

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、感染症発生動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 15 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、5 株が非北京型、9 株が北京型(祖先型)、1 株が北京型(新興型)に分類された。非北京型の 1 株は過去の菌株と VNTR プロファイルパターンが一致した。

(2) 細菌性感染症の検査(感染症対策室)

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感染症の便検査を実施した。令和 3 年度の腸管出血性大腸菌感染症の便検査は 186 件であった。

また、島根県で発生した腸管出血性大腸菌感染症の分離株 13 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 7 件実施した。分離された株は、O157:H7 (VT1, 2) 3 株、O157:H- (VT1, 2) 1 株、O157:H7 (VT2) 3 株、O103:H2 (VT1) 4 株、O115:H10 (VT1) 2 株、O116:H9 (VT1) 1 株であった。

(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 3 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 9 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。

(4) 食品の収去検査及び行政検査(薬事衛生課)

令和 3 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 60 件(魚介類 6 件、魚介類加工品 5 件、肉卵類加工品 2 件、野菜及び果物加工品 7 件、菓子類 9 件、牛乳 2 件、そうざい 29 件)、及び行政検査の依頼のあった食品製造用器具 1 件の細菌検査を実施した。

(5) 感染症発生動向調査事業(感染症対策室)

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検査を行った。

(6) カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)の検査

県内で届出のあった CRE 感染症の分離株 30 株及び医療機関から依頼のあった 1 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、1 株がカルバペネマーゼ遺伝子 *bla_{IM24}* を保有するカルバペマーゼ産生菌(CRE)であることが判明した。これまで島根県ではヒトからの CPE の分離報告はなく、本事例は県内初の分離例と考えられた。

(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、食肉衛生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) 食品中における *Campylobacter* の汚染実態に関する調査

Campylobacter jejuni を定量検出するリアルタイム PCR 法と培養法を用いて、市販鶏肉 69 検体における *C. jejuni* の汚染菌量を測定した。その結果、培養法による *C. jejuni* 汚染菌量、0~589 CFU/g の範囲で確認された。リアルタイム PCR 法でも検証したところ、培養法よりも検出率が高い傾向を示し、10 CFU/g まで検出可能であった。

検体数は少ないが、リアルタイム PCR 法は、汚染傾向を迅速に把握するツールとして、活用できる可能性が示された。

表1. 令和3年度の島根県における食中毒発生状況（保健環境科学研究所が検査した事例）

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3年 7月 5日	大田市	22	飲食店	飲食店の食事	黄色ブドウ球菌
2	12月 16日	隠岐郡	5	飲食店	飲食店の食事	ノロウイルス

表2. 令和3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	検出された病原微生物
1	令和3年 4月 1日	松江	3	飲食店での下痢症事例	ノロウイルス
2	4月 5日	浜田	7	飲食店での下痢症事例	不明
3	4月 29日	県外	2	飲食店での下痢症事例	ノロウイルス
4	4月 30日	出雲	2	飲食店での下痢症事例	カンピロバクター
5	7月 27日	県央	4	飲食店での下痢症事例	プレシオモナス ・シグロイデス
6	11月 26日	浜田	3	飲食店での下痢症事例	カンピロバクター
7	12月 21日	県外	4	飲食店での下痢症事例	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 (2021 年度)

野村亮二・林宏樹・川上優太・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、2021 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 15 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 (CPFX)、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)、ノルフロキサシン (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。

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、2021 年 4 月に 3 株、5 月に 5 株、7 月に 3 株、8 月に 3 株、9 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 3 株 (20.0%)、次いで *S. Paratyphi B* が 2 株 (13.3%)、*S. Saintpaul* が 2 株 (13.3%) 及び *S. spp. (O4:i:-)* が 2 株 (13.3%) であり、型別不明株が 1 株 (6.7%) であった (表 2)。

3. 3 薬剤感受性

分離された 15 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 13 株、3 剤耐性が 2 株であった (表 3)。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 (2021 年 4 月～2022 年 3 月)

O 抗原群	血清型	2021 年										2022 年			合計		
		4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3				
O4	<i>S. Paratyphi B</i>		1		1												2
	<i>S. Schwarzengrund</i>	1															1
	<i>S. Saintpaul</i>		1		1												2
	<i>S. spp. (O4:i:-)</i>		1			1											2
	<i>S. spp. (不明)</i>	1															1
O7	<i>S. Thompson</i>		1		1		1										3
	<i>S. Oranienburg</i>					1											1
O8	<i>S. Hadar</i>	1															1
	<i>S. Newport</i>					1											1
O9	<i>S. Enteritidis</i>		1														1
	合計	3	5	0	3	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15

