

【学会発表(所員が First Author)】

○矢儀田 優佳, 氏家 絢子, 浅野 由紀子,
青木 紀子, 阪東 成純, 四宮 博人

食品由来細菌の薬剤耐性モニタリング

愛媛県立衛生環境研究所

○四宮 博人

薬剤耐性菌を制御するためには、環境—動物—食品—ヒトを包括するワンヘルス・アプローチが重要である。我々は、地方衛生研究所ネットワークの協力により、ヒト(有症者)及び食品(国産鶏肉が主)由来サルモネラについて薬剤耐性状況を調査した。2015年～2020年に分離されたヒト由来 1,947 株中の 774 株 (39.8%), 及び食品由来 715 株中の 651 株 (91.0%) が、調査対象抗菌剤 17 剤中の 1 剤以上に耐性を示した。年次毎の耐性率はほぼ同様であり、現在の日本の状況を反映していると考えられた。サルモネラ株の血清型別の詳細な解析を行ったところ、食品由来株では血清型別の耐性傾向に共通する部分が多いが、それぞれに特徴的な点も認められた一方、ヒト由来株においては血清型別に特徴的な耐性傾向が認められた。また、ヒト由来株のうち食品からも分離された血清型、*S. Infantis*, *S. Schwarzengrund*, *S. Manhattan* ではヒト由来株と食品由来株の耐性傾向に強い類似性があり、食品由来耐性菌とヒト由来耐性菌との関連が強く示唆された。薬剤感受性検査に加えて、基質特異性拡張型 β-ラクタマーゼ (ESBL) 産生遺伝子、AmpC 型 β-ラクタマーゼ (AmpC) 遺伝子、コリスチン耐性遺伝子 (*mcr1-10*) の検出、及び薬剤耐性プラスミドの全塩基配列の決定と解析を行った。食品由来菌の薬剤耐性状況に関して、統一された方法による組織だった全国規模の調査は、本邦では初めてと思われる。これらのデータは、我が国の「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書」及び WHO の GLASS に提供されている。また、JANIS や JVARM など既存の薬剤耐性データベースと統合し一元化することも可能となり、ワンヘルス・アプローチに基づく感染制御に繋がることが期待される。

第 91 回日本感染症学会西日本地方会学術集会
(2021.11.5-7. 岐阜県、ハイブリッド開催)

Multiplex real-time PCR 法を用いた下痢原性大腸菌の迅速同定検査法の開発

愛媛県立衛生環境研究所

ヒトに胃腸炎症状を呈する下痢原性大腸菌は、その作用機序により腸管毒素原性大腸菌 (EPEC), 腸管侵入性大腸菌 (EIEC), 腸管出血性大腸 (EHEC), 腸管病原性大腸菌 (EPEC), 腸管凝集付着性大腸菌 (EAaggEC), その他 (DAEC, EAST1EC 等) に分類される。当該菌による健康危機事例は多数報告されており、公衆衛生上、重要な病原体である。

従来、下痢原性大腸菌検査は O 群血清型別試験により実施されていたが、必ずしも病原性を示すものではないため、2012 年に衛生微生物技術協議会等により、病原因子の検出に基づく分類に改定された。当所では従来から PCR 法を用いた病原因子検索を実施しているが、食中毒等の検査を行う県保健所では未実施であり、最終同定には至っていない。そこで、国立感染症研究所が Multiplex PCR 用に開発したプライマーセットを元に、県保健所に配備済みの real-time PCR 装置を用いて、10 病原遺伝子 (*stx1*, *stx2*, *stx2f*, *estA1*, *estA2*, *elt*, *invE*, *eae*, *aggR*, *afaD*) を 3 反応液で一斉検出可能な Multiplex real-time PCR 法を確立した。

保存菌株 120 株中 18 株 (EHEC 6 株, EPEC 3 株, EAaggEC 4 株, DAEC 5 株) から病原因子を検出し、従来検出不可能であった DAEC が 4.2% と高率に検出された。DAEC については、今後、感染症発生動向調査事業を活用して県内の保有状況及び病態について検証していく予定である。当該法は、従来検出不可能であった DAEC 及び *stx2f* 保有 EHEC の検出が可能であり、検体搬入の翌日には下痢原性大腸菌の推定が可能で有用性の高い方法である。県保健所に対し技術指導、試薬整備等を行い、健康危機発生時に活用することで公衆衛生に寄与しうると考えられる。

令和 3 年度愛媛県臨床検査学会
(2021.6. 愛媛県 オンライン開催)

