

## <国際シンポジウム>

### Monitoring and Distribution of Legionella in artificially made water system in Kobe City, Japan

Noriko Nakanishi

Kobe Institute of Health

The 60th Anniversary of School of Public Health (SPH), Fujian Medical University (FJMU): A joint symposium on public health and environment in southeastern China and Japan, November 17, 2019, Fuzhou city, Fujian, China

要旨:本シンポジウムは、長崎県環境保健研究センター、中国福建省疾病予防管理センター(福建省 CDC)、ならびに福建医科大学間で国際感染症・公衆衛生分野における技術交流モデルの一環で開催された。

当研究所では、2003 年から現在まで、種々の生活環境から約 1,600 株のレジオネラ菌株を蓄積してきた。レジオネラのヒトへの感染源、感染経路、病原性を理解するためには、環境中でのレジオネラの生態を知ることが重要である。そのため、我々はこれまでに蓄積された *L. pneumophila* において、冷却塔水由来に特徴的な三つの clonal complex が定着していること、温泉環境における多様な遺伝子型が存在していることを明らかにした。もうひとつの研究成果として、新たなレジオネラ消毒法の検証について報告した。現場での実試料を用いた研究により、遊離塩素が効きにくい特定の泉質の温泉施設では、厚生労働科学研究でレジオネラ対策の消毒法としての効果が評価され推奨されているモノクロラミンを用いることにより、レジオネラ感染リスクの低減が期待できることを見出した。このように、レジオネラの継続的モニタリングおよび消毒法の検証の双方について、体系的に取り組む当所の活動と研究成果について紹介した。

## <国内学会>

### 結核・非結核性抗酸菌の分子疫学からみる抗酸菌とヒトの関わり

岩本朋忠

神戸市環境保健研究所

第 89 回実験結核研究会:2019 年 6 月 6 日、大分

要旨:海外における蔓延状況とは非依存的に形成された結核菌の集団構造は、単一民族性の高いわが国における宿主と結核菌の相互関係を見出す上で興味深い。実際に、我々は本邦分離結核菌株の集団構造が世界的にも特異なものであることを遺伝的多様性解析から明らかにした。一方で、社会構造変化をもたらす結核菌集団構造への影響についてもモニタリングしており、近年集団構造が急速に変化しているという知見を得た。ヒトからヒトへの感染を繰り返す結核とは異なり、環境中に存在する非結核性抗酸菌 (NTM) によって引き起こされる NTM 症が、公衆衛生上の新たな問題となっている。予防の基本は、感染源、感染経路の解明であり、我々は、NTM の環境内動態を明らかにするために、河川表層水と健康人浴室環境中の NTM モニタリング調査を行っている。本調査により、河川表層水には多様な NTM 菌種が常在していること、浴室環境からは *M. avium*, *M. goodii*, *M. abscessus* などの臨床の現場で遭遇することの多い NTM が高頻度に分離されることが分かった。

### 全ゲノム解析を活用した地域内分子疫学調査

岩本朋忠

神戸市環境保健研究所

第 94 回日本結核病学会:2019 年 6 月 7-8 日、大分

要旨:我々は多剤耐性結核菌を中心にした 198 株について、主要な抗結核薬に対する最小発育阻止濃度の測定とゲノム解析を行い、ゲノム情報から高精度に薬剤感受性が判定できることを確認した。精度管理に難のある培養法による結核菌薬剤感受性試験に依存しないサーベイランス情報の標準化が可能となる。保健所に「結核対策を効果的に実施するためのヒント(ノーマークの感染源、感染伝搬への気付き)」を提供するための地域内結核分子疫学の信頼性を高めるために、ゲノム解析の活用を検討した。2016 年分離株 200 株とその前後 1 年で VNTR クラスター形成した株 81 株を加えた 281 株についてゲノム解析し、一塩基多型 5 か所以内で形成されるクラスターと VNTR でのクラスターを比較した結果は、VNTR 法をスクリーニングとして実施し、さらにゲノム解析で対象を絞り込むというアプローチが有用であることを確認した。

## 全国規模での健康者浴室サンプリングによる非結核性抗酸菌の検出率と菌種多様性

有川健太郎<sup>1</sup>、中島聡美<sup>1</sup>、高杉義之<sup>1</sup>、矢野大和<sup>2</sup>、吉田志緒美<sup>3</sup>、岩本朋忠<sup>1</sup>

<sup>1</sup>神戸市環境保健研究所・感染症部、<sup>2</sup>東北大学・生命科学、

<sup>3</sup>近畿中央呼吸器センター・臨床研究センター

日本防菌防黴学会第46回年次大会:2019年9月25-26日、大阪

要旨: 2017年9月から2019年6月に全国の健康者ボランティア256家庭の浴室環境からシャワー水と給湯口のバイオフィルムのサンプリングを行い、日本の各地域から非結核性抗酸菌を分離同定した。浴室環境におけるNTMの検出率は71.9%、NTM症の主要な原因菌である*Mycobacterium avium*は17.2%であり、これらのNTMは健康者の浴室環境に幅広く存在していた。地域別の検出率を見ると、関東地方や近畿地方で*M. avium*がよく検出された。一方、北海道や東北、九州・沖縄地方ではNTM自体の検出率の低い傾向が認められた。浴室環境からのNTMは*M. gordonae*が最も高頻度に、次いで*M. lentiflavum*、*M. avium*、*M. mucogenicum*、*M. fortuitum*の順で検出された。これら5菌種が日本の浴室から特徴的に検出された。

