

【はじめに】百日咳菌の分離は特殊な培地を用いる必要があり、一般的にワクチン既接種者や成人では難しいとされているが、今回、保存性に優れた半合成培地である Cyclodextrin Solid Medium (CSM 培地) の作製法を変更することで培地が迅速に作製でき、さらに最終濃度 5mM のピルビン酸 Na を添加することで、原法に比べ百日咳菌を良好に分離できることを確認したので報告する。

【方法】培地の作製を簡便にするため、モル換算した試薬の保存溶液を作製し、保存液を混合するだけで調製できるようにした。ピルビン酸 Na の効果の検証には MLVA のタイプが異なる 3 種類 (MT26, MT27, MT29) の臨床分離株およびワクチン株である東浜株を用いた。

【結果】CSM 培地原法に出現したコロニー数を 1 とした場合、平均して MT26 : 2.9 倍, MT27 : 3.1 倍, MT29 : 2.7 倍, 東浜株 : 3.3 倍コロニー数が増加した。また、コロニーは原法に比べ大きくなることが認められた。

【考察】今回検討した作製法では試薬を秤量ではなく容量で調製することにより、pH 調整が不要で、迅速かつ誰が行ってもロット間差を生じることなく培地を作製することが可能となった。さらに、CSM 培地に最終濃度 5mM のピルビン酸 Na を加えることで、MLVA のタイプに関わらず原法より 2.7~3.3 倍コロニー数が増え、コロニーも大きくなることが確認された。菌の分離は百日咳検査における gold standard と位置付けられ、PFGE の実施やワクチン株と抗原性が異なる変異株や薬剤耐性菌の出現を監視するためにも重要である。今回検討した方法では保存溶液を準備しておけば、突発的な事例の際にも迅速に培地作製が可能で、菌の分離まで含めた行政依頼に対応できるものと思われる。

○来院時心肺停止状態であった乳児百日咳の一例
・山村佳子¹⁾, 明利聡瑠¹⁾, 石井茂樹¹⁾, 三原由佳¹⁾, 中谷圭吾¹⁾, 吉野修司²⁾

¹⁾宮崎県立宮崎病院小児科, ²⁾宮崎県衛生環境研究所

「第 48 回日本小児感染症学会 (平成 28 年 11 月 19, 20 日 岡山市)」

【はじめに】近年、青年・成人層における百日咳感染が増加しており、小児への感染源となること

が懸念されている。今回、家族内感染による乳児百日咳で来院時心肺停止状態を呈した症例を経験したので報告する。

【症例】1 か月女児。日齢 33 より咳嗽、鼻汁が出現。日齢 36 より活気低下、日齢 37 に哺乳不良となり前医を受診した。低体温、呻吟を認め、全身状態不良であり当院を紹介受診した。到着時心肺停止状態であり CPR を開始、自己心拍は 2 分後に再開した。CT 上肺炎像を認め、肺炎による急性呼吸不全と診断した。入院時白血球数 29130/ μ l (リンパ球 69.8%), CRP 0.01mg/dl であり、SBT/ABPC 静注、CAM 内服を開始した。入院 4 日目に入院時鼻咽頭拭い液で百日咳菌 LAMP 陽性と判明し百日咳と診断した。のちに同菌分離陽性、ペア血清で PT-IgG4 倍以上の上昇が確認された。入院 6 日目に抜管の後も、発作性咳嗽、吸気性笛声、チアノーゼ、無呼吸などの症状が続いたが、入院 23 日目、症状軽快につき後遺症なく退院した。本児の百日咳感染判明後速やかに、接触のあった家族 5 人の調査と予防内服を行った。その結果、本児の症状出現 2 週間より咳嗽を認めた同居祖母と、本児発症 1 週間より咳嗽が出現した同居祖父に百日咳菌 LAMP 法・分離陽性であった。PT-IgG は祖母 96EU/ml, 祖父 11EU/ml (咳嗽出現よりそれぞれ 26 日目, 4 日目) であった。

【考察】家族内調査より同居祖母が発端の百日咳の家族内感染と考えられ、高齢者も感染源となることが示された。ワクチン未接種の乳児早期百日咳は重症化しやすく、効果的治療法もないため、妊婦を含めた周辺家族への事前のワクチン接種が望まれる。乳児 CPAOA 症例では百日咳も鑑別の一つとして対応する必要があると考えられた。

○無症候性保菌者からの百日咳菌分離について
・吉野修司¹⁾, 水流奈己¹⁾, 三原由佳²⁾, 石井茂樹²⁾, 中谷圭吾²⁾, 蒲地一成³⁾

¹⁾宮崎県衛生環境研究所, ²⁾宮崎県立宮崎病院小児科, ³⁾国立感染症研究所細菌第二部

「第 86 回日本感染症学会西日本地方会 (平成 28 年 11 月 24 日~26 日 宜野湾市)」

【はじめに】百日咳菌の分離はワクチン既接種者や成人では難しいが、被験者から菌が分離された場合は百日咳が確定すると同時に感染源になり得ることを意味している。今回、分離培地の改良を

