

第 87 回 日本細菌学会北海道支部学術総会
The 87th Annual Conference of
Japanese Society for Bacteriology Hokkaido Branch

2022 年 8 月 27 日 (土)
August 27, 2022 (Sat)



(現地会場とオンラインによるハイブリッド開催)

現地会場

札幌医科大学 Sapporo Medical University
教育研究棟 D401・402 講義室

札幌市中央区南 1 条西 17 丁目

発表者・座長の方へ

<発表時間・質疑応答時間>

一般演題：発表 10 分間、質疑応答 2 分間

Oral Session: Presentation 10 min, Discussion 2 min

特別講演：講演 50 分間、質疑応答 10 分間

Special Lecture: Lecture 50 min, Questions and Answers 10 min

※オンライン参加者からの質問は、チャット機能により受け付けます。

日本細菌学会北海道支部会賞について

学生、ポスドク、助教による演題を対象に、日本細菌学会北海道支部会賞（最優秀賞、優秀賞）を選考します。総会当日、現地会場参加者に投票をしていただき、総会の終了時に受賞者の発表と賞の授与を行います。

プログラム Program

開会挨拶 概要説明・事務連絡 9:15-9:30

- 東 秀明 日本細菌学会北海道支部会長
北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所
- 小林 宣道 第87回北海道支部学術総会長
札幌医科大学医学部衛生学
- 横田 伸一 第16回細菌学若手コロッセウム代表世話人
札幌医科大学医学部微生物学

日本細菌学会若手コロッセウム 優秀演題発表セッション 9:30-10:30

座長：第16回細菌学若手コロッセウム世話人

休憩 10:30-10:40

一般演題 セッション1 Session 1 10:40-11:20

座長：長谷部 晃 北海道大学 大学院歯学研究科口腔病態学分野

演題 1. *Acinetobacter baumannii* はカスパーゼ-11 を介して NLRP3 インフラマソームを活性化する

- 松田泰幸 森健一郎 原英樹
旭川医科大学医学部微生物学講座

演題 2. 遺伝子修復機構欠損株を用いた *Klebsiella pneumoniae* の heterogeneity が与える病原性と宿主内適応進化への影響評価

- 上村 幸二郎^{1,2} 佐藤 豊孝^{1,3,4,5} 小笠原 徳子¹ 山本 聡¹ 白石 宗¹
齋藤 充史² 黒沼 幸治² 堀内 基広^{3,4,5} 高橋 聡^{6,7} 千葉 弘文² 横田 伸一¹
¹札幌医科大学医学部微生物学講座 ²札幌医科大学医学部呼吸器・アレルギー内科学講座, ³北海道大学大学院獣医学研究院獣医衛生学教室, ⁴北海道大学大学院国際感染症学院, ⁵北海道大学 One Health リサーチセンター, ⁶札幌医科大学医学部感染制御・臨床検査医学講座, ⁷札幌医科大学附属病院検査部

演題 3. 既存薬ライブラリーのスクリーニングから探る病原性クラミジア (*Chlamydia trachomatis* L2 434/Bu) が感染細胞内で利用する新たなシグナル伝達系について

- 李 睿語¹ タパジーワン² 張 賽成¹ 大久保寅彦¹ 東 秀明² 山口博之¹
¹北大院・保科・病態解析 ²北大・人獣共通感染症国際共同研究所

一般演題 セッション2 Session 2

11:20-12:00

座長：豊留 孝仁 帯広畜産大学 獣医学研究部門基礎獣医学分野

演題 4. インドールによる *Chlamydia trachomatis* L2(434/Bu)のヒト上皮系株化細胞 (HEp-2)内での増殖抑制機構：芳香族炭化水素受容体の関連性について

○張 賛成¹ タパジーワン² 大久保寅彦¹ 中村眞二³ 東秀明²

山口博之¹ ¹北大院・保科・病態解析 ²北大・人獣共通感染症国際共同研究所 ³順大院・医・研究基盤センター

演題 5. 深海底熱水孔由来 *Campylobacteria* 綱細菌の窒素代謝制御：N₂O還元時における遺伝子発現応答

○土屋 地郎 美野 さやか 澤辺 智雄

北大院・水産

演題 6. *Legionella pneumophila* に殺滅される絨毛虫を用いたレジオネラの新規病原因子探索

○大久保寅彦 川代愛梨 玄行理子 田西梨渚 山口博之

北大院 保科・病態解析

休憩

12:00-13:00

一般演題 セッション3 Session 3

13:00-13:40

座長：佐々木 崇 札幌医科大学 医学部動物実験施設部

演題 7. 土壌細菌は環境因子の変動に伴い空気中に舞い上がり浮遊するのか：生菌回収用自作エアサンプラーを用いた野外調査の試み

○森沙彩 甲斐絢子 杉山恭平 大久保寅彦 山口博之

北大院・保科・病態解析

演題 8. 乾燥面の温度と湿度上昇はその表面に付着した病原体の生存菌数を大幅に低減させる

○盛永和樹 今野綾乃 大久保寅彦 山口博之

北大院・保健科学・病態解析

演題 9. 主成分解析による地下歩行空間に浮遊する集落形成細菌数に影響を及ぼす環境因子とその特徴の可視化

○山口博之 森沙彩 今野綾乃 大久保寅彦

北大院・保科・病態解析

一般演題 セッション4 Session 4

13:40-14:20

座長：佐藤 豊孝 北海道大学 大学院獣医学研究院 獣医衛生学

演題 10. 医療関連感染予防のための実用化を見据えた検証：温度制御を施した手すり型デバイス上での大腸菌の生存性について

○今野綾乃 盛永和樹 大久保寅彦 山口博之
北大院・保科・病態解析

演題 11. 低温調理における耐熱性細菌・非耐熱性細菌の死滅条件の解明

○中野瞳¹ 福田昭¹ 中島千絵² 鈴木定彦² 臼井優¹
¹酪農学園大学獣医学類食品衛生学ユニット ²北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所バイオリソース部門

演題 12. バルクタンクミルクから分離されたプロトテカおよび酵母様真菌の解析

○豊留 孝仁^{1,2,3} 松井 詩¹
¹帯広畜産大学 獣医学研究部門 ²帯広畜産大学 動物・食品検査診断センター ³千葉大学・真菌医学研究センター

一般演題 セッション5 Session 5

14:20-15:10

座長：中島 千絵 北海道大学 人獣共通感染症国際共同研究所 バイオリソース部門

演題 13. 北海道で分離された無莢膜型肺炎球菌のペニシリン結合蛋白のアミノ酸変異の解析

○川口谷充代¹ 漆原範子¹ Meiji Soe Aung¹ 伊藤政彦² 工藤兼司² 幅寺敏²
小林宣道¹
¹札幌医科大・医・衛生学 ²札幌臨床検査センター

演題 14. 病院スタッフ・歯科受診患者の口腔・手指に分布するブドウ球菌種の分子疫学的解析

○廣瀬弥奈¹ Meiji Soe Aung² 藤田裕介¹ 加藤大生¹ 八幡祥子¹
福田敦史¹ 齊藤正人¹ 小林宣道²
¹北海道医療大・歯・口腔構造・機能発育学系 小児歯科学分野 ²札幌医科大・医・衛生学

