

資料

神奈川県における腸管出血性大腸菌の
 検出状況 (平成20年度)

石原ともえ, 伊東久美子, 黒木俊郎

Occurrence of enterohemorrhagic
Escherichia coli
 in Kanagawa Prefecture (2008)

Tomoe ISHIHARA, Kumiko ITOH
 and Toshiro KUROKI

腸管出血性大腸菌 (enterohemorrhagic *Escherichia coli*: 以下, EHEC と略す) は平成11年4月に施行された「感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律」(平成10年10月2日法律114号) (以下, 感染症法と略す) 第1章, 総則で三類感染症に分類され, EHEC 症の患者と診断した医師は, 保健所長を経由して都道府県知事に届け出なければならない。これを受けて, 保健所は分離された菌株をそれぞれの地方衛生研究所 (以下, 地研と略す) に送付している。地研は集められた菌株について生化学的性状, 血清型, 毒素型等を確認したのち, 通知^{1,2)}により国立感染症研究所 (以下, 感染研と略す) 細菌第一部に送付して

いる。全国から送付された菌株について感染研は, 分子疫学的調査の手法としてパルスフィールド・ゲル電気泳動 (以下, PFGE と略す) 解析を実施して, 全国レベルの大規模な集団発生や散発的集団発生 (diffuse outbreak), すなわち「一見散発事例の多発に見えるが, 実は同じ原因で起こっている集団事例」を探索し, 感染の拡大と大規模化の抑止に力を注いでいる。また, 感染研で得られた PFGE の結果は, それぞれの地研に還元されている。

当所においても, 地域における感染拡大防止のため, 送付されたすべての EHEC 菌株について PFGE 解析を実施した。また, 新たに, マルチプレックス PCR を用いた IS (Insertion Sequence) - Printing System (以下, IS 法と略す) による解析もあわせて実施した。

平成20年度の菌株受領状況の内訳は, 横浜市, 川崎市, 横須賀市, 相模原市および藤沢市をのぞく神奈川県内 (県域) の医療機関や保健福祉事務所から当所に送付されたヒト由来30株, 食肉衛生検査所から送付されたウシ由来1株, 藤沢市で分離されたヒト由来22株の計53株であった (表1)。血清型および Vero 毒素 (VT) の違いによる内訳は, O157 (VT 1 & 2) 17株, O157 (VT 2) 9株, O26 (VT 1) 23株, O55 (VT 1) 1株, O103 (VT 1) 1株, および, O121 (VT 2) 2株であった。藤沢市22株および食肉衛生検査所1株を除くヒト由来30株の性別および年齢構成を比較すると, 男性がやや多いものの, 1歳から68歳までの年齢層から分離された (表2)。

表1 施設別菌株受領状況 (53株)

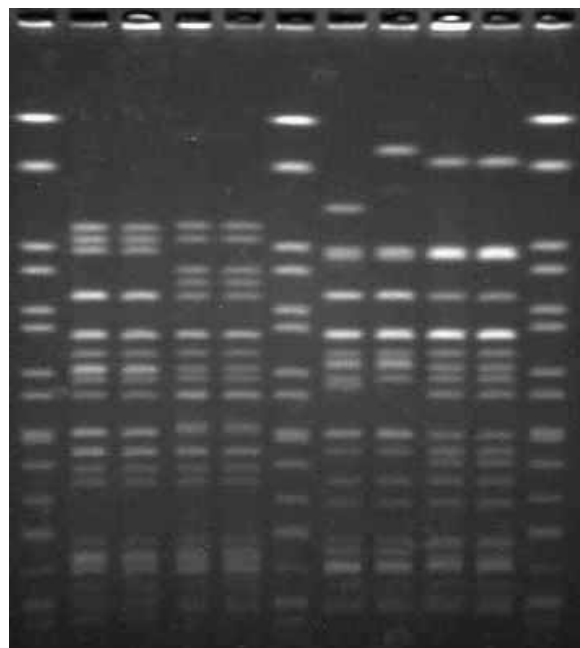
施設	O157		O26	その他	菌株数
	VT1&2	VT2	VT1		
厚木保健福祉事務所	6	1		O55 (VT1), O103 (VT1)	9
大和保健福祉事務所	2	1			3
秦野保健福祉事務所	1	3			4
茅ヶ崎保健福祉事務所	2		1		3
平塚保健福祉事務所	1	2			3
鎌倉保健福祉事務所	1				1
小田原保健福祉事務所	4	1	2		7
藤沢市保健所			20	O121 (VT2)-2株	22
食肉衛生検査所		1			1
計	17	9	23	4	53

表2 患者・保菌者の年齢構成および性別
(藤沢市を除く30株)