行うとともに、家族内調査においてワクチン既接種の無症状者から菌が分離されたのでその概要を報告する。

【方法】百日咳と診断された乳児の家族 8 名から同意を得て鼻咽頭ぬぐい液を採取し、DNA 抽出後、IS481, IS1001, B2M (beta-2 microglobulin : ヒト陽性コントロール) を標的とした real-time PCR 法を行った。IS481 が陽性の場合には LAMP 法で *B. pertussis* の確認を行った。菌の分離は独自に改良した最終濃度 5mM のピルビン酸 Na 添加 CSM 培地を用いた。なお、菌が分離された場合は *Xba I* を用いた PFGE を実施した。

【結果】家族 8 名中 5 名が LAMP 法陽性、百日咳菌分離陽性であった。PFGE の結果から、分離された 5 株は同一由来と考えられた。5 名中 2 名は無症状の小児で、ワクチンをそれぞれ 3, 4 回接種していた (最終接種からそれぞれ 1, 7 年経過)。さらに、B2M との比較から無症状でも菌量が多いことが推測された。

【考察】近年、海外での動物感染実験や疫学解析等の結果から、現行ワクチンは症状を軽減させるが、感染や菌の増殖は抑えられないことが報告されている。今回の結果から、本県においても同様の事例があると考えられた。また、ワクチン未接種の乳児に対する感染源として、青年・成人層が問題にされているが、加えて無症候性保菌者も感染源になる可能性があり、抗菌薬の予防投与範囲は慎重に設定する必要があるものと思われた。

なお、ピルビン酸 Na 添加 CSM 培地は原法に比べ百日咳菌のコロニーが大きく、数も 2~3 倍多く検出できることから、日常検査における百日咳菌の分離に有用であると考えられた。

○比較ゲノムによる腸管出血性大腸菌 O145:H28 の多様性解析

・中村佳司¹⁾、村瀬一典²⁾、伊藤武彦³⁾、ジャック ニエール⁴⁾、吉野修司⁵⁾、黒木真理子⁵⁾、木全恵子⁶⁾、磯部順子⁶⁾、勢戸和子⁷⁾、江藤良樹⁸⁾、前田詠里子⁸⁾、緒方喜久代⁹⁾、成松浩志⁹⁾、齋藤志保子¹⁰⁾、八柳潤¹⁰⁾、伊豫田淳¹¹⁾、大西真¹¹⁾、大岡唯祐¹²⁾、後藤恭宏¹⁾、小椋義俊¹⁾、林哲也¹⁾

¹⁾九大院・医・細菌、²⁾京大院・医・微生物感染症、³⁾東工大院・生命理工、⁴⁾リエージュ大・獣医・細菌、⁵⁾宮崎県衛環研・微生物、⁶⁾富山県衛研・細菌、

⁷⁾大阪府公衛研・感染症、⁸⁾福岡県保環研・保健科学、⁹⁾大分県衛環研・微生物、¹⁰⁾秋田県健康環境センター・細菌、¹¹⁾感染症研・細菌第一、¹²⁾鹿児島大院・医歯学・微生物学

「第 90 回日本細菌学会総会(平成 29 年 3 月 19 日 ~21 日 仙台市)」

腸管出血性大腸菌 (EHEC) は志賀毒素 (Shiga toxin, Stx1 および Stx2) など、様々な病原因子を産生する。当研究室では、EHEC の代表的な O 血清群である O157, O26, O111, O103 の全ゲノムを解読し、病原性進化機構の解明等を進めている。本研究では、国内外で O157 に次いで重要とされる血清群の一つである O145 のゲノム多様性の実体解明を目的として、血便患者由来 10942 株の全ゲノム配列決定とこれを参照配列とした比較ゲノム解析を行った。10942 株の染色体は 5,374 kb で、93 kb の病原プラスミドを保持していた。他の EHEC 血清群と同様に、染色体上に多数のプロファージを有し、3 型分泌系エフェクターなどの病原因子レパートリーも他の EHEC と類似していた。このことから、O145 も O157 等と同じく水平伝播により多数の病原遺伝子を獲得し、EHEC へ進化したと考えられた。国内とベルギーで分離された 50 株の概要ゲノム配列を取得し、ゲノム配列に基づく高精度系統解析を実施するとともに、Stx2 フェージゲノムの配列決定と Stx2 産生量の測定を行った。その結果、O145 には複数の亜系統が存在すること、さらに亜系統によって Stx2 フェージの挿入部位およびゲノム構造が異なり、Stx2 産生量も亜系統による違いが見られた。以上のことから、O145 には比較的多様な遺伝系統の菌株が存在していることが推察された。各株の Stx2 産生量の違いと Stx2 フェージのタイプの関連性等については、各株の系統を考慮したより詳細な解析を行う必要があると考えられた。

○国内外で分離された 521 株の腸管出血性大腸菌 O26 の全ゲノム系統解析と病原遺伝子レパートリー解析

・小椋義俊¹⁾、黒木真理子²⁾、吉野修司²⁾、木全恵子³⁾、磯部順子³⁾、勢戸和子⁴⁾、前田詠里子⁵⁾、江藤良樹⁵⁾、楠本正博⁶⁾、秋庭正人⁶⁾、石嶋希⁷⁾、李謙一⁷⁾、伊豫田淳⁷⁾、大西真⁷⁾、大岡唯祐⁸⁾、後藤恭宏¹⁾、