

微生物係

調査研究名	研究の概要
<p>食中毒事例及び感染症事例のパルスフィールド電気泳動パターン (PFGE) の解析について</p> <p>研究担当者：廣地 敬</p> <p>研究期間：平成 21 年度</p>	<p>【目的】</p> <p>細菌学的疫学指標の一つとしてパルスフィールド電気泳動パターン (PFGE) の解析は、食中毒事例及び感染症事例において疫学調査の結果と菌株間の関連性を考える上で、必要な検査となっている。</p> <p>当所で取扱った菌株の PFGE を調べ蓄積し、疫学情報に役立てるため継続実施する。</p> <p>【方法】</p> <p>PFGE 法は国立感染症研究所ニュープロトコールに基づき実施し、泳動パターンを Fingerprinting で解析し類似度を比較した。</p> <p>EHEC 0157 については、IS Printing System (Version2) (TOY0B0) も併せて取扱い説明書に従って実施した。</p> <p>【結果及び考察】</p> <p>EHEC 0157 は、26 株集まり PFGE と IS Printing System で解析した。複数の株が分離されたのは 3 事例であった。</p> <p>事例 1 は 3 月末から 4 月初旬にかけて生肉・レバ刺し等を喫食して発生した 5 株と同時期に発生した 2 株の PFGE で 94.4% を示し同一由来の食中毒が疑われたが疫学調査や後日実施の IS Printing System set 2 で 2 ヶ所の違いがあり異なる由来と判断した。</p> <p>事例 2 は 7 月初旬から中旬にかけて保育園で発生した 4 株で PFGE が同一のパターンを示した。後日実施した IS Printing System も同一の結果であった。</p> <p>事例 3 は 8 月後半に大通り公園で行われたイベント「牛とのふれあい」で患者の発生届がなされたもので、原因は疫学情報を入手出来なかったため牛と接触していたことによる感染か、体験作成食品を喫食していたことによる食中毒かの判断はできなかった。PFGE は、5 株中 1 株が類似度 97.2% であったが IS Printing System は同一のパターンであった。</p> <p>この結果、事例 1 等の判断に迷うケースでは PFGE と IS Printing System の併用が望ましいと思われた。</p>
<p>結核菌の遺伝子型別について</p> <p>研究担当者： 川合常明、廣地 敬</p> <p>研究期間：平成 11 年度から平成 21 年度</p>	<p>【目的】</p> <p>本調査研究は平成 11 年 3 月から保健所と共同で「結核菌遺伝子分析研究事業」として実施しており、結核菌の遺伝子型分析を行うことにより、集団発生時における同一感染源の特定及び結核菌株の蔓延状況を把握するなど、結核予防対策に役立てる。</p> <p>結核菌の遺伝子型別検査法は RFLP 法により行ってきたが、平成 20 年度から従来法よりも迅速検査が可能な PCR を用いた VNTR 法を行っている。</p> <p>【対象】</p> <p>平成 11～20 年の集団感染事例の 19 事例 48 株及び平成 17～21 年の結核菌陽性の菌株 146 株、計 194 株を用いた。</p> <p>【方法】</p> <p>JATA(12) - VNTR 法により分析を行った。なお、集団感染事例において遺伝子型が 1-2 箇所異なる場合、MIRU 及び ETR 領域について追加分析を行った。</p> <p>【結果及び考察】</p> <p>VNTR 分析結果</p> <p>(1) 集団感染事例：遺伝子型が一致したのは、15 事例 (34 株) あり、それぞれ同一由来株と判断した。また、遺伝子型が 1 箇所異なる 3 事例 (10 株) について追加分析を行った結果、2 事例 (5 株) はそれぞれ遺伝子型が一致した。しかし、1 事例 (5 株) の 1 株が 1 箇所異なっていたが、JATA(12) - VNTR 法が一致したため、同一由来株と判断した。</p> <p>一方、遺伝子型が 3 箇所以上異なる 2 事例の 2 株については別株と判断したが、その他の株は一致したため、それぞれ同一由来株と判断した。</p>