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 (2011年度～2021年度)

O抗原群	血清型	2011	2012	2013	2014	2015	2016	2017	2018	2019	2020	2021	合計
O4	<i>S. Paratyphi B</i>			1							3	2	6
	<i>S. Stanley</i>	1		1	2		1	2		3			10
	<i>S. Schwarzengrund</i>	4	3	3	2		6	7	3	5	1	1	35
	<i>S. Saintpaul</i>	3	2	1	5			6	4				23
	<i>S. Derby</i>		2										2
	<i>S. Agona</i>						1	4					5
	<i>S. Typhimurium</i>		3					1			1		5
	<i>S. Brandenburg</i>			1					1			1	3
	<i>S. Heidelberg</i>				1								1
	<i>S. Haifa</i>		1										1
	<i>S. spp. (O4:i:-)</i>	2		1			1	1	1			2	8
	<i>S. spp.</i>				2					1	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>	8	6	6	3		2	5	2	9	9	3	53
	<i>S. Daytona</i>		1										1
	<i>S. Irumu</i>												0
	<i>S. Potsdam</i>				1			1					2
	<i>S. Infantis</i>	6	3	3				1	1	3			17
	<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. Choleraesuis</i>										1		1
	<i>S. Oranienburg</i>											1	1
<i>S. spp.</i>										1	2		3
O8	<i>S. Narashino</i>		2										2
	<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			1			5
	<i>S. Pakistan/Litchfield</i>												0
	<i>S. Litchfield</i>								1				1
	<i>S. Goldcoast</i>				1				1				2
	<i>S. Corvallis</i>			5	1					3			9
	<i>S. Istanbul/Hadar</i>	2											2
	<i>S. Blockley</i>										1		1
	<i>S. Hadar</i>											1	1
	<i>S. Newport</i>											1	1
<i>S. spp.</i>								1				1	
O9	<i>S. Typhi</i>					1							1
	<i>S. Enteritidis</i>	1		2		1		4	1			1	10
	<i>S. Panama</i>								2				2
	<i>S. Houston</i>								1				1
	<i>S. Napoli</i>			1									1
O11	<i>S. Aberdeen</i>			1									1
	<i>S. spp.</i>		1						1				2
O13	<i>S. Havana</i>	1											1
	<i>S. spp.</i>			1						1			2
	<i>S. Hvitvingfoss/II</i>	1											1
	<i>S. Rhydyfelin</i>				1								1
O16	<i>S. Frankfurt</i>								1				1
	<i>S. Gaminara</i>										1		1
	<i>S. spp.</i>												1
O21	<i>S. Minnesota</i>									1		1	
O28	<i>S. Pomona</i>									1		1	
O35	<i>S. spp.</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
UT		1	2						1	1			5
	合計	40	38	47	23	5	32	40	27	37	20	15	324

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	1
<i>S. Hadar</i>	NA、SM、TC	1
合 計		2

島根県における結核菌の Variable Number of Tandem Repeats (VNTR) の 試験結果 (2021 年度)

林宏樹・川瀬遵・村上佳子・川上優太・野村亮二・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。2021 年度に当所で実施した 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15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、北京型祖先型株 (ST11/26、STK、ST3、ST25/19)、北京型新興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15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3組7株あり、そのうち24 領域で反復数が完全に一致したものは、No. 21-4とNo. 21-6の1組2株であった (表1)。

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、北京型祖先型株が9株 (60.0%)、非北京株が5株 (33.3%)、北京型新興型株が1株 (6.7%) であった。また北京型祖先型株の内訳は、図1のとおりでありST25/19及びSTK、ST3、ST11/26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. 21-4とNo. 21-6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、関連性を示すには至らなかった。

系統解析では非北京型の割合が33.3%、北京型の割合が66.7%であり、全国での報告²⁾とほぼ同様の傾向であった。当県における新興型北京株の割合は2018~2020年度と比べて増加はしていないが (表2)、新興型北京株は北京型結核菌の中でも若年層に多く、感染伝播性及び病原性が高いことから、継続的に監視していく必要がある。また、40~59歳及び60歳~79歳における非北京型が占める割合は2018~2020年度の合計では他の年代に比べて高く、2021年度も同様の傾向が確認された。こ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。

2021年の島根県の結核罹患率は対10万人で8.1と全国の9.2と同程度であり³⁾、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。

5. 参考文献

- 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) 2008 673-678
- 2) Seto J et al., Phylogenetic assignment of *Mycobacterium tuberculosis* Beijing clinical isolates in Japan by maximum a posteriori estimation. *Infect Genet Evol.* 2015 82-88.
- 3) 公益財団法人結核予防会結核研究所疫学情報センター

