
東京都微生物検査情報

MONTHLY MICROBIOLOGICAL TESTS REPORT, TOKYO

第 37 卷 第 8 号
2016 年 8 月号
月 報

 東京都健康安全研究センター

<http://idsc.tokyo-eiken.go.jp/>

ISSN 1883-2636

臨床微生物分野における検査・解析事例

当センターでは、都内医療機関から搬入された検体を対象に、感染症法に基づいた細菌検査を行っている。このうち、今回は劇症型溶血性レンサ球菌とジフテリア菌について行った検査・解析事例を紹介する。

1. 都内の劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者から分離されたレンサ球菌の菌型(2010年～2015年)

感染症法において、五類感染症の全数把握対象疾患に指定されている劇症型溶血性レンサ球菌感染症(以下劇症型と略)は、溶血性レンサ球菌を原因菌として、筋膜などの軟部組織の壊死性炎症を伴い急速に全身状態が悪化してショックや多臓器不全を起こす、致死率の高い重篤な疾患である。

東京都における劇症型の届出数は、2010年頃までは年間10から20例程度であったが、2011年以降は20例を超す届出がみられ、増加傾向が続いている。昨年(2015年)は60例を超え2014年の1.5倍となった。本年(2016年)も35週現在で、すでに50例の届出がある。この傾向は、全国の届出数の推移にも同様の増加傾向として表れている(図1)。

東京都では、感染症発生動向調査事業へ協力が得られた医療機関で、劇症型患者から分離されたレンサ球菌については積極的疫学調査として菌株を確保し、疫学解析を実施している。

2010年から2015年に菌株確保ができた株について表1に示した。Lancefield分類による群別で、最も多かったのはA群(90株)であり、次いでG群(29株)、B群(19株)、C群(2株)及び群別不能(1株)の順であった。A群レンサ球菌90株中86株は、*Streptococcus pyogenes*であり、そのT血清型は、1型(28株:32.5%)、B3264型(15株:17.4%)、12型(9株:10.5%)等が多くみられた。一方、*S.pyogenes*以外の菌種では、B群レンサ球菌は、すべて*S.agalactiae*であり、A群レンサ球菌4株、C群レンサ球菌1株及びG群レンサ球菌29株の合計34株は、*S.dysgalactiae* spp. *equisimilis*であった。また、C群レンサ球菌の残り1株は*S.anginosus*であり、群別不能の1株は*S.constellatus*であった。

B群レンサ球菌は、2014年に5株、2015年に10株と2013年以前に比べ増加していた。その血清型は、Ib型が最も多く6株、次いでIII型が4株であり、この2つの型で半数を占めた(表2)。

また、*S.dysgalactiae* spp. *equisimilis*は、*S.pyogenes*が菌体表層蛋白質として保有しているMタンパク質に良く似た物質(M-like protein)を持っているため、Mタンパク質をコードする*emm*遺伝子の配列と同様にCDCのデータベースに照会することで*emm*型別を行うことができる。供試34菌株について*emm*型別を実施した結果、stG6792型が最も多く14株(41.2%)、次いでstG485型が5株(14.7%)など10種類の型に分類することができた(表3)。

近年、劇症型が増加している原因は不明であるが、今後もさらに増加する可能性もあるため、型別等により流行を把握・監視して行くことが重要である。

1) Centers for Disease Control and Prevention :

Streptococcus pyogenes database.