演題 15. 北海道におけるウェルシュ菌臨床分離株の各種毒素遺伝子保有状況と分子疫学的特徴

○Meiji Soe Aung¹ 松田亜沙美¹ 漆原範子¹ 川口谷充代¹ 大橋伸英¹
伊藤政彦² 幅寺敏² 小林宣道¹
¹札幌医科大・医・衛生学 ²札幌臨床検査センター

演題 16. Molecular epidemiological characterization of *Staphylococcus aureus* clinical isolates in tertiary care hospitals in Myanmar

○Meiji Soe Aung¹ Thida San² Nilar San³ Win Mar Oo³ 漆原範子¹

川口谷充代¹ 小林宣道¹

¹札幌医大・医・衛生学 ²Yangon Children's Hospital, Myanmar ³Pinlon Hospital, Yangon, Myanmar

休憩

15:10-15:20

特別講演 Special lecture

15:20-16:30

黄色ブドウ球菌食中毒とその嘔吐発現機序

***Staphylococcus aureus* food poisoning and the emetic mechanism**

講演者：小野 久弥 北里大学 獣医学部獣医学科 人獣共通感染症学研究室

Guest speaker : Hisaya Ono, Laboratory of Zoonoses, Kitasato University School of Veterinary Medicine

座 長：小林 宣道 札幌医科大学医学部衛生学

支部会賞授賞式

16:30-16:40

閉会式

16:40-16:45

**第 16 回細菌学会若手コロッセウム
優秀演題発表セッション**

一 般 演 題

演題 1~16

***Acinetobacter baumannii* はカスパーゼ-11 を介して NLRP3 インフラマソームを活性化する**

○松田泰幸、森健一郎、原英樹

旭川医科大学医学部微生物学講座

Acinetobacter は γ プロテオバクテリア綱、シュードモナス目、モラクセラ科に属するブドウ糖非発酵のグラム陰性短桿菌である。土壌などの自然環境に広く分布し、ヒトの皮膚などにも常在している。病原性は低く、健常人において病気を起こすことは稀であるが、免疫力が低下した易感染性宿主においては日和見感染を起こし、肺炎、菌血症、髄膜炎などが院内感染として問題となる。特に、抗菌薬に耐性を示す Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* (MDRA) に対する効果的な治療法は限られていることから、国内でも MDRA 感染症は第 5 類感染症に指定されている。MDRA が感染するとマクロファージや好中球が貪食することで菌の排除にあたるが、MDRA がどのような分子機構で炎症応答を惹起するかについては不明な点が多い。そこで本研究では、システインプロテアーゼであるカスパーゼ-1 を介して IL-1 β や IL-18 などの炎症性サイトカイン産生を誘導するインフラマソーム応答に着目し、MDRA が活性化するインフラマソームの特定とそのメカニズム解明を目的として検討を行った。

野生型マクロファージに MDRA を感染させたところ、培養上清中の IL-1 β 濃度が上昇した。一方、NLR family pyrin domain containing 3 (NLRP3) やカスパーゼ-11 を欠損したマクロファージでは IL-1 β 分泌が減少した。この結果は、MDRA がマクロファージにおいて NLRP3 インフラマソームを活性化することを示す。活性化型カスパーゼ-1 は、IL-1 β の産生に寄与するだけでなく、孔形成毒素であるガスダーミン D を活性化することで、パイロトーシスと呼ばれる炎症誘導性細胞死を惹起する。しかしながら、細胞死の指標となる LDH の放出は、NLRP3 欠損マクロファージでは野生型マクロファージと同程度であった。一方で、カスパーゼ-11 欠損マクロファージからの LDH 放出は顕著に減少した。これらの結果から、感染マクロファージにおいて、MDRA はカスパーゼ-11 を介してパイロトーシスを誘導することで NLRP3 インフラマソームを活性化していることが明らかとなった。

遺伝子修復機構欠損株を用いた *Klebsiella pneumoniae* の heterogeneity が与える 病原性と宿主内適応進化への影響評価

○上村 幸二郎^{1,2}, 佐藤 豊孝^{1,3,4,5}, 小笠原 徳子¹, 山本 聡¹, 白石 宗¹, 齋藤 充史², 黒沼 幸治², 堀内 基広^{3,4,5}, 高橋 聡^{6,7}, 千葉 弘文², 横田 伸一¹

¹札幌医科大学医学部微生物学講座 ²札幌医科大学医学部呼吸器・アレルギー内科学講座, ³北海道大学大学院獣医学研究院獣医衛生学教室 ⁴北海道大学大学院国際感染症学院 ⁵北海道大学 One Health リサーチセンター ⁶札幌医科大学医学部感染制御・臨床検査医学講座 ⁷札幌医科大学附属病院検査部

【要旨】 *Klebsiella pneumoniae* (*K.p*) は日和見感染症の主な起因菌であり、*K.p* が有する抗菌薬耐性や病原因子は臨床上的問題となる。特に、血清耐性は感染局所から血液内といった bacterial translocation に優位に働き、宿主内での生存性と病原性の向上に重要である。本研究では、*K.p* 臨床分離株および遺伝子変異高度誘発株 (DNA 修復遺伝子である *mutS* 欠損株) を用いて、*K.p* 感染症の病原性や生体内適応進化を細菌学的観点から解析・評価することを目的とした。リファンピシン添加培地を用いた変異頻度の測定から、*K.p* 臨床分離株は菌株ごとに様々な遺伝子変異頻度 (10^{-10} ~ 10^{-6}) を有する heterogeneity の集団であることが明らかになった。また、遺伝子高変異株は低変異株と比較し、高い血清耐性獲得能を有することを明らかにした。コアゲノム解析では、*K.p* 臨床分離株の遺伝学的多様性を証明するとともに、変異頻度の多寡がこれまで報告されてきた特定の MLST や莢膜などの病原因子とは独立していることを明らかにした。各種抗菌薬および血清選択圧下での継代培養では、*mutS* 欠損株は親株と比較し早期かつ高度に各耐性を獲得した。*in vivo* (免疫抑制マウス肺炎モデル) では、*mutS* 欠損株および血清耐性獲得株は親株と比較して有意にマウスの生存率を低下させ、血中の生菌数も有意に高かった。また、*mutS* 欠損株感染マウスからは高頻度に血清耐性株が出現した。本知見は世界中で問題となっている carbapenemase 保有 ST-258 clone においても同様であった。以上から、本研究により *K.p* 感染症において *K.p* の有する heterogeneity が病原性の惹起や宿主の病態進行に影響を与えている可能性を示した。特に遺伝子変異頻度による生体内適応進化性の向上が宿主への病原性に与える影響は大きいと推察され、遺伝子変異頻度の高い *K.p* は臨床上的リスクを高めていることが危惧された。

既存薬ライブラリーのスクリーニングから探る病原性クラミジア(*Chlamydia trachomatis* L2 434/Bu)が感染細胞内で利用する新たなシグナル伝達系について

