

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 21 年度)

古川一郎, 石原ともえ, 黒木俊郎

Occurrence of enterohemorrhagic
Escherichia coli in Kanagawa Prefecture
 (April, 2009 - March, 2010)

Ichiro Furukawa, Tomoe ISHIIHARA
 and Toshiro KUROIKI

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, 「病原性大腸菌 O-157 の検

表 1 施設別菌株受領状況 (38 株)

施設	O157		O26	その他	菌株数
	VT1&2	VT2	VT1		
厚木保健福祉事務所	8		1	O121 (VT2)	10
大和保健福祉事務所	1	3	1		5
秦野保健福祉事務所	2	1			3
茅ヶ崎保健福祉事務所	4		2		6
平塚保健福祉事務所	2	1			3
鎌倉保健福祉事務所	1		3	O103 (VT1)	5
小田原保健福祉事務所	1			O124 (VT1&2), OUT (VT1)	3
藤沢市保健所		1			1
食肉衛生検査所	1	1			2
計	20	7	7	4	38

体提供依頼について」(平成 8 年 6 月 19 日付, 衛食第 160 号) および「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 日付, 食安監発第 0514001) に基づき, 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 (di use 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」を探知し, 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 Polymerase Chain Reaction を用いた 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 21 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 35 株, 食肉衛生検査所から送付されたウシ由来 2 株, 藤沢市で分離されたヒト由来 1 株の計 38 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 (VT1&2) 20 株, O157 (VT2) 7 株, O26 (VT1) 7 株, O121 (VT2) 1 株, O103 (VT1) 1 株, O124 (VT1&2) 1 株および OUT (VT1) 1 株であった。食肉衛生検査所分離株 2 株,

表 2 患者・保菌者の年齢構成および性別 (藤沢市を除く 33 株)

年齢	男性	女性	計
1 - 5	4	1	5
6 - 10	1	4	5
11-20	2	2	4
21-30	3		3
31-40	3	1	4
41-50		2	2
51-60	2	3	5
61-70		3	3
>70		2	2
計	15	18	33

藤沢市分離株 1 株および年齢が確認できなかった 2 株を除くヒト由来 33 株における患者および保菌者の性別および年齢構成を比較した (表 2)。年齢の範囲は男性 3 ~ 56 歳, 女性 3 ~ 82 歳, 平均は男性 23.8 歳に対し, 女性は 39.7 歳であった。21 ~ 40 歳では女性 1 例に対し男性 6 例, 41 歳以上では男性 2 例に対し女性が 10 例となり, 21 歳以上の男女構成比に差が認められた。

PFGE には制限酵素として *Xba* を使用し, 6V/cm, パルスタイム 2.2 54.2 秒, 12 の条件で 19 時間電気泳動を行った。PFGE パターンの解析には BioNumerics (Applied Maths 社) を用い, Pearson の相関係数で類似度を算出し, UPGMA によりクラスター解析を行った。

O157 (VT1&2) 20 菌株について PFGE パターンを解析した結果 (図 1), 家族内および関係者間の 3 つの事例から分離された菌株 (事例 1; 菌株 No.1 および 2, 事例 2; 菌株 No.4 および 5, 事例 3; 菌株 No.15 および 16) は, クラスター解析の結果, いずれも 98% 以上の類似度を示し, IS 法においてもそれぞれ電気泳動パターンは一致していた。一方, 類似度 95% 以上を示した菌株 No.8 および 9 は, PFGE パターンの相同性は高かったものの, IS 法では 3 カ所のバンドの不一致が確認された。さらに, 事例 3 から分離された 2 菌株と類似度の高かった菌株 No.17 についても, IS 法ではまったく異なる結果が得られ, これらの菌株間における関連性は低いものと推測された。

O157 (VT2) 7 菌株の解析では (図 2), 家族内感染における分離株 No.21, 22 及び 23 は 97% 以上の類似度を示し, No.23 の PFGE パターンは他の 2 菌株と 1 本のバンドの相違が認められたが, IS 法における 3