<http://www2a.cdc.gov/ncidod/biotech/strepblast.asp>

2)清水可方, 他, 感染症誌, 67, 236-9,1993

3)奥野ルミ, 他, 感染症誌, 78, 10-17,2004

(病原細菌研究科 奥野ルミ)

2. ジフテリア毒素非産生 *Corynebacterium diphtheriae* の解析事例

ジフテリア(diphtheria)は2類感染症に分類され、ジフテリア菌(*Corynebacterium diphtheriae*)の感染によって起こる急性疾患である。ジフテリア菌の病原因子はジフテリア毒素であり、咽頭に感染すると偽膜を形成し、呼吸困難や肺炎の併発、重症化による昏睡や心筋炎などの全身症状を起こす。我が国における患者数は、1945年には約8万6千人(その約10%が死亡)であったが、ジフテリアを含む三種混合ワクチン(ジフテリア・百日咳・破傷風:DPT)の普及とともにジフテリアの発生数は激減し、近年では1999年7月に岐阜県での発生が報告されてい

る¹⁾。

2015年12月に都内医療機関から管轄保健所を通じ、ジフテリア菌疑いの菌株の検査依頼が約30年ぶりにあった。当センターにて解析を行った結果、2類の診断基準には該当しない、ジフテリア毒素非産生のジフテリア菌 (*Corynebacterium diphtheriae*) であることが判明したのでその概要を報告する。

患者(24歳)は、2015年11月下旬から咳、痰、発熱の症状があり、都内医療機関を受診したところ肺炎像が確認された。当初、医療機関では結核を疑ったが抗酸菌検査は陰性であった。その一方、喀痰から分離された菌は生化学性状による同定キットにて *C. diphtheriae* と判定された。このことから医療機関はジフテリアを疑い、確認検査を目的として菌株が搬入された。

当センターにて16SrRNA遺伝子とrpoB遺伝子²⁾のシークエンス解析を実施した結果、当該株は *C. diphtheriae* であると判定された。また、*C. diphtheriae* に種特異的とされるDtxR遺伝子のPCR検査³⁾も陽性であった。この結果から、当該株は細菌学的にジフテリア菌であることが確認された。

しかし、届出基準では菌株のジフテリア毒素産生性の確認が必要である。そこで当該株のジフテリア毒素遺伝子(Tox)についてPCR検査⁴⁾を行ったが、結果は陰性であった。また、国立感染症研究所から分与された毒素及び抗毒素を使用し、免疫沈降反応を利用した毒素検出法(Elek法⁵⁾)を実施したところ、ジフテリア毒素の産生性は認められなかった。

以上の結果から、当該株はジフテリア毒素非産生の *C. diphtheriae* であり、感染症法上ではジフテリア菌としての届出基準を満たさないと判定した。

本株の特徴を詳細に調べるために、次世代シーケンサー(NGS)を用いた全ゲノム解析を行った。NGSによって得られた当該株のドラフトゲノム配列をゲノムデータベース上の *C. diphtheriae* の配列⁶⁾と比較したところ、Tox遺伝子(約1,500塩基)だけでなく、Tox遺伝子の前後を含めた約40,000塩基が欠落していることが判明した。この欠落していた塩基部分は、ジフテリア毒素を媒介

するバクテリオファージが宿主である *C. diphtheriae* の染色体に溶原化した領域(プロファージ)であることが知られている。これらから、当該株はTox遺伝子を含むプロファージ全体が欠落している株であることが明らかとなった。

近年、臨床現場を中心にジフテリア毒素を産生しない *C. diphtheriae* が検出される事例が散見されており^{7,8)} 肺炎症状を呈する例も報告されている⁹⁾ ことから、本事例のように緊急な毒素産生性の鑑別診断が求められる場合が今後も想定される。

- 1) 伊藤ら, IASR, **20**, 302-303, 1999
- 2) Khamis et al., J. Clin. Microbiol., **42**, 3925-3931, 2004,
- 3) Pimenta et al., J. Med. Microbiol., **57**, 1438-1439, 2008
- 4) Pallen, J. Clin. Pathol. **44**, 1025-1026, 1991
- 5) Elek, Br. Med. J., **13**, 493-496, 1948
- 6) Cerdeño-Tárraga et al., Nucleic Acids Res., **31**, 6516-6523, 2003
- 7) 中嶋ら, IASR, **28**, 201-202, 2007
- 8) 堀江ら, IASR, **32**, 112-113, 2011
- 9) 本間ら, 新潟県臨床検査技師会誌, **49**, 210-215, 2009