○李 睿語¹ タパジーワン² 張 賽成¹ 大久保寅彦¹ 東 秀明² 山口博之¹

¹北大院・保科・病態解析、²北大・人獣共通感染症国際共同研究所

偏性細胞内寄生性細菌 *Chlamydia trachomatis* (以下 Ct と略)は、主要な性感染症の起因菌である。また最新の研究により、Ct が子宮癌や卵巣癌の危険因子であることが明らかになってきた。それに関連して私達は、Ct が PI3K-AKT 経路を活性化し、癌細胞と同様に低酸素状態に適応することを発見した(Thapa et al, *Microbes Infect*, 2020)。この Ct 感染細胞と癌細胞との類似性は、Ct がその増殖に利用するシグナル伝達経路が、新しい抗癌剤の標的となる可能性を示唆している。しかしながら Ct の遺伝子組み換えはいまだ成功しておらず、Ct の病態形成に関わる機構はよく理解されていない。その一方でドラッグリポジショニングの観点から薬効に関わる分子機構が明らかになっている既存薬ライブラリーが注目されている。そこで本研究では、Ct の発育阻害を指標として、承認薬物ライブラリーをスクリーニングした。承認薬ライブラリーは、LTT Bio-Pharma (LTT) (1,241 医薬品) および創薬科学教育研究センター (北海道大学) (3,200 医薬品) から提供された。GFP 発現 CtL2 (434/Bu 株) をヒト上皮細胞株 HEp-2 細胞に感染多重度 5 で感染させ、承認薬存在下で 21% O₂ または 2% O₂ で 48 時間培養した。Ct の発育阻害効果は、封入体形成アッセイを用いて判定した。その結果、ライブラリー中の 13 の薬剤 (抗菌剤を除く) が Ct の発育を阻害した。KEGG データベースとの比較から、それらの薬剤の標的は、Rhodopsin family、Ligand-gated ion channels、Estrogen like receptors、Serine/threonine kinases、Cytokines、Oxidoreductases (EC1)、Transferases (EC2)、Hydrolases (EC3)、Lyases (EC4) に分類された。またドーパミン作動性シナプス (hsa04080)、アルドステロン調節/ナトリウム再吸収 (hsa04960)、cGMP-PKG シグナル (hsa0422)、cAMP シグナル (hsa04024)、MAPK シグナル (hsa04010)、癌シグナル (hsa05200) などが、これらのヒット薬の影響を受けるシグナル伝達経路として新たに同定された。これらの情報伝達系は、Ct が細胞内で利用している可能性がある。(共同研究者: 乙黒聡子、前仲勝実、長尾学、松田彰、瀧澤雄一、古田芳一)

インドールによる *Chlamydia trachomatis* L2(434/Bu)のヒト上皮系株化細胞(HEp-2)内での増殖抑制機構: 芳香族炭化水素受容体の関連性について

○張 賽成¹、タパ ジーワン²、大久保寅彦¹、中村眞二³、東秀明²、山口博之¹

¹北大院・保科・病態解析、²北大・人獣共通感染症国際共同研究所、³順大院・医・研究基盤センター

偏性細胞内寄生性細菌 *Chlamydia trachomatis*(Ct)は、低酸素環境に維持されている膣頸管部に感染し不妊や卵巣癌のリスク因子にもなる性感染症の原因である。これ迄の試験管内の実験において、IFN γ が細胞内トリプトファン(Trp)を枯渇させることでCtの細胞内増殖を抑制するが、Trpの前駆体インドール(Ind)存在下ではその抑制効果が減弱することが知られている。それ故に膣内Ind濃度の上昇は、Ctの生存性を助長する要因と考えられている。一方、Ind誘導体やダイオキシンの受容体である転写因子芳香族炭化水素受容体(AhR)からの刺激が様々な細胞応答を調整し粘膜面の恒常性維持に寄与していることが明らかになってきた。そこで実際の膣内でのInd濃度がCt感染に与える影響とさらにインドールによるCtの細胞内増殖抑制に関わるAhR刺激がCtの細胞内増殖に与える影響について通常酸素分圧のみならず低酸素環境にて検討した。まず570検体の膣スワブ液中のIndとIFN γ 量を測定した。これらの間には強い正の相関が認められ、非感染スワブに比べCt感染スワブでは、IndとIFN γ 量は有意に低下した。試験管内の実験では、Ind刺激(200-500 μ M)は、酸素分圧にかかわらずCt(L2 434/Bu)のHEp-2細胞内での発育を有意に抑制した。またAhRアンタゴニストCH-223191は、Ctの発育を酸素分圧にかかわらず抑制した。HEpG2 Lucia AhR細胞を用いたレポーター解析で、Ind添加はキヌレニンによるAhR刺激を酸素分圧にかかわらず有意に抑制したが、Ct感染そのものの影響は認められなかった。AhRのアゴニストであるL-キヌレニン(LK)添加は、HEp-2細胞内でのCtの発育を抑制した。LK刺激は、AhRの核移行を促進したが、興味深いことに通常酸素下ではCt感染時に抑制された。これらの結果より、Indは、Ctの細胞内増殖を抑制することが明らかになった。Ctは、通常酸素分圧における細胞内増殖においてAhRを利用している可能性がある。(協力者: 船橋悠希、田中里歩、古田芳一)

深海底熱水孔由来 *Campylobacter* 綱細菌の 窒素代謝制御：N₂O 還元時における遺伝子発現応答

○土屋 地郎，美野 さやか，澤辺 智雄

北大院・水

深海底熱水孔環境において，脱窒($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NO} \rightarrow \text{N}_2\text{O} \rightarrow \text{N}_2$)は重要なエネルギー生成代謝であり，現場環境に優占する *Campylobacter* 綱細菌の多くが高い脱窒能を保有する。また，これらの細菌に近縁な病原性カンピロバクター属細菌にとっても硝酸や亜硝酸還元が宿主内での定着に重要であることが示唆されている。熱水孔由来 *Campylobacter* 綱細菌では，環境浄化の観点で関心が高い亜酸化窒素(N₂O)還元について研究が進展しており，沖縄トラフ由来の好熱菌 *Nitrosophilus labii* HRV44 株が極めて高い N₂O 還元能を保有することが報告されている。本研究では，HRV44 株の高効率な N₂O 還元を可能とする分子メカニズムを，ゲノムワイドな遺伝子発現の側面から解明することを目的とした。

HRV44 株を，N₂O 無添加の H₂-O₂ 培地と MMJHS(H₂-NO₃⁻, S₂O₃²⁻, S₀)培地でそれぞれ培養後(55°C, 24h)，N₂O を注加した(H₂-N₂O, MMJHS+N₂O)。このとき，経時的に N₂O 注加前(0 h)と注加後(24 h)で total RNA を抽出した。poly(A) mRNA 調製を経て，PCR cDNA Barcoding kit(Oxford Nanopore Technologies, ONT)で cDNA library を調製し，MinION(ONT)を用いて RNA-Seq を実施した。N₂O 注加前後および同時系列で，脱窒遺伝子の発現量や，発現変動遺伝子の機能を解析した。

