

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24年度）

古川一郎，石原ともえ，渡辺祐子

Occurrence of enterohemorrhagic  
*Escherichia coli* in Kanagawa  
 Prefecture (April,2012-March,2013)

Ichiro FURUKAWA, Tomoe ISHIHARA and  
 Yuko WATANABE

腸管出血性大腸菌 (enterohemorrhagic *Escherichia coli*: 以下, EHECと略す) 感染症は平成11年4月に施行された「感染症の予防及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日法律第114号) で三類感染症に分類され, EHEC感染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ぬ。これを受けて, 各自治体の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) 細菌第一部に菌株を送付している。感染研は, 全国から送付された菌株について, パルスフィールド・ゲル電気泳動 (以下, PFGEと略す) 解析を用いた分子疫学的調査を実施し, 全国レベルの大規模な集団発生や散発的集団発生 (diffuse outbreak) を探知することにより感染の拡大防止に努めている。さらに, EHEC感染症については, 溶血性尿毒症症候群発症者に限り, 便からのベロ毒素の検出, 血清中のO抗原凝集抗体あるいはベロ毒素抗体の検出によって診断された場合も届出の対象となっており<sup>1)</sup>, 当所においても搬入された血清について, EHEC加熱死菌により抗体の確認を行っている。本報告では, 当所に送付されたすべてのEHEC菌株についてPFGE解析および薬剤感受性試験を行い, このうち横浜市, 川崎市, 横須賀市, 相模原市および藤沢市を除く神奈川県内 (以下, 県域と略す) で分離されたヒト由来のO157については, マルチプレックスPCR法を用いたIS-Printing System (以下, IS法と略す) による解析をあわせて実施したのでその概要を述べる。

平成24年度のEHEC菌株の受領状況とその内訳は, 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13株, 当所地域調査部において患者家族, 集団事例関連施設の従業員あるいは患者から分離された7株, 食肉衛生検査所から送付されたウシ由来1株, 藤沢市から送付されたヒト由来8株を含めた計29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) 14株, O157(VT2) 6株, O157(VT1) 1株, O26(VT1) 4株, O145(VT2) 1株, O145(VT1) 1株, O111(VT1) 1株, O群型別不能(以下, OUT, VT2)

表1 搬入施設別の菌株受領状況

施設	O157			O26	O145		O111	OUT	菌株数
	VT1, 2	VT1	VT2	VT1	VT1	VT2	VT1	VT2	
厚木保健福祉事務所	5		2	1					8
茅ヶ崎保健福祉事務所	3	1	1						5
大和保健福祉事務所	3		2						5
足柄上保健福祉事務所	1								1
鎌倉保健福祉事務所				1					1
食肉衛生検査所	1								1
藤沢市保健所	1		1	2	1	1	1	1	8
計	14	1	6	4	1	1	1	1	29

1株であった。このうちO157(VT1&2)1株、O145(VT2)1株およびO111(VT1)1株は同時期に同一患者から分離された。食肉衛生検査所分離株1株を除くヒト由来28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)。年齢の範囲および人数は、男性が5~76歳で10名、女性が1~78歳で16名、年齢の平均は男性36.6歳に対し、女性は29.5歳であった。

PFGEには制限酵素として*Xba*I を使用し、6V/cm、パルスタイム2.2 - 54.2秒、12°C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) 14菌株についてPFGEパターンをクラスター解析した結果(図1)、一つの集団事例から分離された菌株No.1~No.6は、98%以上の類似度を示し、泳動

表2 患者・保菌者の年齢構成および性別

年齢層	男性	女性	計
1 - 5	1	1	2
6-10	1	2	3
11-20	1	6	7
21-30	3	2	5
31-40	0	0	0
41-50	0	2	2
51-60	2	1	3
61-70	1	0	1
>70	1	2	3
計	10	16	26