東京都健康安全研究センター

病原細菌研究科:

久保田寛顕、奥野ルミ、内谷友美、畠山 薫

鈴木 淳、新開敬行

微生物部: 貞升健志

協力機関

東京都保健医療公社大久保病院:

杉田知妹、古宇田寛子、上田玲子、小倉健一
自治医科大学総合診療内科/感染症科:

畠山修司

新宿区保健所: 渡部ゆう、石原恵子

東京都福祉保健局健康安全部感染症対策課:

カエベタ亜矢、西塚 至、杉下由行

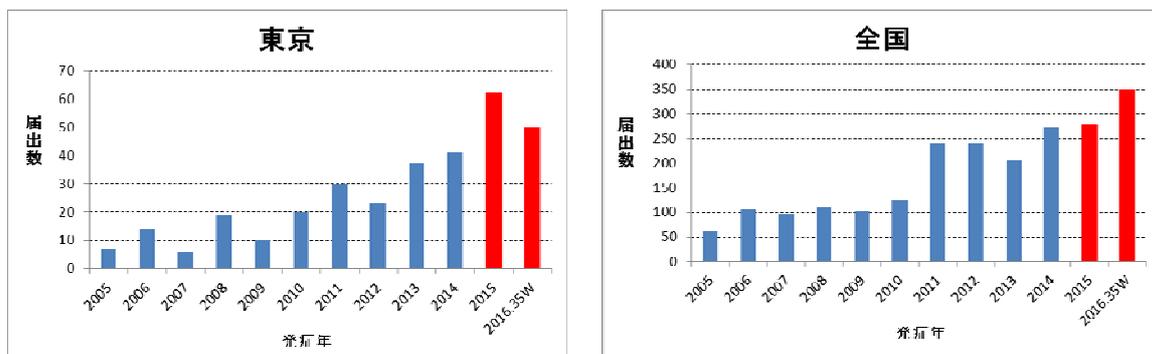


図 1. 劇症型溶血性レンサ球菌感染症発生届出数の年次推移

表 1. 2010 年から 2015 年に搬入された劇症型溶血性レンサ球菌感染症患者由来株の群別状況

発症年	Lancefield 分類 群別				合計
	A	B	C	G	
2010	5	1		3	9
2011	9	2		8	19
2012	9	1		3	13
2013	13			6	19
2014	23	5		2	31
2015	31	10	2	7	50

表 2. B 群レンサ球菌 (*S.agalactiae*) の年次別 血清型別 (東京都)

発症年	血清型							合計	
	Ia	Ib	II	III	IV	V	VI		VII
2010			1						1
2011		1	1						2
2012	1								1
2013									0
2014	1	1		1	1	1			5
2015		4		3			1	1	10
計	2	6	2	4	1	1	1	1	19
%	10.5	31.6	10.5	21.1	5.3	5.3	5.3	5.3	100

表 3. *S.dysgalactiae* spp. *equisimilis* の年次別 emm 型別 (東京都)

発症年	emm 型										合計
	stC36	stC74a	stG245	stG480	stG485	stG4974	stG62647	stG643	stG653	stG6792	
2010						1				3	4
2011	1		1	1					1	4	8
2012					1					2	3
2013			1	1	1	1				3	7
2014		1			1					1	3
2015	1		1		2	1	1	1	1	1	9
計	2	1	3	2	5	3	1	1	2	14	34
%	5.9	2.9	8.8	5.9	14.7	8.8	2.9	2.9	5.9	41.2	100