いずれの条件比較でも脱窒遺伝子は，有意な発現変動を示さなかった。H₂-N₂O および MMJHS 条件では H₂-O₂ 条件と比べ，酸素消費に関与する遺伝子が下方制御された。一方，N₂O還元酵素(NosZ)への電子供給や，細胞増殖に関与する遺伝子が上方制御された。このことから，HRV44株では，嫌気条件下でNosZを恒常的に発現させるとともに，NosZ への電子供給を遺伝子発現レベルで上方制御することで効率的な N₂O還元能を獲得し，N₂O還元時の活発な増殖を実現していると考えられた。また，N₂O注加時の増殖強度(MMJHS >> H₂-O₂)から最も N₂O還元能が高いと予測していた MMJHS+N₂O 条件では，MMJHS および H₂-N₂O 条件と比べ，予測に反して先述した NosZ への電子供給や細胞増殖に関与する遺伝子，加えて ATP 合成に関与する遺伝子が下方制御された。加えて，本研究において，硝酸還元酵素(NapA)への電子供給を担う遺伝子は恒常的に発現したことから，硝酸還元能は嫌気条件下で一定に維持されていると考えられた。

Legionella pneumophila に殺滅される繊毛虫を用いたレジオネラの新規病原因子探索

○大久保寅彦、川代愛梨、玄行理子、田西梨渚、山口博之

¹ 北大院 保科・病態解析

Legionella pneumophila (Lp)は通性細胞内寄生性細菌で、河川や土壌、下水、冷却塔などに生息し、ヒトに感染するとレジオネラ肺炎を引き起こす。Lpの生息環境には繊毛虫をはじめとする原生動物も生息しており、当研究室でも野外由来の繊毛虫 *Anteglaucoma* sp. (下水)や *Colpoda steinii* (シンク)を分離し、*Tetrahymena thermophila* (実験室株)も加えて Lp との共培養実験を行い、Lp と繊毛虫の相互作用を検討してきた。本研究では *Anteglaucoma* がIV型分泌装置依存的に Lp により殺滅されることを明らかにし、殺滅に関わる細菌側の因子を探索した。Lp JR32 およびIV型分泌装置欠損株 JR32 Δ dot/icm と、*Anteglaucoma* CS11A、*Tetrahymena* IB の2種の繊毛虫を各々MOI 10,000 で混和し室温で共培養し、経時的に繊毛虫数の算定と蛍光顕微鏡観察を行なった。その結果、*Anteglaucoma* は Lp JR32 と共培養すると2日以内に全て死滅したが、JR32 Δ dot/icm との共培養では死滅は見られず、*Anteglaucoma* がIV型分泌装置依存的に Lp に殺滅されることが分かった。こうした殺滅は *Tetrahymena* では見られず、*Anteglaucoma* に特有の現象だった。また、顕微鏡観察では Lp が *Anteglaucoma* 内の細胞質に散在する様子が観察され、この Lp の挙動が *Anteglaucoma* の殺滅に関与している可能性が考えられた。さらに、Lp JR32 トランスポゾン挿入変異株ライブラリーを作成し、共培養期間後に *Anteglaucoma* が生残する株を解析した。*Anteglaucoma* の生残が認められた株(変異株 325 株のうち 29 株)は Arbitrarily-primed PCR 法とシーケンス解析によりトランスポゾン挿入部位を特定した。その結果、これらの株ではIV型分泌装置に関連する遺伝子(装置自体の遺伝子 *dotA*, *icmQ*, *icmX* やエフェクターの遺伝子 *sdhA*)の他、膜輸送に関わる遺伝子 *miaF*、エンドペプチダーゼ La の遺伝子などがトランスポゾン挿入で破壊されていたことから、これらが繊毛虫の殺滅に関わる遺伝子と同定された。このうちエンドペプチダーゼ La は、これまでに宿主細胞との相互作用が報告されていない遺伝子であり、新規の病原因子だと考えられた。レジオネラに殺滅されるユニークな繊毛虫を用いることで、レジオネラがもつ未知の病原因子の特定が期待できる。

土壌細菌は環境因子の変動に伴い空気中に舞い上がり浮遊するのか：生菌回収用自作エアサンプラーを用いた野外調査の試み

○森沙彩, 甲斐絢子, 杉山恭平, 大久保寅彦, 山口博之

北大院・保科・病態解析

私達は、3D プリンターを用いて空気中に浮遊する細菌を効率よく生け捕りにできるエアサンプラーを開発し、浮遊生菌数が温度や湿度さらに風速と連動し変動することを発見した(Mori et al, Res Microbiol, 2021)。一方、ヒトを取り囲む空気中には、多数の細菌が存在しており、ヒトの健康に影響を与えていると考えられる。それらは床や土壌由来だが、浮遊を惹起する環境要因は明らかではない。そこでこのエアサンプラーを用いて北大農場の牧草地を挟んだ 2 地点で空気を 2021.5.31~6.28 にかけて採取(1 回 2 時間、n=20)し、浮遊細菌数と環境因子(気圧、温度、湿度、風速、風向き、蒸気圧、日照時間、全天日照量など)との関連性を検証した。風向は、サンプリングを行った 2 地点を結ぶ双方の方角を最大値として定義した。その結果、浮遊細菌数(平均 7.42CFU/m³)と現地気圧(r=-0.263、p=0.043)および海面気圧(r=-0.26、p=0.045)が有意に相関した。また蒸気圧(r=0.254、p=0.05)、湿度(r=0.224、p=0.086)、風向(r=0.24、p=0.064)との相関が示唆された。さらに R にて環境因子を 2 成分に圧縮した。その結果、第一主成分の合成変数の主体は、現地気圧 0.416、海面気圧 0.418、露点温度-0.406、第二成分は、湿度-0.551、風向-0.42、日照時間 0.404 が合成変数の主体を構成していた。二つの合成変数を用いて散布図を作成すると、採取した日毎にグループに分かれた。この結果を踏まえ、精査すると浮遊菌数が、気圧・日照時間の増加に伴い増加し、湿度・風向・露点温度の上昇は浮遊細菌を減少させることが明らかとなった。そこで本当に土壌細菌が環境因子により空気中に浮遊しているのかを確かめるため、北大農場内外の土壌を追加でサンプリングし、浮遊細菌中と農場内の土壌から放牧されている家畜由来の細菌の検出を試みた。環境データ(各採材時 3 点、計 n=60)は、国土交通省気象庁 HP より得た札幌管区気象台の計測値を利用した。因子間の関連は、ピアソンの相関係数の検定により検討した。その結果、浮遊菌と農場内の土壌からは、放牧されていた動物由来と考えられる *Mammallicoccus (Staphylococcus) sciuri* が検出された。これらの *M. sciuri* を MLST(ST1~198)により系統解析を行った結果、農場の空気と農場内の土壌から ST75 と近縁の *M. sciuri* が検出された。このように土壌由来の細菌は、環境因子が連動し変化することにより、空気中に巻き上げられ浮遊し移動することが確認された。