	<p>(2) クラスター分析結果：クラスター数は 23 種 75 株であったが、そのうち 19 種が集団感染事例であった。また、遺伝子型が一致したのは 3 事例 (9 株) 及び 2 事例 (6 株) であった。</p> <p>【まとめ】</p> <p>JATA(12) - VNTR 法及び追加分析の結果、ほとんどの集団感染事例において同一感染源であることが判断できた。</p> <p>クラスター分析の結果、集団感染事例において散発的に同一の遺伝子型株が検出され、今後も検出されることが推定された。</p> <p>今後、データの蓄積等により結核菌の伝播状況及び蔓延状況等をより正確に把握することができると考えられる。</p>
<p>PCR法による食肉の食中毒菌関連遺伝子の検出について</p> <p>研究担当者：坂本裕美子</p> <p>研究期間：平成 21 年度</p>	<p>【目的】</p> <p>食肉の食中毒菌検査時に、従来の培養法と併せて遺伝子学的検査法として PCR 法を用いることの有用性について検討する。</p> <p>【方法】</p> <p>平成 21 年度に採取した市販肉 (牛 4 検体、豚 7 検体、鶏 8 検体、羊 2 検体) 21 検体をサンプルとし、腸管出血性大腸菌 O157、サルモネラ属菌、カンピロバクター属菌、アルコバクター属菌による汚染状況について増菌培養法に基づく検査を実施すると同時に、その増菌培養液をテンプレートとして PCR を実施した。</p> <p>PCR 法の結果と培養法の結果を比較検討する。</p> <p>【結果及び考察】</p> <p>腸管出血性大腸菌 O157 : 21 検体すべてにおいて PCR 法、培養法ともに陰性であった。</p> <p>サルモネラ属菌 : 鶏 2 検体が PCR 法、培養法ともに陽性となり、別の鶏 1 検体が PCR 法のみで陽性となった。培養法で検出された 2 検体の同定結果は 2 検体ともに <i>Salmonella</i> Typhimurium であった。</p> <p>カンピロバクター属菌 : 21 検体すべて PCR 法、培養法ともに陰性であった。</p> <p>アルコバクター属菌 : 鶏 1 検体、豚 1 検体が PCR 法、培養法ともに陽性となった。また、鶏 1 検体が PCR 法のみで陽性となった。</p> <p>以上の結果より、鶏のサルモネラ汚染は食中毒事例では原因と <i>Salmonella</i> Infantis の報告が多いが、<i>Salmonella</i> Typhimurium によっても起こる可能性を再確認した。また、市販鶏肉がアルコバクター属菌に汚染されている実態が確認され、食中毒検査依頼時にはアルコバクター属菌も視野に入れた検査の必要性が感じられた。</p> <p>培養法陰性で PCR 法のみ陽性となった検体がサルモネラ属菌、アルコバクター属菌それぞれ 1 検体あった事実は、これら細菌が食肉中で培養できない状態あるいは損傷菌の状態で存在している可能性を示唆するものであり、食肉汚染の実態を把握するうえで重要である。また、PCR 法の迅速性は培養法の検査結果予測に資するという意味においても有用であると考えられる。</p> <p>【今後の方針】</p> <p>食中毒菌について保存条件、培養条件などの違いによる検出状況について調査し、より迅速・確実な検査法について検討したいと考えている。</p>
<p>札幌市におけるオセルタミビル耐性インフルエンザウイルスのサーベイランス</p> <p>研究担当者： 菊地正幸、村椿絵美</p> <p>研究期間：平成 21 年度</p>	<p>【目的】</p> <p>2009 年 4 月、メキシコ・北米を中心に、これまでの A/H1N1 と抗原性の異なるブタ由来の A/H1N1 新型インフルエンザウイルス (A/H1N1pdm) が発生し、その後、日本を含む世界中に広がった。6 月には、日本・香港・デンマークでオセルタミビル耐性 A/H1N1pdm 株の検出が報告された。日本は世界有数のオセルタミビル使用国であるため、耐性株発生状況を把握することが公衆衛生上重要である。そこで、札幌市におけるオセルタミビル耐性 A/H1N1pdm のサーベイランスを行い、感染症対策のための科学的データを得ることを目的とする。</p>