## 人工環境水から検出されたアメーバ類とレジオネラ属菌との関連性

田中忍、中西典子、岩本朋忠

神戸市環境保健研究所・感染症部

第46回地方衛生研究所全国協議会近畿支部細菌部会研究会:2019年11月22日、和歌山

要旨: H29年4月~12月およびH30年6月~H31年2月に採水された冷却塔水27検体、公衆浴場水133検体、温泉浴槽水101検体、給湯水10検体、プール水14検体の計285検体を用い、レジオネラ属菌検査およびアメーバ類の分離を行った。アメーバ検出検体からのレジオネラ検出率はアメーバ不検出検体と比較して有意に高く、アメーバ類の存在とレジオネラの増殖は密接に関連していることが示唆された。6種類のアメーバ類と神戸市において浴槽水からの分離頻度の高い*L. israelensis*、*L. londiniensis* 2群、*L. micdadei*、*L. pneumophila*を用いた感染実験を行った。*L. pneumophila*は、血清群でやや異なる場合があるものの6種類のアメーバに感染性を示したが、レジオネラ属菌種によって感染性が異なった。感染・増殖しやすいアメーバ類が存在することが考えられた。

## 地下式受水槽のノロウイルス汚染を原因とする食中毒事例

野本竜平、有川健太郎、植村卓、米澤武志、濱夏樹、中西典子、田中忍、岩本朋忠

神戸市環境保健研究所・感染症部

第40回日本食品微生物学会学術総会:2019年11月28-29日、東京

要旨:平成31年2月、地下埋設式受水槽を有する雑居ビルにテナントとして入居する飲食店においてノロウイルスによる食中毒が発生し、保健所の疫学調査により飲食店の給水栓水が原因である可能性が疑われた。その後の調査で、患者便と飲食店の給水栓水及び受水槽に隣接する湧水槽よりノロウイルスが検出されたため、ビルの地下式受水槽がノロウイルスに汚染されたことが本食中毒事例の原因であると判明した。雑居ビルにおける水道事故により、ノロウイルス食中毒が発生した珍しい事例であるため、その概要について報告する。

## 臨床細菌のゲノム情報を利用したSNP系統解析

野本竜平、中西典子、米澤武志、田中忍、濱夏樹、岩本朋忠

神戸市環境保健研究所 感染症部

第31回日本臨床微生物学会学術総会:2020年1月31-2月2日、金沢

要旨:次世代シーケンサー(NGS)は装置・試薬の低価格化に伴い近年急速に普及し、基礎・応用を問わず多種多様な分野で幅広く利用されている。これまで病原体の分子疫学解析ではPFGE等のバンドパターンによるプロファイリングや、MLSTまたはVNTRといったゲノム上の特定の場所の塩基多型(Single Nucleotide Polymorphism: SNP)または反復配列の数を比較する手法が一般的であった。これらの手法と比較して、NGSから得られる全ゲノム情報を利用したSNP系統解析は遥かに高い分解能を示し、より高精度な病原体の院内・市中・家族内アウトブレイクのモニタリングや、流通食材による食中毒菌の追跡などを可能にしている。本講演では地方衛生研究所の立場から、臨床細菌のNGSを用いたSNP系統解析の概要と、その解析フローについて実際の解析事例を交えて紹介する。

## 冷却塔に定着する *L. pneumophila* が保有するプラスミドの遺伝的特徴

中西典子、野本竜平、田中忍、岩本朋忠

神戸市環境保研・感染症部

第14回日本ゲノム微生物学会年会:2020年3月6-8日、愛知

要旨:冷却塔に定着する *L. pneumophila* は、大きく3つのグループ clonal complex(CC)(CC1, CC2, CC3)に分類される。我々はこれら冷却塔由来株のゲノム系統解析を実施してきたが、その過程でそれぞれのCCに特徴的な、100kbpを超えるプラスミドが内在していることを見出した。CC1の3株からは約130kbpの配列が完全に一致するプラスミドが検出され、それは *L. pneumophila* Paris 株で報告された pLpp と90%以上の配列類似性を示した。一方で、CC3が保有するプラスミドは約160~180kbpとCC1よりも長大であり、データベース上に類似のプラスミドは登録されていなかったが、CC1のプラスミドと接合伝達系など主要な遺伝子群で共通の遺伝子構造が確認された。また、細胞内寄生に重要な役割を果たすと考えられる二成分制御系 *lrpR/lskS* が保存されており、レジオネラの病原性や環境適応にプラスミドが寄与している可能性が考えられた。