乾燥面の温度と湿度上昇はその表面に付着した病原体の生存菌数を大幅に低減させる

○盛永和樹、今野綾乃、大久保寅彦、山口博之

北大院・保健科学・病態解析

【背景】 手すりやエレベーターのボタン等、人が多く触れる乾燥した高頻度接触面は、病原細菌を含め多くの微生物が付着する場所であり、接触感染の主要な原因である。病原細菌は乾燥抵抗性因子を駆使してその過酷な環境に適応していると予想されるので、その弱点を見いだすことで院内感染の制御が可能になるかもしれない。これ迄に私達は、床材やプラスチック表面に付着した大腸菌の生存性が、15℃下で放置した時と比べ、37℃において大幅に減少することを発見した (PLoS ONE, 2019)。この発見は、高頻度接触面における病原細菌の生存性を、その接触面を“人肌”に温めるだけで制御できる可能性を示唆している。しかしながら湿度も温度変化に影響を及ぼす環境要因の一つであり、その変化も乾燥面での細菌の生存性に何らかのインパクトを与える可能性が高い。そこで本研究では、温度とともに湿度も同時に制御した上で大腸菌を含む病原細菌の乾燥面における生存性について検証した。

【方法】 4時間培養した *E. coli* DH5 α で菌液を作成し、96-well U-shaped plate に滴下 (10⁵ CFU/spot)、乾燥させた。その後乾燥直後の菌 (T0) を回収し、残りを恒温恒湿器 [温度 (T): 25~37℃/湿度 (M): 45~90%] の中に入れ 18 時間静置し (T18)、その後同様に回収した。回収した菌液は、いずれも希釈を行い LB 寒天培地に接種した後、37℃で 1 晩培養し、コロニー数をカウントした。これらの実験で得られた生菌率を最も低減する条件 (T37℃/M90%) で *Staphylococcus aureus* ATCC29213、*Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853、*Acinetobacter baumannii* ATCC19606 と北海道大学病院で分離された NDM-5 型カルバペネマーゼ産生 *E. coli* 9/III 株の生菌率を測定し、T15℃/M55% と比較した。群間比較は、Bonferroni/Dunn 法とピアソンの相関係数の検定で行った。

【結果および考察】 乾燥面で放置した大腸菌の生菌数は、放置前に比べ温度の上昇と同様に、湿度上昇時にも有意に低下した。T37℃/M90%において、その効果は最も顕著であった。大腸菌以外の病原細菌についても T37℃/M90%において検討した結果、すべての病原体において生菌数の有意な低下が認められた。その一方でいずれの細菌も T15℃/M55%で放置した際には、生菌数の有意な低下は認められなかった。以上より、乾燥した高頻度接触面での病原細菌の生存性は、温度と湿度の上昇に強く影響を受けることが明らかになった。

主成分解析による地下歩行空間に浮遊する集落形成細菌 数に影響を及ぼす環境因子 とその特徴の可視化

○山口博之、森沙彩、今野綾乃、大久保寅彦

北大院・保科・病態解析

私達は、2016年から2017年にかけて520 mの直線地下歩道である札幌地下歩行空間 (<https://www.sapporo-chikamichi.jp/>) に浮遊する細菌数やその菌叢さらに環境因子との関連性から、閉鎖的公共空間における浮遊菌数が温度や通行人数などの複合的な要因の連鎖にて大きく変動することを明らかにした(PLoS ONE, 2019)。しかしながらその浮遊菌数の変動に直接関わる環境因子の特定や浮遊菌数の動態に関わる特徴を正確に捕らえるには至っていない。そこで本研究では、当時取得したデータを主成分解析を用いて再解析をすることで、地下歩に浮遊する細菌数の動態に影響を与える環境因子を可視化すると共に、無機的な微小粒子数の動態と比較することで浮遊菌数の特徴を見いだすことを試みた。取得済みデータは、2016年5月2日、同年6月5日、同年7月5日さらに2017年7月15日に観察、採取した計60セットで、浮遊菌数(SCDとR2A上に形成された集落数)、温度(T)、湿度(M)、気圧(AP)、通行人数(P)、微粒子数($\Delta 0.5$: 0.3-0.5 μm , $\Delta 1.0$: 0.5-1.0 μm , $\Delta 5.0$: 1.0-5.0 μm)を含む。環境因子と微粒子数は、30分間隔でオンサイトで取得した観察値である。浮遊菌数は、2時間毎にフィルターにトラップされかつ培地に形成された集落総数である。まずRにて温度、湿度、気圧、通行人数の環境因子60セットを2成分に圧縮した。その結果、第一主成分の合成変数の主体は、T(-0.62)とM(-0.647)であり、第二成分は、AP(-0.825)とP(0.501)が合成変数の主体を構成していた。第一主成分と第二主成分の累積寄与率は、それぞれ0.544と0.295であった。60セットにそれぞれ付与されたこれら二つの合成変数を用いて散布図を作成すると、これらセットは、採取した日毎に明確に4つのグループ(G1-G4)に分かれた。4つのグループの合成変数の特性から、それぞれのグループの特徴がG1(T↓M↓/AP↑P↓)(2016年5月2日)、G2(AP↓P↑)(2016年6月5日)、G3(AP↑P↓)(2016年7月5日)、G4(T↑M↑/AP↑P↓)(2017年7月15日)であることが判明した。微粒子数との関連は、微粒子径に依存しその動態が大きく異なることが明らかになった。具体的には、 $\Delta 5.0$ は、G4からG1に向けてその数は有意に増加した。一方、 $\Delta 0.5$ ではG1からG4に向けてその数は有意に増加した。 $\Delta 1.0$ では、そのような傾向は認められなかった。浮遊性菌数だが、SCDとR2Aどちらの培地に形成された集落数もG2で突出しその数は他群のそれと比較し有意に増加していた。G2は、AP↓P↑の特徴が顕著なグループであり、通行人数の増加が、閉鎖空間内の浮遊菌数の変化に寄与することが明らかになった。G2は、2016年7月5日に採取されたものだが、この日は天候が悪く気圧の低下と共に雨模様の日であり、多くの通行人がオープンスペースから地下歩行空間に移動したと考えられる。また大部分の細菌サイズは $\Delta 5.0$ に含まれると類推されるが、サイズが類似しているにも関わらず微粒子の総数($\Delta 5.0$)と浮遊菌数の動態には乖離が認められた。

