

10 紹 介
(雜誌等)

腸管出血性大腸菌複数回分離患者株の MLVA におけるリピート数の変化

佐藤孝志 牟田萌枝子*1 塚本展子*2 倉園貴至
福島浩一 岸本剛 本多麻夫

腸管出血性大腸菌の分子疫学的解析手法である Multiple-locus variable-number tandem repeat analysis (MLVA) は、集団感染事例の範囲の特定や diffuse outbreak の探知に効果を発揮する。今回、無症状病原体保有者を含む患者便由来の臨床分離株を用いた同一患者生体内での MLVA のリピート配列の変化に焦点を当てて調査を行った。同一患者の初回分離株と 2 回目以降の分離株の MLVA パターンの変化を見るために、2015～2018 年にかけて同一患者から複数回にわたり分離された 202 株 (61 名分) について MLVA による解析を実施した。その結果、0157 株では 31 名中 7 名 (22.6%)、026 株では 30 名中 8 名 (26.7%) に初回分離株の MLVA パターンからの変化がみられた。また、分離回数 5 回以上の 0157 患者 3 名及び 026 患者 2 名の便由来株を対象に各分離株につき 12 コロニーを釣菌し、MLVA による解析を実施した。その結果、初回分離から 5～8 日経過した 2 回目の分離株で最初のパターン変化がみられた。このパターン変化のみみられた 3 名の 0157 株の初回分離株を用いて人工継代培養を行ったところ、パターン変化がみられたのはいずれも継代 40 代以降であった。MLVA パターン変化と薬剤服用歴の間の明確な関連性は、今回は確認できなかった。

日本臨床微生物学会雑誌：33(1)，12-17(2023)

*1 現 春日部保健所 *2 現 狭山保健所

A Study from the first QFT-Plus test's TB value of examinees with 29 positives for the retest, and a comparative study of the retest rate of QuantiFERON®TB Gold Plus and QuantiFERON®TB Gold.

Asuna Ishii, Kyoko Tomioka and Hirokazu Fukushima

[Introduction] Due to the decision criteria changes to adopt the QuantiFERON®TB Gold Plus (QFT-Plus) for diagnostic tests, clinicians may lose the opportunity to retest, thereby overlooking some positive results. Therefore, this study compared the QFT-Plus and QuantiFERON®TB Gold (QFT-3G) test results from tuberculosis (TB) screening based on the laws and ordinances at health centers in Saitama. Then, we

discussed the risk of overlooking examinees who were susceptible to TB infection and pathogenesis based on the reagent change from QFT-3G to QFT-Plus. [Materials and Methods] We examined 7,018 examinees who agreed to undergo TB screening from April 2019 to September 2021. Subsequently, we investigated (1) the results of the first QFT-Plus test's measured value of examinees who tested negative or positive based on the second QFT-Plus test's result. Then, (2) the retest and positivity rates of examinees within the QFT-Plus test and QFT-3G test result's conventional indeterminate decision criteria. [Results] We observed that the first test's measured value of 29 positives on the retest was within the conventional indeterminate decision criteria. However, the retest rate for the QFT-3G test was 48.9% higher than 14.0% for the QFT-Plus test. [Discussion] Based on our results, the 549 negatives whose TB values were within the conventional indeterminate decision criteria on the first QFT-Plus test would test indeterminate before they were introduced to QFT-Plus, leading to the opportunity for early detection of examinees susceptible to TB infection and pathogenesis. Furthermore, after we measured the conventional indeterminate value for the QFT-Plus test, we discovered that it is essential to make comprehensive decisions rather than focusing on only the results. [Conclusion] Therefore, we propose that the findings of this study be used in public health centers for future TB screening based on laws and ordinances.

Kekkaku:97(5), 263-268 (2022)

Development of a new quantification method of *Sarcocystis cruzi* through detection of the acetyl-CoA synthetase gene

Rie Doi, Mami Oba*1, Tetsuya Furuya*2, Tetsuya Mizutani*1,3, Hitoshi Takemae*1

Genetic information on *S. cruzi* is scarce, and there is no specific quantitative method for the detection and quantification of the parasite in infected cattle. In this study, we aimed to develop a method based on high-throughput sequencing of *S. cruzi* genome and transcriptome that specifically and quantitatively detects the *S. cruzi* acetyl-CoA synthetase gene (ScACS). Cardiac muscles were collected to obtain sarcocysts from which DNA and RNA were extracted for

the high-throughput sequencing. Using the sequences, we developed a specific quantitative PCR assay which could distinguish *S. cruzi* ACS from that of *Toxoplasma gondii* by taking advantage of the differences in their exon/intron organizations and validated the assay with the microscopic counting of the *S. cruzi* bradyzoites. Thus, this assay will be useful for future studies of *S. cruzi* pathogenesis in cattle and for the surveillance of infected animals, thereby easing public health concerns.