## LC/MSによる化学物質分析法の基礎的研究(75)

吉野共広<sup>1</sup>、八木正博<sup>1</sup>、小野純子<sup>2</sup>、折原智明<sup>3</sup>、伊藤朋子<sup>4</sup>、長谷川瞳<sup>5</sup>、平生進吾<sup>5</sup>、山本浩司<sup>6</sup>、浦山豊弘<sup>6</sup>、大月史彦<sup>6</sup>、飛石和大<sup>7</sup>

<sup>1</sup>神戸市環境保研、<sup>2</sup>大阪府環農水研、<sup>3</sup>札幌市衛研、<sup>4</sup>岩手県環境セ、<sup>5</sup>名古屋市環科セ、<sup>6</sup>岡山県環境セ、<sup>7</sup>福岡県環境研  
第28回環境化学討論会:2019年6月12日、さいたま

要旨:GC/MSでは測定が困難な環境中化学物質についてLC/MSの適用可能性を検討した。本報は環境省委託化学物質分析法開発調査(LC/MS)における検討等で得られた主な知見を取りまとめたものである。対象とした物質は、(1)チアムリン、(2)塩酸メホルミン及びピリドスチグミン、(3)シアナミド(いずれも水質試料)である。特に(2)の塩酸メホルミンは超高極性物質であるため、特に分析が困難とされてきた物質である。今回、特殊な活性炭系の前処理カラムとLC-MSでヒリック系カラムを用いることで、分析が可能となった。この物質は糖尿病患者に多く用いられており、河川水や海水からはほとんどの地点で検出されることが明らかになりつつあり、環境中での実態把握が進むものと期待される。

## 飲料水への汚水の混入が疑われる事案における迅速化学分析 八木正博、吉野共広、向井健悟

神戸市環境保健研究所 生活科学部

第22回日本水環境学会シンポジウム:2019年9月6日、札幌

要旨:2019年2月に神戸市で起こった飲食店での健康被害発生(ノロウイルス感染)の原因が飲食店が多数入る商業ビルでの地下埋設式受水槽で汚水が混入するという汚染であったが、水質試験から汚水由来の汚染を迅速に判断できる方法はないかを検討した。測定対象として、人工甘味料3種:Sucralose(SUC)、Acesulfame K(ACE)、Saccharin(SAC)、尿成分1種:Creatinine(CRE)、便に含有する胆汁酸2種:Deoxycholic Acid(DCA)及びCholic Acid(CA)の6種を選び、水質試料から目的物質を固相抽出する方法で試験溶液を調製し、LC-MS/MSで定量する方法を検討した。その結果、定量下限を2~50 µg/Lとする分析法が確立でき、飲料水への汚水の混入を調査できることが可能となった。

## LC-QTOF/MSを用いた高極性物質のスクリーニング法の検討

吉野共広、八木正博、向井健悟

神戸市環境保健研究所 生活科学部

第46回環境保全・公害防止研究発表会:2019年11月15日、津

要旨:本市では、平成29年度~30年度の化学物質分析法開発調査において、医薬品であるMetformin(糖尿病治療薬)及びPyridostigmine(コリンエステラーゼ阻害薬)の環境水中のLC-MS/MS分析法を開発した。得られた分析法を用い、神戸市内の環境水中のMetformin及びPyridostigmineの実態調査を実施した。実態調査に併せて、得られた試験液を用いて、LC-QTOF/MSを用いたスクリーニング分析を実施した。

特にMetforminは極性が高いため定量が困難であったが、活性炭系の前処理カラム、LCでの分離にHILICモードを用いることで、分析が可能となった。実態調査により、全地点から検出されたMetforminは家庭や病院等で使用され、下水処理場では完全には分解されることなく排出されていることが示唆された。TOF/MSのSWATHモードを用いたスクリーニング分析の結果、比較的極性が高い医薬品であるAtenolol(心血管疾患治療薬)やSulpiride(抗精神病薬)を含む幅広い極性を持つ化学物質が検出された。

## ダイズおよびトウモロコシ加工食品における遺伝子組換え食品 検査法の検討

岸本由里子<sup>1</sup>、上田量子<sup>2</sup>、佐藤徳子<sup>1</sup>、山路章<sup>1</sup>、向井健悟<sup>1</sup>

<sup>1</sup>神戸市環境保健研究所、<sup>2</sup>神戸市西部衛生監視事務所

第56回全国衛生化学技術協議会年会:2019年12月5-6日、  
広島

要旨:安全性審査済みのGM農産物について、平成28年の「食品表示基準について」の一部改正により、ダイズおよびトウモロコシ加工食品の検査法が追加となった。そこで追加された検査法が当所において実施可能か検討を行った。

ダイズ加工食品31試料、トウモロコシ29試料について試験を行ったところ、GM検知試験については、加工程度の高い食品は加工によるDNA損傷が大きいためCq値がばらつき、再検査が必要となる可能性があることが示唆されたが、陽性対照試験についてはトウモロコシ1試料を除き内在性遺伝子の増幅が見られたことから当所で検査が可能であることが確認された。

## <第17回神戸市生活衛生研究発表会>

誌面発表

## 公衆浴場水における基準項目の変更及びその影響

福田彩香、八木正博、向井健悟

## 安全性未審査の遺伝子組換えサケの検査法について

日置優伽、岸本由里子、佐藤徳子、山路章、向井健悟