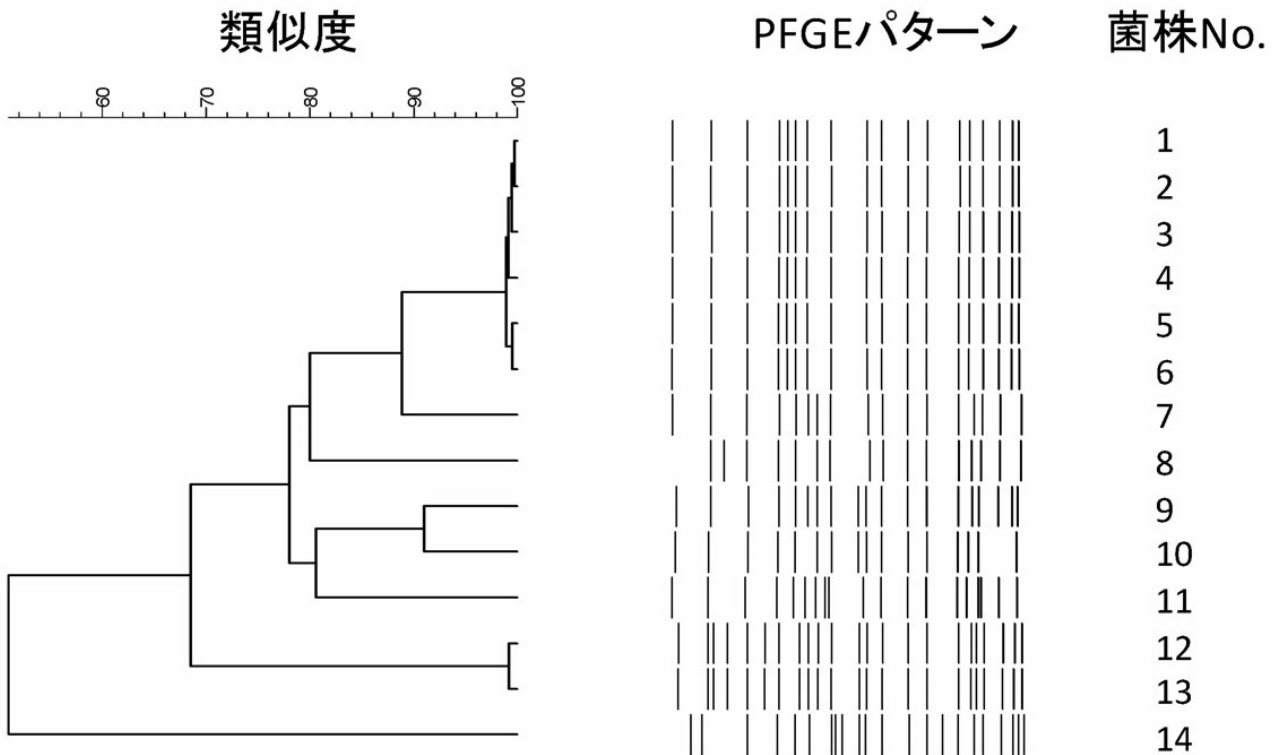


図1 EHEC O157 (VT1&2) のデンドログラムおよびPFGEパターン

パターンは一致しており、IS法のパターンもすべて一致していた。さらに家族内事例から分離された菌株No.12およびNo.13についても、PFGEパターンは98%以上の類似度を示し、IS法のパターンも一致していた。

O157 (VT2) 6株のPFGEの解析では(図2)、類似度の高い菌株は認められず、IS法においても同様の結果が得られた。

食肉衛生検査所においてウシから分離されたO157 (VT1&2) 1株のPFGEおよびIS法のパターンは、ヒト

由来分離株13株のいずれとも異なっていた。

O26 (VT1) 4株およびO145の2株 (VT1: 1株, VT2: 1株) におけるPFGE解析では、高い類似度を示す菌株は認められず、すべて散発事例由来であることが確認された。