医療関連感染予防のための実用化を見据えた検証: 温度制御を施した手すり型デバイス上での大腸菌の生存性について

○今野綾乃、盛永和樹、大久保寅彦、山口博之

北大院・保科・病態解析

【背景・目的】手すりやドアノブ等の高頻度接触面には様々な病原細菌が付着しており、これらの場所を介して広がる医療関連感染が世界中で問題となっている。通常、高頻度接触面の清掃には消毒剤が使用されるが、薬剤耐性菌の発生リスクやコストの問題から新たな制御法の開発が求められている。本研究室では、乾燥物質表面の温度を人肌に温めることで付着する大腸菌の生存率が顕著に低下することを発見した(PLoS ONE, 2019)。今回は、私達が以前取得した病院内乾燥面の環境データと菌数との関連性について(BMC Res notes, 2015)、主成分解析を用いて再解析すると共に、院内環境への実装を見据え温度制御可能な手すり型デバイスを作成し、その乾燥面での大腸菌の生存制御に表面の加温が与える効果を検証した。【方法】主成分解析: 札幌市内 3 病院の高頻度接触面(n=66)の汚染度(CFU)と環境因子(温度、湿度、人数)との関係性を R を用いて主成分解析により検証した。手すりデバイス: ステンレス製の手すり模型(33x3x3cm)にハンドルヒーター(OPMID)を取り付け作成した。手すり上での大腸菌の生存性の検証: 大腸菌 DH5 α を用いて 10¹⁰cfu/mL の菌液を調製し、これを両面テープの剥離紙側に 10 μ L ずつ接種し、孵卵器で完全に乾燥させた。乾燥直後と恒温恒湿機内(15°C/55%RH)にデバイス上で 18-72 時間放置した際の生存菌数を比較した(ヒーターに隣接場所の温度は 37-40°C 程度であったがそこからの距離に依存して手すり上の温度は低下した)。またその妥当性を検証するために、生菌率を LIVE/DEAD BacLight Viability Kit (Thermo)で染色したのち蛍光顕微鏡で生菌面積/総菌面積比を求めることにより評価した。有意差検定: Bonferroni/Dunn 法による多重比較検定を用いた。【結果・考察】主成分解析の結果、乾燥面の環境パターンは温度・湿度・人数から抽出された 2 つの因子負荷量の組み合わせにて 4 つのグループに分類され、湿度と温度低下が顕著な乾燥面において生菌数の有意な増加が認められた。ヒーターデバイス上での実験では、生菌数はヒーターからの距離が近く放置時間が長い程有意に低下した。LIVE/DEAD 染色でも同様の傾向が確認された。以上より、手すりの加温は表面に付着する大腸菌の生存制御に効果的であることが示唆され、臨床への応用が期待される。(非会員共同研究者: 藤井菜央、榎枝秀朗、宇野智子、矢野理香)

低温調理における耐熱性細菌・非耐熱性細菌の死滅条件の解明

○中野瞳¹ 福田昭¹ 中島千絵² 鈴木定彦² 白井優¹

¹酪農学園大学獣医学類食品衛生学ユニット

²北海道大学人獣共通感染症国際共同研究所バイオリソース部門

【目的】

近年、食品の低温調理が注目を集めているが、加熱が不十分であった場合、食中毒の危険性が高いことが指摘されている。また、食品を汚染する細菌の中には、比較的高温に耐える性質をもつ耐熱性細菌が存在することが知られている。そこで今回、耐熱性細菌の低温調理時の死滅条件を明らかにするため、耐熱性細菌の食品添加/加熱試験を行った。

【材料・方法】

耐熱性細菌として耐熱性遺伝子 *clpK1*、*clpK2* を持つ大腸菌、対照として大腸菌 K12 株を使用した。牛乳および牛肉に、細菌を接種後、低温調理を想定した条件を含む様々な条件で加熱処理を行い、継時的に生菌数を測定した。

【結果・考察】

牛乳は、低温保持殺菌法(63°C, 30分)と超高温瞬間殺菌法(100°C, 3秒)を想定した方法で加熱した結果、低温保持殺菌法において K12 株は 16 分の加熱で死滅したが、耐熱性細菌は 30 分の加熱でも生存した。一方、超高温瞬間殺菌法では、K12 株・耐熱性細菌共に 3 秒の加熱で死滅した。

牛肉は、低温調理を想定して、55°C60分または 60°C30分の条件で加熱したところ、耐熱性細菌は、55°C60分または 60°C30分の加熱でも生存した。一方、K12 株は 55°C60分または 60°C30分の条件で死滅した。耐熱性細菌を死滅させるには、60°Cの場合 60分を要した。

以上の結果から、耐熱性大腸菌は、加熱温度が不十分な場合、加熱時間を延長しても死滅しないことが明らかとなった。耐熱性細菌の存在も想定した、低温調理時の、加熱温度・加熱時間を検討することが重要であることが示された。

バルクタンクミルクから分離されたプロトテカおよび酵母様真菌の解析

○豊留 孝仁^{1,2,3} 松井 詩¹

¹帯広畜産大学 獣医学研究部門 ²帯広畜産大学 動物・食品検査診断センター

³千葉大学・真菌医学研究センター

ウシの乳房炎は乳牛における主要な疾患の一つであり、乳量や乳質等に悪影響を与えて経済的な損失を与えるだけでなく、動物福祉の観点からも大きな問題である。乳房炎の主要な原因は細菌であるが、酵母様真菌や病原性藻類プロトテカも乳房炎原因微生物として認識されている。抗細菌薬不応答性や難治性であり、非常に重要な病原微生物であるが、どのような種がどの程度原因となっているかは十分なデータが揃えられていない。本研究では、2020年4月から2021年3月に十勝地方で集められたバルクタンクミルクより分離された276株の酵母様真菌およびプロトテカの種同定を行った。この中で92株はプロトテカであり、全て *Prototheca bovis* と同定され、他の *Prototheca* 種は得られなかった。酵母様真菌は184株であり、*Pichia kudriavzevii* が97株と最多であった。いずれも通年で分離がなされていた。また、同じ農場由来のバルクタンクミルクから繰り返し検出される傾向も見出された。*Kluyveromyces marxianus* は2番目に多い酵母様真菌種であり、*Candida parapsilosis* は4番目に多い酵母様真菌種であったが、これらの検出は散発的であり、それぞれ冬季及び夏季に多い傾向が見られた。このことから外気温等のストレスによる日和見での感染増悪であることが推測された。3番目に多い酵母様真菌種 *C. akabanensis* と5番目に多い酵母様真菌種 *Pi. cactophila* は限られた農場のバルクタンクミルクから分離されており、主に冬季に検出された。これらの結果から、先行研究でも示されていたが、プロトテカ乳房炎の原因は *P. bovis* が主要であることを確認できた。また、酵母様真菌においては *P. kudriavzevii* が主要であることを明らかとした。様々な酵母様真菌種が検出されたが、ストレス等による一過的感染増悪により検出された示唆されるケースも含まれており、乳牛の健康維持も発症や増悪を防ぐために重要であることが示唆された。

北海道で分離された無莢膜型肺炎球菌のペニシリン結合蛋白のアミノ酸変異の解析

○川口谷充代¹ 漆原範子¹ Meiji Soe Aung¹ 伊藤政彦² 工藤兼司² 幅寺敏²
小林宣道¹

¹札幌医科大・医・衛生学 ²札幌臨床検査センター株式会社

【目的】我々は、肺炎球菌結合型ワクチン導入後の 2011 年から 2019 年に分離された、現行のワクチンで予防することができない無莢膜型肺炎球菌とその薬剤耐性傾向を調査し、全菌株の 67.6%がペニシリンに非感受性を示したことを報告した (Kawaguchiya et al. 2021, Int. J. Infect. Dis 105:695)。本研究では、無莢膜型肺炎球菌を対象に、 β -ラクタム系薬剤耐性化に関与する細胞壁合成酵素のペニシリン結合蛋白 (PBP ; Penicillin-binding protein) の推定されるアミノ酸変異をその遺伝子配列を基に解析したので報告する。

