【考察】

過去の国内調査ではClade分布に地域差が確認されなかったが、本調査では地域差が存在することが示唆された。Clade2はIS629の分布状況から2つの亜群に分かれ、Stx2の力価が最も高いクラスター2は高病原性であると推察された。今後の発生動向に注意を払うとともに、本県以外での発生状況等の解析が必要である。

島根県内で地域的に流行する CTX-M-27 産生大腸菌 O_g6:ST73 の解析

福岡藍子、小谷麻祐子、酒井智健、村上佳子、川瀬 遵

第 31 回日本臨床微生物学会総会・学術集会 (令和 2 年 1 月 31 日～2 月 2 日 : 金沢市)

【背景】

ESBL 産生菌は、近年国内外で急速な増加が問題となっている薬剤耐性菌の一つである。島根県内の一部地域においても、ESBL 産生菌を起因菌とする小児尿路感染症患者数が近年増加している。そこで本研究では、その島根県内の一部地域で分離された ESBL 産生菌の解析を行った。

【方法】

2017 年 8 月～12 月に県内の 2 つの主な医療機関で分離された ESBL 産生菌を 100 株ずつ採取し、PCR 法とシーケンス解析から ESBL 遺伝子型を同定した。また菌種を確認し、大腸菌については PCR 法による O_g-typing と Multiplex PCR 法による 4 つの主要な ST (69、73、95、131) の同定を行った。そして PFGE 解析による系統樹解析と、ディスク法による薬剤感受性試験、PCR 法による尿路病原因子の検出も行った。

【結果】

両医療機関で分離された ESBL 産生菌の約 60% (64 株、55 株) は、CTX-M-27 産生大腸菌で、すべて O_g 6 抗原を保有する ST73 に分類される類似性の高い菌株であった。この CTX-M-27 産生大腸菌 O_g6:ST73 (119 株) は、すべて CPF_X(シプロフロキサシン)に感性を示し、96%以上の株が *fimH*、*USP*、*kpsMT*、*aer (iucD)*、*papE/ F*、*hlyA* の尿路病原因子を保有していた。一方、両医療機関から分離された ESBL 産生菌の約 25% (24 株、26 株) が、CTX-M-27、14、134、15、55 のいずれかを産生する大腸菌 O_g25:ST131 であった。その 98%以上の株が CPF_X に耐性を示し、96%以上の株が *fimH*、*USP*、*kpsMT*、*aer (iucD)* の尿路病原因子を保有していた。

【考察】

島根県内の一部地域では CTX-M-27 産生大腸菌 O_g6:ST73 が ESBL 産生菌の主流で、他の地域と異なる ESBL 産生菌が流行していた。