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
21-4	2	2	2	4	3	2	5	4	3	7	8	3
21-6	2	2	2	4	3	2	5	4	3	7	8	3
菌株	QUB18	QUB11a	ETR-A	QUB3232	V3820	V4120	Mtub39	MIRU40	MIRU04	Mtub30	MIRU16	ETR-C
21-4	5	UT(>15)	3	13	5	3	3	3	2	2	3	4
21-6	5	UT(>15)	3	13	5	3	3	3	2	2	3	4

図1 2021年度分離株系統分類解析結果

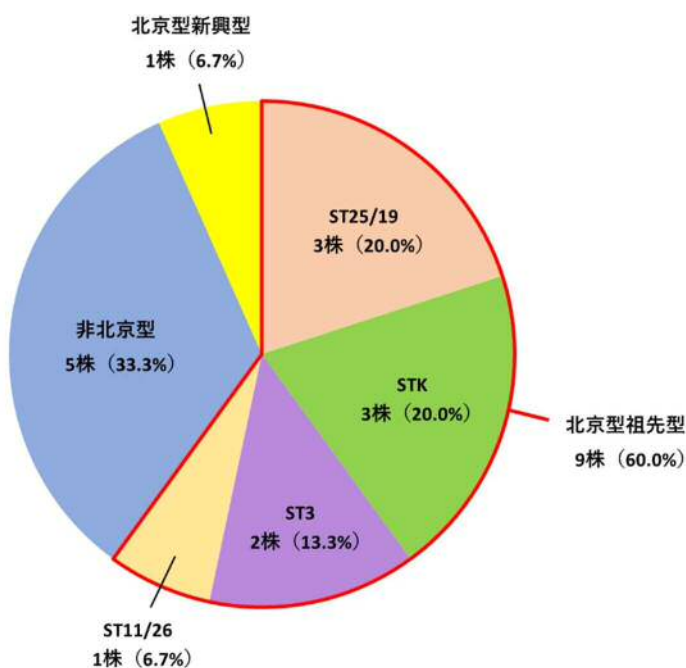


表2 2021年度と2018-2020年度における患者年齢別推定遺伝系統

2021年度								2018-2020年度								
年齢	非北京型	北京型					合計	年齢	非北京型	北京型					分類不能	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	0	0	1	0	1	0	1	1	2	1	0	6		
40-59	1	0	0	0	0	0	10	1	1	1	1	1	0	15		
60-79	2	0	0	0	0	0	12	0	3	9	8	4	1	37		
≧80	2	1	3	2	2	1	12	4	9	10	7	6	0	48		
計	5	1	3	2	3	1	35	5	14	21	18	12	1	106		

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 (2021 年度)

川上 優太・川瀬 遵・林 宏樹・野村 亮二・村上 佳子・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。

2021 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

2021 年度の発生動向調査の届出数は 32 件で、昨年度 34 件より減少した。32 症例の平均年齢は 75.9 歳、男女比は男性 21 名 (65.6%) 女性 11 名 (34.4%) で、男性の罹患率が高く、昨年度と同様の傾向が見られた。

保健所別届出数は、出雲保健所が最も多く 18 件で、次いで松江保健所が 11 件、益田保健所が 2 件、県央保健所が 1 件であり、雲南・浜田・隠岐保健所については届出がなかった (図 1)。

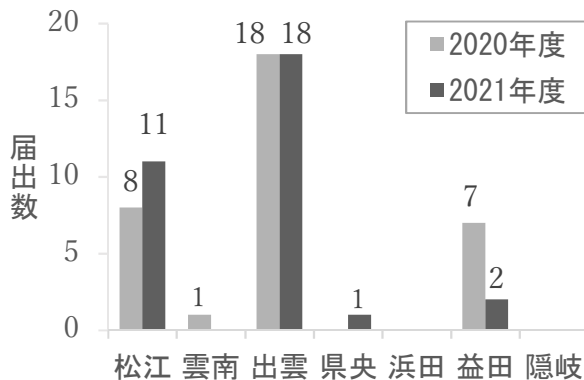


図 1 保健所別届出数

CRE 菌株が分離された検体は、尿 (n=9, 28.1%), 血液 (n=8, 25.0%), 喀痰 (n=4, 12.5%), 腹水 (n=3, 9.4%), 胆汁 (n=3, 9.4%) の順に多く、昨年度と同様の傾向が見られた (図 2)。