年 齢	男性	女性	計
1 - 5	5	1	6
6 - 10	1	2	3
11-20	2	3	5
21-30	4	2	6
31-40		1	1
41-50	1	1	2
51-60	2	1	3
61-70	2	2	4
計	17	13	30

PFGE を実施する際に制限酵素として *Xba* I を使用し、6 V、2.2-54.2秒、12°C の条件で20時間泳動を行った。まず、飲食店での感染事例と家族内感染事例を示した (図1)。レーン1~4は O157 (VT2) による2事例4株、レーン5~8は O157 (VT1 & 2) の2事例4株である。レーン1、2は平成20年8月に1日違いで同じ飲食店を利用した2名から検出された菌株のパターンである。喫食調査の結果では共通の食材が認められなかったことから、異なった原因であることを証明する目的で、PFGE 検査の依頼があった。しかし、2株の PFGE パターンが一致したことから、この飲食店を原因とした感染事例であることが推測された。レーン3、4は家族内感染事例で2株のパターンは一致しており同一の菌による感染が予測された。レーン5、6も家族内感染事例の結果であるが、このパターンでは数本のバンドの違いが認められた。小児と母親で、同一食材を喫食していることから同じ感染源であることが予測されており、部分的な変異によるものと考えられた。レーン7、8は横浜市内の飲食店における集団発生 (患者15名) に関連した県域在住2名からの分離菌株のパターンである。この2株のパターンは一致しており、さらに、横浜市衛生研究所に菌株を送付した結果、横浜市の分離株とすべて一致したとの報告を得た。家族内感染以外の散発事例の PFGE は異なったパターンを示した (図2)。また、O157 (VT1 & 2) 10株について IS 法による解析を実施した (図3)。PFGE で数本のバンドの不一致が認められた家族の事例 (図1:レーン5、6) は IS 法ではレーン1、2に、また、横浜市の飲食店事例 (図1:レーン7、8) は IS 法ではレーン3、4に示した。この2事例4株は、IS 法ではそれぞれ一致したパターンを示した。IS 法はスタンダードと同じ位置のバンドの有無で判定し結果を数値化して、1st セットと2nd セットを合わせて比較する。2種類の

M 1 2 3 4 M 5 6 7 8 M

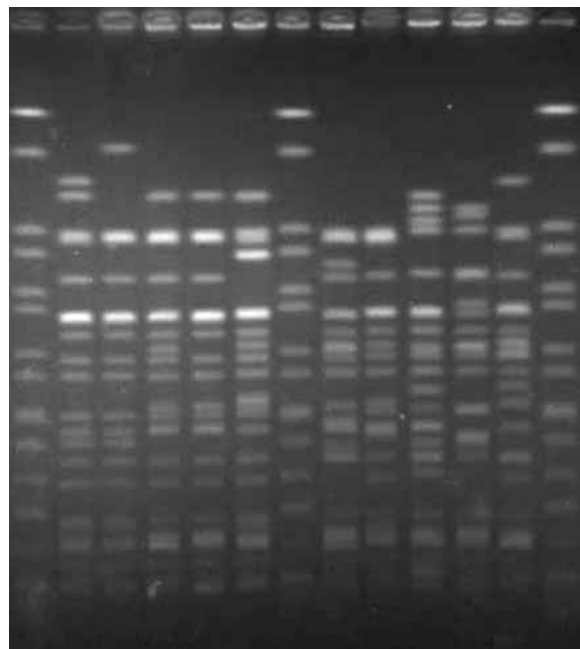


M : マーカー : *Salmonella* Braenderup
泳動条件 : 6V, 2.2-54.2s, 12°C, 20h

レーン1~4 O157(VT2), レーン5~8 O157(VT1&2)