	<p>【方法】 2009年6月から2010年2月までに、疑い症例、クラスターサーベイランスおよび入院サーベイランス(以下、入院等サーベイランス)において搬入された鼻腔ぬぐい液10検体および鼻腔ぬぐい液からのA/H1N1pdm分離株137株についての遺伝子解析を行った。また、2009年8月から2010年2月までに感染症発生動向調査病原体検査定点から搬入された咽頭ぬぐい液からのA/H1N1pdm分離株366株についても遺伝子解析を行った。遺伝子解析は、「新型インフルエンザ薬耐性株サーベイランス A/H1N1pdm - NA 遺伝子解析実験プロトコル」(国立感染症研究所)に基づき実施し、ノイラミニダーゼの275番目のアミノ酸のヒスチジンからチロシンへの変異の有無により耐性株を同定した。</p> <p>【結果及び考察】 入院等サーベイランスにおいて検出されたA/H1N1pdm耐性株は1株であった。この事例は予防内服をしていた。通常の感染症発生動向調査において分離された366株からは、A/H1N1pdm耐性株を2株検出した。1株はオセルタミビルを服用した事例であり、もう1株はオセルタミビルを服用しておらず、ヒト-ヒト感染が疑われる事例であった。札幌市におけるオセルタミビル耐性A/H1N1pdmの出現頻度は0.58%(3/513)であった。全国的には、出現頻度は1.53%(44/2897)であり(1月29日現在)、多くの耐性A/H1N1pdmは薬剤の選択圧により発生していると考えられている。以上より、耐性A/H1N1pdmは、昨シーズンに流行した季節性A/H1N1耐性株とは異なり、ヒト-ヒト間で効率よく伝播する性質を獲得していないと考えられる。</p>
<p>生物テロに使用される可能性の高い細菌・ウイルス等による感染症の蔓延防止、予防、診断、治療に関する研究</p> <p>研究担当者： 菊地正幸、村椿絵美</p> <p>研究期間：平成20年度から22年度</p>	<p>【目的】 厚生労働科学研究「新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業」(佐多班)の中で生物テロ対策として迅速に病原体を特定するためのスクリーニングキットを開発すると共にその評価を行い、感染症の蔓延防止、予防、診断、治療に関する研究を行う。</p> <p>【方法】 共同研究者の開発したスクリーニングキットを全国10地衛研で使用し、その評価を行う。</p> <p>【結果及び考察】 札幌市は、地衛研地域ブロックで使用するリアルタイムPCRの設置状況調査の実施と、2種類のウイルススクリーニングキット(オルソボックスウイルス、網羅的検出キット)の使用経験を報告し、代表である堺衛研でまとめた。 使用機器でのマニュアルの調整やキット使用時のコンタミネーションの解消などの問題点が確認されたが、簡易キットとして有効であった。</p>
<p>新型インフルエンザ(インフルエンザ A/H1N1sw1)発生への検査、調査についての準備及び初期対応と、病原体検査や感染者に関する今後の国と地方との連携強化及び対応能力強化に関する緊急研究</p> <p>研究担当者： 伊藤はるみ、水嶋好清</p> <p>研究期間：平成21年度</p>	<p>【目的】 厚生労働科学研究「新型インフルエンザ(インフルエンザ A/H1N1sw1)発生への検査、調査についての準備及び初期対応と、病原体検査や感染者に関する今後の国と地方との連携強化及び対応能力強化に関する緊急研究」(宮村班)の分担研究で「地方衛生研究所における検査能力の検証と今後の在り方検討」について検討を行う。</p> <p>【方法】 新型インフルエンザについて札幌市の実施状況と今後に向けての検証を実施した。</p> <p>【結果及び考察】 札幌市における初期対応の検証では、検査法の検証、人的対応、機器整備、連絡体制など、混乱もなく実施できたこと、タミフル耐性解析について精力的に行い、2株の耐性株を解析、2009/10シーズンにA香港亜型2株を検出したこと、血清HI抗体価の測定による知見を得たことなど、今後の新たな変異や新興感染に対応する検証が得られた。</p>