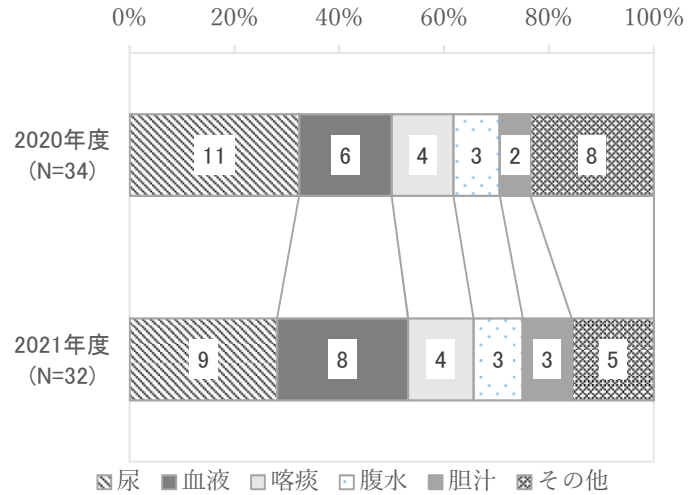


図 2 検体内訳

菌種は、*Klebsiella aerogenes* (2017 年に *Enterobacter aerogenes* の学名が変更された)(n=16, 50.0%) が最も多く、次いで *Enterobacter cloacae complex*^{*1}(n=11, 34.4%)

(*1: *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 *Klebsiella oxytoca* が 2 件、*Citrobacter brakii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* がそれぞれ 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。

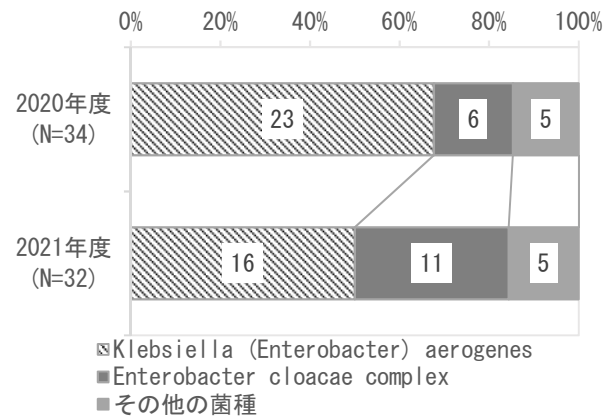


図 3 菌種内訳

3. 方法

発生動向調査で届出のあった 32 件(株)の菌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ディスク拡散法による β -ラクタマーゼ産生性の確認を行った。

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、 β -ラクタマーゼ産生性の確認については、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、セフメタゾール (CMZ)・メロペネム (MPM) を用いて実施した。また、推奨された検査である mCIM 法, Carba NP 法により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

当所で試験を実施した 32 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。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でボロン酸を用いた検査で陽性となった株は 29 株、残りの 3 株は陰性であった。また、カルバペネマーゼ産生性の確認試験で、Carba NP 法のみ

が陽性となった株は 1 株、Carba NP 法と mCIM 法が陽性となった株は 1 株、残りの 30 株は陰性であった。

カルバペネマーゼ産生性の確認試験で陽性となった 2 株は、PCR 法でカルバペネマーゼ遺伝子を検出できなかったため、全ゲノム解析を行った。Carba NP 法のみが陽性となった株は、全ゲノム解析の結果、カルバペネマーゼ遺伝子は検出されなかった。Carba NP 法と mCIM 法が陽性となった株については、ResFinder で、*bla*_{ACT4}の他に、*bla*_{IME8}に 98.63%の% identity を示す CDS を確認した。この CDS のアミノ酸配列を解析したところ、Class A β ラクタマーゼのアミノ酸モチーフを保有する他に、カルバペネマーゼに特徴的なアミノ酸残基が確認された。この CDS は IMI 型カルバペネマーゼ遺伝子の新規バリエーションと考えられたため、*bla*_{IME24}として Gen Bank に登録した (Accession No.OM525830)。

CRE 届出数は年々増加傾向にあり、今年度は県内で初となるカルバペネマーゼを産生する菌株が検出された。今後も国内型や海外型のカルバペネマーゼ産生菌の伝播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 (株)	陽性数 (株)	陽性率 (%)	
原則実施	IMP 型	32	0	0	
	遺伝子検査 (PCR 法)	NDM 型	32	0	0
		KPC 型	32	0	0
		OXA-48 型	32	0	0
表現型検査 (ディスク拡散 法)	メタロ- β -ラクタマーゼ試験	32	0	0	
	ボロン酸試験	32	29	90.6	
推奨	表現型検査 (カルバペネマ ーゼ産生性)	mCIM 法	32	1* 2	3.1
	Carba NP 法	32	2* 2	3.1	

*2 : Carba NP 法のみ陽性の検体が 1 検体, Carba NP 法と mCIM 法が陽性となった検体は 1 検体であった。