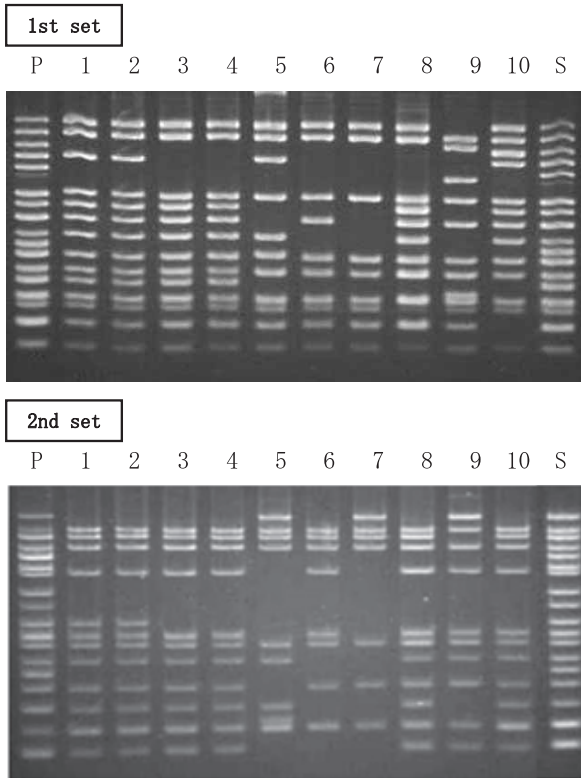
図1 EHECO157による小規模事例および家族内感染事例

M 9 10 11 12 13 M 14 15 16 17 18 M



M : マーカー : *Salmonella* Braenderup
泳動条件 : 6V, 2.2-54.2s, 12°C, 20h

図2 EHECO157による散発事例 (10株)



P : 陽性コントロール : すべてのプライマーのテンプレート DNA を混合
 S : スタンドアード DNA : 増幅バンドのサイズマーカー : 18 本

図 3 IS-Printing System による解析

セットには、18種類のプライマーが含まれており、合計36種類のプライマーを用いているため、より、詳細な比較が可能である。

図には示していないが、藤沢市で分離された O121 (VT 2) の 2 株については相次いで分離された菌株であるが、相互の関連がなく PFGE パターンも異なったことから、散発事例であることが確認された。また、同市での血清型 O26 による感染事例の詳細は病原微生物検出情報で報告されている³⁾。

つぎに、受領した53菌株について、アミノベンジルペニシリン (ABPC)、セフトキシム (CTX)、クロラムフェニコール (CP)、ホスホマイシン (FOM)、ゲンタマイシン (GM)、カナマイシン (KM)、ナリジクス酸 (NA)、シプロフロキサシン (CPFX)、ストレプトマイシン (SM)、スルファメトキサゾール・トリメトプリム合剤 (ST) およびテトラサイクリン (TC) の11薬剤について CLSI (米国臨床検査標準化協会) 法⁴⁾に準拠して薬剤感受性試験を実施した。この結果 (表 3)、3 剤 (ABPC, SM, TC) 耐性は 5 株、2 剤 (SM, ST あるいは SM, TC) 耐性 2 株、単剤 (TC) 耐性 1 株で、53 株中 45 株が供試した 11 薬剤に感受性であった。耐性株のうち 1 株は O55 で 3

表 3 薬剤感受性試験結果 (53株)

耐性数	耐性薬剤				株数
3 剤	ABPC	SM		TC	5
2 剤		SM	ST		1
		SM		TC	1
単 剤				TC	1
感受性					45
計	5	7	1	7	53

剤耐性株であったが、他の 7 株は O157 であった。O103 (1 株)、O121 (2 株) および O26 (23 株) はすべて薬剤感受性株であった。

平成20年度も、全国的には EHEC の事例が多数報告されたが、大規模な感染事例は認められなかった。

近年、EHEC 感染の原因食品として食肉が多数報告されていることから、食中毒予防にあたって食肉取扱関係者への衛生管理の指導と、消費者への注意喚起を行うよう通知がなされている²⁾。

原因施設としては焼肉店での感染事例が多く、また、バーベキューによる感染等で牛肉と何らかの関連が確認された事例⁵⁾も報告されていることから、今後も菌株を収集し、PFGE 以外の解析法も用いて感染源の特定と感染拡大防止のための迅速な対応が必要であると考えられる。

なお、この報告の一部は、厚生労働科学研究費補助金 (広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究 新興・再興感染症研究事業) において実施した。

最後に、ご協力を頂きました各医療機関、医療検査機関、衛生研究所各分室および菌株搬入にご尽力いただきました各保健福祉事務所、県生活衛生課および健康増進課、藤沢市保健所の方々に深謝いたします。

(平成21年 8 月11日 受理)

文 献

- 1) 厚生省生活衛生局食品健康課長：病原性大腸菌 O-157 の検体提供依頼について、平成 8 年 6 月 19 日、衛食第 160 号 (1996)
- 2) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長：飲食店における腸管出血性大腸菌食中毒対策について、平成 19 年 5 月 14 日、食安監発第 0514001 号 (2007)
- 3) 寺田直樹, 佐藤 健, 平井有紀, 沖津忠行, 小出元子, 宮崎晃子ほか：修学旅行先において腸管出血性大腸菌 O26 に感染したと思われる事例—藤沢市, 病原微生物検出情報, 29, 256 (2008)

- 4) Clinical and Laboratory Standards Institute; Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria; Approved Guideline, CLSI Document M45-A1, Wayne, Pa.,(2007)
- 5) 石原ともえ他：神奈川県における腸管出血性大腸菌の検出状況（平成18年度），神奈川県衛生研究所研究報告37, 68-69（2007）