次に、これら29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

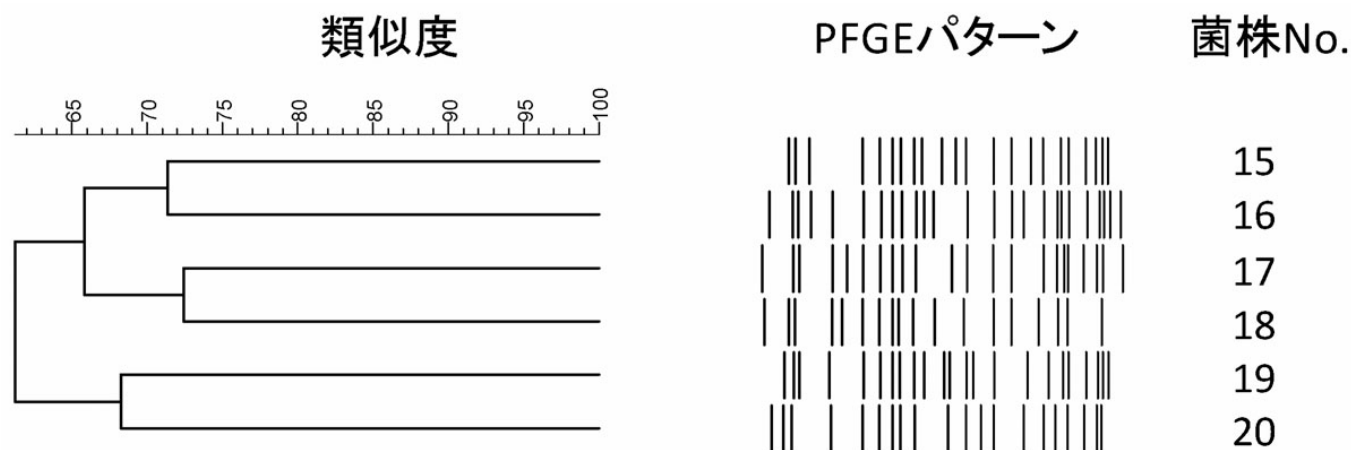


図2 EHEC O157 (VT2) のデンドログラムおよびPFGEパターン

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<sup>2)</sup>に準拠して薬剤感受性試験を実施した(表3)。その結果, CP, SM, ST, TCの4剤耐性は1株, ABPC, SM, TCの3剤耐性は4株, ABPC, SMの2剤耐性は1株, FOMの単剤耐性は1株, TCの単剤耐性は1株認められ, 29株中21株が供試した11薬剤に感受性であった。

今回, 県域内においてEHEC O157(VT1&2)による集団感染事例が1例報告されたが, 県域外にも患者が発生したため, PFGEの遺伝子解析に基づく確定作業を行っ

表3 薬剤感受性試験結果 (29株)

	耐性薬剤	菌株数	血清型 (株数)
4剤	CP, SM, ST, TC	1	O157VT2 (1)
3剤	ABPC, SM, TC	4	O157VT1, 2 (4)
2剤	ABPC, SM	1	O157VT1, 2 (1)
単剤	FOM	1	O26VT1 (1)
	TC	1	O145VT2 (1)
感受性		21	
計		29	

た結果, 両者には関連があることが確認された。家族内の1事例においても, 患者由来株および家族検便由来の菌株について, 遺伝子レベルでの解析により関連が確認された。今回はさらに, 患者1名から3種類の血清型(O157, O145, O111)のEHECが分離された事例や家族

内で異なる血清型(O145, OUT)のEHECが分離された事例が確認されており, ヒトの移動および食品の流通の多様化に対応した正確かつ迅速な対策が求められる。

今回の事例のように, EHECの集団感染事例では広域的な事例に対し, 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, 菌株を識別し遺伝子レベルで共通の菌株を探知する有効な手段として今後も利用されると考える。

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, 衛生研究所地域調査部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, 県食品衛生課および健康危機管理課, 藤沢市保健所の方々に感謝いたします。

(平成25年8月1日受理)

## 文 献

- 1) 腸管出血性大腸菌感染症: 病原微生物検出情報. 27, 149(2006)
- 2) 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)