The Journal of Veterinary Medical Science: 85(1), 105-110 (2023)

*1 Center for Infectious Disease Epidemiology and Prevention Research, Tokyo University of Agriculture and Technology

*2 Laboratory of Veterinary Infectious Diseases, Cooperative Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Tokyo University of Agriculture and Technology

*3 United Graduate School of Veterinary Sciences, Gifu University

学校給食を原因とする下痢原性大腸菌 07:H4 (*astA* 保有) による食中毒事例について

鹿島かおり 本多麻夫

2020年6月、埼玉県八潮市で学校給食を原因とする食中毒事例が発生した。調査の結果、患者便、海藻サラダ及びその原材料の一つである赤杉のりから *astA* 保有大腸菌 07:H4 を検出した。

給食調理を行っていたのは市内の弁当製造業者で、市内全小中学校に提供されていた。学校給食衛生管理基準では、原則加熱調理を行うべきであること、前日調理を行わないことが示されている。通常、学校給食施設ではこの基準に則り調理が行われているが、本事例の原因施設であった弁当製造業者では、「提供当日に行う加熱工程や盛付け」が調理行為であり、乾物の水戻し等は提供前日に行っても差し支えない「下処理、前処理」という認識を持っていた。また、海藻類の加熱調理は行われていなかった。

本事例は、当日調理の徹底、水戻し後の温度管理及び適切な加熱が行われていれば食中毒を防止できたかもしれない。営業者への指導を行う際には、学校給食衛生管理基準が正しく理解されているか確認しつつ、適切な助言、指導等を行っていく必要がある。

公衆衛生情報 : Vol. 52 (4), 17-19 (2022)

埼玉県で発生した腸管凝集付着性大腸菌耐熱性毒素遺伝子 (*astA*) 保有大腸菌による大規模食中毒事例について

鹿島かおり 佐藤実佳*1 大阪由香 榊田 希*2 貫洞里美 大塚佳代子 土井りえ 千葉雄介*3 高瀬冴子 藤原 茜*4 島田慎一 石井里枝*5 本多麻夫 溝腰朗人*6 高野真実*6 佐々木麻里*6 李 謙一*7 伊豫田 淳*7 明田幸宏*7 大西 真*7

耐熱性毒素をコードする *astA* 遺伝子以外に特徴的な病原性遺伝子を持たない大腸菌が患者から共通して検出された食中毒事例が各地で報告されている。この耐熱性毒素の下痢発症メカニズムは明らかでないが、埼玉県においても2020年6月に喫食者6,762名、発症者2,958名にのぼる学校給食を原因とする大規模食中毒が発生した。

埼玉衛研での検査の結果、患者便19検体中14検体から *astA* 保有病原大腸菌 07:H4 を検出した。さらに検食27検体中海藻サラダ2検体からも *astA* 保有病原大腸菌 07:H4 を検出した。

海藻サラダの原材料についてさかのぼり調査を実施したところ、大分衛環研及び埼玉衛研の検査により赤杉のりから *astA* 保有病原大腸菌 07:H4 が検出された。

患者、海藻サラダ及び赤杉のりから分離した菌株について、埼玉衛研及び感染研で PFGE を行ったところ、すべて同一パターンを示した。さらに感染研で患者由来2株、海藻サラダ由来1株、及び赤杉のり由来2株の全ゲノム配列を用いた SNP 解析を行ったところ、SNP は最大で1か所であり、これら5株は同一クローンであると考えられた。

赤杉のりは輸入者が2017年に輸入、2019年にカットしたのち加工者に販売されたものと推定されている。輸入時およびカット時に実施した検査では、大腸菌群陰性となっていた。以上のことから、赤杉のりが本事例の原因であると考えられたものの、その汚染源は不明であった。

病原微生物検出情報月報 : Vol. 43 (5), 117-118 (2022)

*1 現 熊谷保健所 *2 現 食品安全課 *3 現 川口市保健所

*4 現 朝霞保健所 *5 現 明治薬科大学

*6 大分県衛生環境研究センター

*7 国立感染症研究所細菌第一部

埼玉県内の市販食肉における食中毒細菌の汚染実態調査

榊田希*1 佐藤実佳*2 貫洞里美 鹿島かおり 島田慎一 石井里枝*3

本調査では、埼玉県内に流通する国産の市販鶏肉および

市販豚肉における食中毒細菌の汚染状況を把握し、食中毒予防の一助とすることを目的に、カンピロバクター、サルモネラ、EHEC、ETEC、*Y. enterocolitica*及び*E. albertii*の検出状況等について報告した。