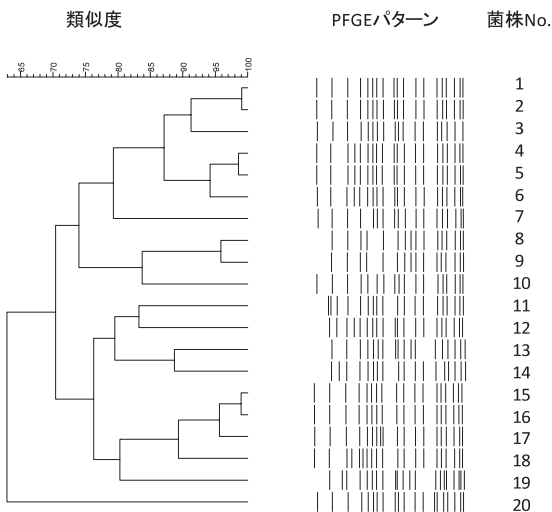


図 1 EHEC O157 (VT1&2) のデンドログラムおよび PFGE パターン

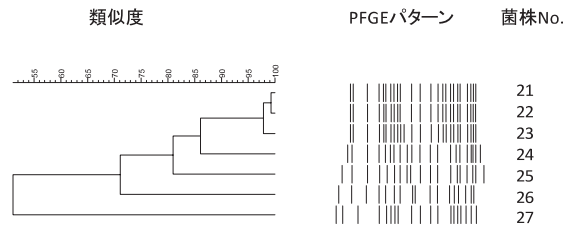


図 2 EHEC O157 (VT2) のデンドログラムおよび PFGE パターン

表 3 薬剤感受性試験結果 (38 株)

	耐性薬剤					菌株数
	ABPC	CP	SM	TC	FOM	
3 剤	ABPC	CP	SM			3
	ABPC		SM	TC		1
		CP	SM	TC		1
2 剤			SM	TC		1
単剤					FOM	2
感受性						30
計	4	4	6	3	2	38

菌株の電気泳動パターンはすべて一致していた。今回, 食肉衛生検査所で分離された EHEC 2 菌株 (菌株 No.20 および No.24) は, ヒト由来株と同様に解析を行ったが, いずれも PFGE におけるヒト由来株との類似性は認められず, IS 法の結果も同様であった。

次に, 受領した 38 菌株について, アミノペニシリン (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), ナリジク酸 (NA), シプロフロキサシン (CPF), 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¹⁾に準拠して薬剤感受性試験を実施した (表 3)。その結果, ABPC, CP, SM の 3 剤耐性は 3 菌株, 同様に ABPC, SM, TC あるいは CP, SM, TC 耐性がそれぞれ 1 菌株, SM, TC の 2 剤耐性が 1 菌株, FOM の単剤耐性 2 菌株で, 38 株中 30 株が供試した 11 薬剤に感受性であった。さらに, ABPC, CP, SM の 3 剤耐性株のうち 2 菌株は, 前述の PFGE パターンの解析結果において類似度 98% 以上を示した関連株 (菌株 No.1 および 2) であり, 他の 1 菌株は散発事例株であった。

県内保健所設置市を除く県域内において, 平成 21 年度の EHEC の集団感染事例は, 家族内および関係者間の事例以外は認められなかったが, 国内では飲食チェーン店における EHEC O157 の集団感染事例が

報告され、厚生労働省は「飲食店における腸管出血性大腸菌 O157 食中毒対策について」(平成 21 年 9 月 15 日付け食安監発 0915 第 1 号)により食中毒を防止するよう各自治体に通知した。

EHEC の集団感染事例では、広域的な事例も多く、迅速に探知して拡大を防止しなければならない。PFGE による解析は、菌株を識別し共通の菌株を探知する有効な手段であり、さらに今回の IS 法の併用は PFGE の結果を確認および評価する方法として有効であった。

今後も菌株を収集するにあたり、IS 法等 PFGE 以外の解析法についてもデータを蓄積し、事例発生時に感染源および感染拡大防止に迅速に対応できるよう検討が必要と考える。

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、食肉衛生検査所、県生活衛生課および健康増進課、藤沢市保健所の方々に感謝いたします。

(平成 22 年 8 月 20 日受理)

文献

- 1) 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)