表1 病原体搬入・検出状況(4種等)*

2016年8月分

機関名	コレラ菌	赤痢菌	チフス菌	パラチフスA菌	腸管出血性大腸菌	結核菌
区	千代田区		1		1	
	中央区				3	
	港区		1		1	
	新宿区		1	1	8	
	文京区		4			
	台東区					
	墨田区				3	
	江東区				1	
	品川区				1	
	目黒区				1	
	大田区				3	2
	世田谷区				9	
	渋谷区				3	
	中野区				4	
	杉並区					
	豊島区				1	
	北区				1	
	荒川区					2
	板橋区				1	
	練馬区				4	1
足立区				14		
葛飾区						
江戸川区				7	1	
市	町田市				5	
	八王子市				9	
小計		7	1		80	6
都	西多摩					1
	多摩立川		1		4	
	南多摩				2	2
	多摩府中				10	1
	多摩小平				6	
	島しょ					
小計		1			22	4
合計		8	1		102	10
健康安全研究センター 検出分		2			14	

*2016年4月より、各保健所から搬入された検体を集計することとした。

表2 検体搬入状況(全数把握対象疾患-五類)*

2016年8月分

	検体数	2016年累計
侵襲性インフルエンザ菌感染症(菌)	6	26
侵襲性髄膜炎菌感染症(菌)		3
侵襲性肺炎球菌感染症(菌)	6	79
カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症(菌)	10	56
播種性クリプトコックス症(菌)		9
合計	22	173

※2016年4月(第37巻・第4号)から追加

表3 病原微生物検出状況(食中毒関連)

2016年8月分

	病原体名	検体数	2016年累計
細菌	大腸菌		
	毒素原性	16	16
	組織侵入性		
	病原血清型		
	腸管出血性	19	38
	その他・不明		
	サルモネラ		
	O4	1	8
	O7	1	4
	O8		1
	O9		1
	その他		
	不明		
	腸炎ビブリオ	7	8
	その他のビブリオ		1
	カンピロバクター	16	142
	黄色ブドウ球菌	11	11
A型ウエルシュ菌		68	
ボツリヌス菌			
セレウス菌			
ウイルス	ノロウイルス(G I)		90
	ノロウイルス(G II)	4	640
	ノロウイルス(G I, G II)	1	16
	ロタウイルス		
	サポウイルス		1
寄生虫	アニサキス	4	17
	クドア	1	1
合計		81	1014

表4 HIV 検査数及び陽性数

2016年8月分

	男性		女性		性別不明		合計	
	検査数	陽性数	検査数	陽性数	検査数	陽性数	検査数	陽性数
東京都南新宿検査・相談室	578	3	197	0	0	0	775	3
保健所等	125	6	54	0	0	0	179	6
合計	703	9	251	0	0	0	954	9
2016年累計	5,285	68	2,067	0	3	0	7,355	68

表5 性感染症検査数及び陽性数

2016年8月分

	梅毒検査		クラミジア遺伝子検査		淋菌遺伝子検査	
	検査数	陽性	検査数	陽性	検査数	陽性
東京都南新宿検査・相談室	437	23	0	0	0	0
保健所等	152	4	151	5	79	0
合計	589	27	151	5	79	0
2016年累計	4,946	259	2,012	107	1,490	5

表6 定点把握疾患別病原体分離状況（ウイルス）

2016年分

定点種別	対象疾患名	検出病原体	6月	7月	8月	合計
小児科	咽頭結膜熱	アデノウイルス	5	3		8
	流行性耳下腺炎	ムンプスウイルス	7	7	6	20
インフルエンザ	インフルエンザ及びインフルエンザ様疾患 (ILI)	インフルエンザウイルスAH3	1		2	3
		インフルエンザウイルスB型Yamagata系統	1			1
眼科	流行性角結膜炎	アデノウイルス		1		1
基幹	無菌性髄膜炎	エンテロウイルス			1	1
		ムンプスウイルス		2		2

◆東京都微生物検査情報◆

2016年 9月 29日

編集・発行

東京都健康安全研究センター

〒169-0073

東京都新宿区百人町 3-24-1

TEL:03-3363-3213

FAX:03-5332-7365

S0000786@section.metro.tokyo.jp

<http://idsc.tokyo-eiken.go.jp/>