カンピロバクターは鶏肉35.7% (60/168) 及び豚肉7.3% (14/190) で検出された。分離されたカンピロバクター菌株の菌種は鶏肉では *C. jejuni*, 豚肉では *C. coli* が主であった。サルモネラは鶏肉58.1% (100/172) 及び豚肉19.9% (41/206) で検出された。分離されたサルモネラ菌株は鶏肉では *S. Schwarzengrund* が主要血清型であったが、豚肉では単相変異株である *S. Typhimurium* (04:i:-) が主であった。ETECは鶏肉0.6% (1/160) 及び豚肉2.4% (5/206) から検出された。*Y. enterocolitica*は豚肉9.3% (18/193) で検出され、豚タンでは21.0% (13/62) と検出率が高かった。*Y. enterocolitica*分離株の血清型はすべて03であった。EHEC及び*E. albertii*は検出されなかった。食肉由来の食中毒細菌による健康被害を防止するためには、食肉の流通段階において汚染を低減するとともに、飲食店や一般消費者への食中毒予防三原則に関する啓発が重要である。

食品衛生学雑誌：63(4), 151-157 (2022)

*1 現 食品安全課 *2 現 熊谷保健所 *3 現 明治薬科大学

Evaluation of the capacity to produce Histamine by Histamine-producing bacteria during storage at 10 °C

Yusuke Chiba^{*1}, Akane Fujiwara^{*2}, Noritaka Yoshino^{*3}, Misa Ohsaka^{*4}, Mika Sato^{*5}, Saeko Takase, Rie Doi, Kayoko Ohtsuka, Shinichi Shimada and Rie Ishii^{*6}

We investigated histamine production capacity using seven histamine-producing bacterial strains under storage at 10°C, a more reasonable cold storage condition. Subsequently, we examined the variation of histamine production in buffers, the correlation between bacterial density and histamine production quantities, and the growth rate in broths. Results showed that similar levels of histamine were produced in buffers even after 5 days of storage under certain conditions in which histamine-producing bacteria did not grow. Moreover, bacterial density was proportional to histamine production, and the coefficient of determination was more than 0.97, and the bacterial density required to produce 200 µg/mL of histamine during storage at 10°C was calculated to be 4×10^7 – 4×10^8 CFU/mL. When the initial bacterial density was 10^2 – 10^3 CFU/mL, psychrophilic

bacteria required 2 or 3 days and mesophilic bacteria required more than 4 days to grow above 10^7 CFU/mL. The above results suggest that understanding the capacity of histamine-producing bacteria to produce histamine and its growth rate in foods is important for the prevention of histamine food poisoning.

Food Hygiene and Safety Science: 63(4), 129-135 (2022)

*1 現 川口市保健所 *2 現 朝霞保健所 *3 現 薬務課

*4 現 狭山保健所 *5 現 熊谷保健所 *6 現 明治薬科大学

E. coli および黄色ブドウ球菌定性試験法における検出下限値の推定

千葉雄介^{*1} 金井美樹 藤原茜^{*2} 高瀬冴子 荒島麻実 土井りえ 島田慎一 石井里枝^{*3}

ISO 16140-3: 2021では微生物定性法の性能を評価する指標としてLOD₅₀ (50%の検査で陽性となる検出レベル) を採用している。E. coli 及び黄色ブドウ球菌の定性試験法は公定法として広く実施されているが、そのLOD₅₀が設定されていないため導入時の性能評価が実施できない現状がある。このため、これらの試験法について比較可能な性能指標を評価することを目的とし、LOD₅₀の推定を試みた。食品を含まない試料を用い、検査担当者の手技によるばらつきの評価では、LOD₅₀はE. coli 試験法で19~31 CFU/mL, 黄色ブドウ球菌法で29~49 CFU/mLであった。さらに、1つのラボで各手法を用いて6つの食品サンプルのLOD₅₀を推定した。E. coli 試験法で算出した全食品のLOD₅₀値は14~27 CFU/gの範囲、黄色ブドウ球菌法で算出した値は25~48 CFU/gの範囲で、食品試料の影響による検出感度の低下は認められなかった。各手法でLOD₅₀が最高または最低となった食品サンプルのLOD₅₀を5つの検査機関で比較した。両手法の推定LOD₅₀と各検査室の結果の比は、ISO 16140-3: 2021で規定された許容限界値である4倍以内であり、試験室間において両試験法とも同程度の試験性能を有すると推察された。本研究は、各研究所におけるメソッドの性能検証のベンチマークとして活用されることが期待される。

日本食品微生物学会雑誌：39(4), 132-140 (2022)

*1 現 川口市保健所 *2 現 朝霞保健所 *3 現 明治薬科大学