【方法】2011 年 1 月～2019 年 1 月に、北海道内の医療機関で分離された非侵襲性感染症由来肺炎球菌 4463 株のうち、無莢膜型肺炎球菌 71 株 (ペニシリン非感受性株; 48 株、ペニシリン感受性株; 23 株) を対象とした。全 71 株に対し、細胞壁合成酵素 PBP の *pbp1a*, *pbp2x*, *pbp2b* 遺伝子にあるトランスペプチダーゼ (TP) ドメインのアミノ酸変異をシークエンス解析で確認した。

【結果】PBP1a の TP ドメインにおいては、370STMK373 の T371S 変異 (76.0%) と 428SRNVP432 の P432T 変異 (71.8%)、TSQF574-577NTGY へのアミノ酸置換 (76.0%) が高頻度で見られ、その 80.4–81.5%がペニシリン非感受性株であった。PBP2b では 442SSNT445 の T445A 変異 (81.7%) が、PBP2x においては 337STMK340 の T338A 変異 (77.5%) と 546LKSGT550 の L546V 変異 (91.5%) が多く検出された。一方、394HSSN397 において H394L 変異が見られたが、その多く (83.3%) はペニシリン感受性であった。無莢膜型肺炎球菌の TP ドメインには多数の変異とその様々なパターンが存在し、それは特に PBP2x において顕著であった。

【結論】研究の結果より、これまで報告のある莢膜を有する肺炎球菌よりも、無莢膜型肺炎球菌において PBP 変異の多様性が高いことが示唆された。無莢膜型肺炎球菌の疫学的調査は世界的にも極めて少ないため、調査の継続が必要であると思われる。

病院スタッフ・歯科受診患者の口腔・手指に分布するブドウ球菌種の分子疫学的解析

○廣瀬弥奈¹ Meiji Soe Aung² 藤田裕介¹ 加藤大生¹ 八幡祥子¹
福田敦史¹ 齊藤正人¹ 小林宣道²

¹北海道医療大・歯・口腔構造・機能発育学系 小児歯科学分野

²札幌医科大・医・衛生学

【目的】近年、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）をはじめとする薬剤耐性ブドウ球菌の市中への拡がり懸念されている。本研究では、病院スタッフと患者の口腔および手指の皮膚におけるブドウ球菌の保有状況を調べ、その分子疫学的特徴に関し解析を行った。

【方法】2019年12月からの1年3か月間、同意の得られた者を対象に、唾液と手指スワブを採取した。対象者は北海道医療大学病院とクリニックのスタッフ42名、全身の健康状態は良好な歯科受診患者91名の合計133名（0～83歳）で、患者のうち17名からは口腔内感染病巣の検体も採取した。ブドウ球菌用選択培地を用いて好気培養を行ない、ブドウ球菌を分離培養後、DNAを抽出し、PCRにより *mecA*、PVL 遺伝子等を検出した。コアグララーゼ(*coa*)陽性株については、PCRによる NRPS 遺伝子の検出後、*coa* 遺伝子型別、MLST 解析、メチシリン耐性株に対しては SCC*mec* 型別を行った。*coa*陰性ブドウ球菌(CoNS)は、16SrRNA 遺伝子の解析により菌種を同定した。18種類の抗菌薬への感受性を微量液体希釈法により測定し、薬剤耐性遺伝子および病原遺伝子をPCRにより検出した。

【結果】被験者のうち59名から、計83株の *S. aureus*、4株の *S. argenteus* が分離された。これらの分離陽性者は病院スタッフの38%（16人）、歯科受診患者の47%（43名）に相当し、唾液・口腔病巣からの分離数（55株）は手指からのそれ（25株）よりも多かった。CoNSは162株が分離され、その多く（141株）は手指皮膚に由来した。MRSAは3株同定され、その遺伝子型は *coaIIIa*-SCC*mecIV*I-ST8、*coaIIIa*-SCC*mecIVa*-ST6562、*coaVIIa*-SCC*mecIVa*-ST4775 であり、ST6562株はPVL遺伝子(Φ Sa2usa)と type I-ACME を保有していた。後者の株はPVL遺伝子を保有していた。メチシリン感受性黄色ブドウ球菌では17のSTが同定され、ST15(10株)、ST8、ST12、ST97、ST188(各7株)、ST30(6株)、ST45、ST121(各5株)、ST20(4株)の順に多かった。*S. argenteus* は歯科患者から分離され、ST1223、ST2250に型別された。CoNSは計14種が同定され、*S. warneri*、*S. capitis*、*S. saprophyticus*、*S. epidermidis* の順に多かった。*mecA* 保有株は10株（8%）で *S. saprophyticus* に最も多かった。

【考察】ST6562は本研究で新規に同定されたSTであり、このMRSAは米国で優勢な市中感染型MRSA（USA300クローン）に類似した遺伝子学的特徴を有する。そのためその分布や病原性には今後注意を払う必要があると考えられた。

北海道におけるウェルシュ菌臨床分離株の各種毒素遺伝子保有状況と分子疫学的特徴

○Meiji Soe Aung¹ 松田亜沙美¹ 漆原範子¹ 川口谷充代¹
大橋伸英¹ 伊藤政彦² 幅寺敏² 小林宣道¹

¹札幌医科大・医・衛生学 ²札幌臨床検査センター

【目的】ウェルシュ菌 (*Clostridium perfringens*) はグラム陽性偏性嫌気性桿菌でヒトおよび動物の腸管、土壌など自然界に広く分布する。ヒトでは食中毒、ガス壊疽、敗血症等の原因となることが知られ、疾患の発現には本菌が産生する各種毒素が関与している。本邦におけるウェルシュ菌の毒素産生性、遺伝子型については、あまり良く調べられていない。本研究では北海道におけるウェルシュ菌臨床分離株の疫学的特徴を明らかにすることを目的として、各種毒素遺伝子保有状況、毒素保有株の遺伝子型を解析した。

【方法】2017年1月～2018年3月、2019年5月～2020年12月の期間に分離されたウェルシュ菌各々798、585株を対象とした。これらは北海道内の医療機関から札幌臨床検査センターに送付された臨床材料より分離培養され、質量分析により同定された。多重PCRにより8種類の毒素遺伝子 (*alpha*-, *beta*-, *epsilon*-, *iota*-toxin, enterotoxin (*cpe*), *beta*-2 toxin (*cpb2*), *netB*, *bec/cpile*) の検出を行い、毒素型を分類した。Xiaoらのスキームによる多座位配列型別法(MLST)に基づいて ST (sequence type) を決定し、STの関連をBURSTおよびGrapeTreeを用いて解析した。さらに各毒素遺伝子の配列を決定し解析した。