キャピラリー・シーケンサーを用いた VNTR24 領域解析法の検討

愛媛県立衛生環境研究所

○氏家 絢子, 矢儀田 優佳, 浅野 由紀子,
青木 紀子, 阪東 成純, 四宮 博人

結核は *Mycobacterium tuberculosis* による呼吸器感染症で、本県の 2020 年の結核登録患者数は 122 人、人口 10 万人あたりの罹患率は 9.1 である。本県では、県内の感染源・感染経路の解明のため、平成 25 年度から「愛媛県結核菌の分子疫学調査事業」を実施しており、県内の結核患者からの分離菌株について、variable nucleotide tandem repeat (VNTR) 解析を行っている。VNTR 解析は、ゲノム内にある数 10bp を単位とした反復配列のリピート数を算出し、菌株間で比較して相同性を調べる手法である。今回、当所で従来実施していた 18 領域を対象とした PCR 及びアガロースゲル電気泳動による解析を、6 領域追加した 24 領域を対象とした PCR 及びキャピラリー・シーケンサーによる解析法に改良した。その結果、キャピラリー・シーケンサーによる解析で得られた既知株 DNA の PCR 産物の分子量は、既知のリピート数から計算される分子量と差が生じた。各領域の解析結果と計算上の分子量の相関式を作成し、その式を基にリピート数の換算を補正した。収集株 DNA について補正した設定を用いて解析したところ、キャピラリー・シーケンサーによる解析結果とアガロースゲル電気泳動による解析結果は一致した。キャピラリー・シーケンサーを用いた 24 領域の解析の活用により、解析結果の正確性の向上、解析時間の短縮が期待できる。

第 67 回四国公衆衛生学会
(2022.2 高知県 オンライン開催)

コロナウイルス行政検査で SARS-CoV-2 陽性が確定した検体のうち、ウイルス量や事例等を考慮して選定した 271 株を multiplex PCR 法によりウイルスゲノム全長を増幅し、次世代シーケンサー (illumina 社製 Miseq) を用いてゲノム配列を決定した。その後、デルタ株と確定した 254 株について、ゲノム情報から得られた塩基変異と疫学情報を基に、ウイルス株間の関係を示すハプロタイプネットワーク図を作成した。

【結果及び考察】当所でゲノム配列を決定した 203 事例 254 検体の解析結果から県内に流行したデルタ株は 7 つの系統に大別できた。全国流行起点と同一株が今治保健所管内においても確認されたことから、愛媛県への流入起点は今治保健所管内であった可能性が示唆された。また、8 月に発生した西条保健所と松山市保健所管内で発生した各々の学校クラスターは別事例として扱われていたが、同時期に上記のクラスターとは別の学校関係者から同一株が確認されたことから、学校関係者のコミュニティによる感染が強く示唆された。加えて、繁華街で発生したクラスター以外からは顕著な感染拡大が見られなかったことから、保健所による囲い込み等の感染拡大防止対策は効果的であったと考えられた。全ゲノム解析データを用いることにより、疫学調査に有用な情報提供が可能となるため、迅速なゲノム解析の実施と保健所等の現場と情報の共有により、解析結果を還元できる体制の整備が必要である。

NGS 情報交換会
(2021.11. 神戸市 オンライン開催)

愛媛県内におけるデルタ株流行について

愛媛県立衛生環境研究所

○岩城 洋己, 豊嶋 千俊, 中西 千尋,
山下 育孝, 青木 紀子, 阪東 成純,
四宮 博人

【目的】 Severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV-2) は、新規変異株の出現とそれによる感染者の増加を繰り返し、2021 年 7 月から 10 月にかけて県内でもデルタ株が主に流行した。そこで、愛媛県内におけるデルタ株の流行動向に対する知見を得るために、全ゲノム情報を用いて作成したハプロタイプネットワーク図(時間経過・地域分布等)と疫学情報の統合解析を行った。

【材料と方法】 2021 年 7 月 12 日～10 月 13 日に、新型コ

愛媛県内の水道水等に含有される有機フッ素化合物の実態調査

愛媛県立衛生環境研究所

○大内 かずさ, 菰田 健太郎, 入野 智美,
大塚 有加, 阪東 成純, 四宮 博人

有機フッ素化合物は、泡状消火剤、フッ素コーティング剤等様々な用途で使用されている。中でもペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS) 及びペルフルオロオクタノ酸 (PFOA) は環境中への残留性が高いため国内外で規制が進み、水道法では令和 2 年 4 月 1 日に水質管理目標設定項目(暫定目標値 PFOS 及び PFOA 合算として 50 ng/L 以下)に設定された。そこで、愛媛県内における