【結果】いずれの期間においても、5種類の毒素遺伝子 (*alpha*-, *cpe*, *cpb2*, *netB*, *bec/cpile*) が検出された。本菌種の全株が保有する *alpha*-toxin 以外では、*cpe* が最も多く見られ (検出率 32-34%)、他の毒素遺伝子の検出率は 1.4%以下であった。*bec/cpile* は 2株のみに検出された。毒素型は大部分が A型 (65-68%) と F型 (32-34%) に分類された。全分離株の中から毒素遺伝子のプロファイルの異なる 124株を選び STを決定した。その結果、53の新規の型を含む 62の STが同定され、主要な6種の CC (clonal complex) が明らかとなった。調べられた中で最も多かったのは ST41で、これを含め CC) 41に型別されたのは 56株であった。エンテロトキシン遺伝子 (*cpe*) 保有株では CC36, CC41, CC117が多数を占めた。*bec/cpile*を保有する2株は、異なる ST (ST95, ST131) に型別され、2株の間で *bec/cpile* 遺伝子配列、*alpha*-toxin 遺伝子に違いが見られた。STを決定した 124株の *alpha*-toxin (PLC) の配列は4つの PLCタイプと 22のサブタイプに分けられ、ST (CC) との関連も認められ、型別法としての有用性が示唆された。

Molecular epidemiological characterization of *Staphylococcus aureus* clinical isolates in tertiary care hospitals in Myanmar

○Meiji Soe Aung¹ Thida San² Nilar San³ Win Mar Oo³ 漆原範子¹ 川口谷充代¹
小林宣道¹

¹札幌医大・医・衛生学 ²Yangon Children's Hospital, Myanmar

³Pinlon Hospital, Yangon, Myanmar

[Background] *Staphylococcus aureus* is one of the most common human pathogens causing a wide spectrum of infections ranging from superficial skin infections to invasive life-threatening infections. The occurrence and spread of MRSA have been a global public health concern in both health care settings and community. In Myanmar, only limited information is available on *S. aureus* clinical isolates. This study explored the molecular epidemiology and genetic traits of *S. aureus* clinical isolates in two hospitals in Yangon, Myanmar.

[Methods] A total of 483 *S. aureus* isolates were collected from clinical specimens during 2017-2019 (239 from a private tertiary care hospital (YPH) and 244 from a national pediatric hospital (YCH)). Species identification was done by VITEK 2 compact system and genetically confirmed by multiplex PCR. Genotypes including SCCmec type, PVL phage type, agr type, spa type and ST were determined by PCR and sequencing as necessary.

[Results] Prevalence of MRSA among all the *S. aureus* isolates was 13.8% and 19.7% in YPH and YCH, respectively. Among SCCmec of MRSA, type IV and V were dominant, while type III was also detected. The overall detection rate of PVL genes was 34% (YPH) and 62% (YCH), with a higher rate in MRSA (67%, YPH) or MSSA (68%, YCH). In YPH, common PVL-positive clones were ST772-MRSA-V (i.e., Bengal Bay clone), and ST88, ST121, and ST2990 MSSA. In contrast, ST239-MRSA-III and ST361-MRSA-V were the most frequently detected in YCH, showing low rate of PVL genes (0% and 30%, respectively). In the two hospitals, the same MSSA clones were commonly detected. Two MRSA isolates in YPH were classified into ST8/SCCmec-IVa, harboring PVL genes on Φ Sa2usa and ACME, which are the genetic traits of USA300 clone. ST772-MRSA-V and ST239-MRSA-III showed multiple drug resistance, harboring various resistance genes and mutations in the quinolone-resistance determining region.

[Conclusions] The present study in the two hospitals revealed the prevalence of MRSA and PVL, and clonal diversity of MRSA and MSSA clinical isolates in Myanmar, showing the potential spread of PVL-positive ST772-MRSA clone. In the two hospitals, the genetic traits of *S. aureus* were different, which were considered to be related to the attributes of patients.

特別講演

黄色ブドウ球菌食中毒とその嘔吐発現機序

小野 久弥

北里大学獣医学部獣医学科 人獣共通感染症学研究室

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*) による食中毒は世界中で発生しており、ヒトや家畜・家禽に定着している黄色ブドウ球菌が食品を汚染することで発生する。黄色ブドウ球菌による食品の汚染防止および食品保存中の本菌の増殖阻止を徹底することにより、我が国ではブドウ球菌食中毒の発生事件数が劇的に減少した。しかしながら、2000年に本菌で汚染された加工乳を原因とする大規模食中毒事件が発生しており、黄色ブドウ球菌は依然として衛生管理を怠ると甚大な事件を起こしうる公衆衛生上重要な菌である。

黄色ブドウ球菌食中毒は1930年にDackらの研究により、本菌自体の感染が原因ではなく、本菌が産生するブドウ球菌エンテロトキシン(SE)によって起こることが明らかになった。SEは現在29種類報告されており、個々のSE分子間でアミノ酸配列の相同性は低い、そのタンパク質立体構造はよく似ているという特徴を持っている。また、本毒素は種々の生物活性を有することが知られているが、食中毒における嘔吐発症メカニズムはこれまで不明であった。SEは霊長類に対し強力な嘔吐誘導活性を示すため、SEの嘔吐活性の評価には霊長類を使用することが推奨されており、カニクイザルおよびアカゲザルがSE研究の黎明期からモデル動物として使用されてきた。その後、我々の研究グループが確立したスunksのほか、フェレットやブタが嘔吐モデルとして利用された。我々は多くの新規SEを発見するとともに上記のモデル動物を用いて生物活性を明らかにしてきた。近年、我々は小型霊長類であるコモンマーモセットを用いた嘔吐モデルを世界で初めて確立するとともに、コモンマーモセット嘔吐モデルを用いて組織学的および薬理的解析を行うことでSEが嘔吐反射を引き起こすメカニズムを明らかにした。本講演では嘔吐に関わるSEの生物活性と現在までに明らかになったSEによる嘔吐発現機序をお示ししたい。

日本細菌学会 北海道支部会賞選考

選考対象者

- 演題 1 松田 泰幸
- 演題 2 上村 幸二郎
- 演題 3 李 睿語
- 演題 4 張 賽成
- 演題 5 土屋 地郎
- 演題 7 森 沙彩
- 演題 8 盛永 和樹
- 演題 10 今野 綾乃
- 演題 11 中野 瞳

※現地参加の皆様へ

日本細菌学会北海道支部会賞に相応しいと思われる発表者 3 名を選び、投票用紙に記載されている演題番号を○で囲んでください。

投票用紙は一般演題セッション 1 開始時に配布いたします。一般演題セッション 4 終了後から特別講演開始前までに（14：20～15：20）、会場に設置する投票箱に入れてください。

第 87 回 日本細菌学会北海道支部学術総会 事務局

〒060-8556 札幌市中央区南 1 条西 17 丁目 札幌医科大学
医学部衛生学講座

Tel: 011-611-2111 (内線 27330)

E-mail: [nkobayas\[at\]sapmed.ac.jp](mailto:nkobayas@sapmed.ac.jp)

学術総会長： 小林 宣道（札幌医科大学医学部衛生学講座 教授）