

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25年度）

古川一郎，石原ともえ，渡辺祐子

Occurrence of enterohemorrhagic  
*Escherichia coli* in Kanagawa  
Prefecture (April,2013-March,2014)

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ない。さらに，分離された菌株はそれぞれの地方衛生研究所（以下，地研と略す）に提供されることになっている。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。本報では，平成25年4月から平成26年3月の間に横浜市，川崎市，横須賀市および相模原市を除く神奈川県内（以下，県域と略す）および藤沢市で分離され，当所に送付されたEHEC菌株についてPFG E解析および薬剤感受性試験を行うとともに，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-sprinting system（以下，IS法と略す）による解析をあわせて実施したので，その結果を報告する。

平成25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28株，当所地域調査部において患者家族，集団事例関連の保菌者から分離された12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7株を含めた計48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) 18株，O157(VT2) 17株，O157(VT1) 2株，O26(VT1) 4株，O103(VT1) 4株，O121(VT2) 2株，O111(VT1&2) 1株であった。食肉衛生検査所分離株1

表1 搬入あるいは管轄施設別の菌株受領状況

| 施設         | O 157 |     |     | O 26 | O 103 | O121 | O 111 | 菌株数 |
|------------|-------|-----|-----|------|-------|------|-------|-----|
|            | VT1&2 | VT1 | VT2 | VT1  | VT1   | VT2  | VT1,2 |     |
| 厚木保健福祉事務所  | 3     |     | 6   | 1    | 1     |      |       | 11  |
| 秦野保健福祉事務所  | 4     | 1   | 1   | 2    | 1     |      | 1     | 10  |
| 大和保健福祉事務所  | 4     |     | 3   |      |       |      |       | 7   |
| 鎌倉保健福祉事務所  |       |     | 3   |      | 1     |      |       | 4   |
| 平塚保健福祉事務所  | 1     |     | 1   | 1    |       |      |       | 3   |
| 小田原保健福祉事務所 | 2     |     |     |      |       | 1    |       | 3   |
| 足柄上保健福祉事務所 | 1     |     |     |      |       | 1    |       | 2   |
| 食肉衛生検査所    |       | 1   |     |      |       |      |       | 1   |
| 藤沢市保健所     | 3     |     | 3   |      | 1     |      |       | 7   |
| 計          | 18    | 2   | 17  | 4    | 4     | 2    | 1     | 48  |

株を除くヒト由来47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1～76歳で26名、女性が1～75歳で20名、年齢の平均は男性28.7歳に対し、女性は35.8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℃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については、IS-printing system（TOYOBO）を用いて解析し、付属の説明書に従ってPCR法を実施した後、32箇所の遺伝子の有無により菌株の識別を試みた。

3つの家族内事例分離株を含むO157(VT1&2) 18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）、事例1から分離された菌株No.3およびNo.4、事例2から分離された菌株No.9～No.12、さらに事例3から分離された菌株No.13およびNo.14は、それぞれ90%以上の高い類似度を示し、IS法のパターンは事例ごとに一致していた。さらに、菌株No.5は事例1から分離された上記2株とPFGEパターンの類似度が95%と高くIS法のパターンも一致したが、疫学的な関連は認められな

かった。

1つの家族内事例および1つの同一施設内集団事例分離株を含むO157（VT2）17株のPFGEによる解析では（図2）、家族内事例分離株である菌株No.30～No.32は、

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 | 4  | 1  | 5  |
| 6-10  | 3  | 0  | 3  |
| 11-20 | 4  | 4  | 8  |
| 21-30 | 5  | 5  | 10 |
| 31-40 | 4  | 4  | 8  |
| 41-50 | 0  | 2  | 2  |
| 51-60 | 3  | 3  | 6  |
| 61-70 | 2  | 1  | 3  |
| >70   | 1  | 1  | 2  |
| 計     | 26 | 21 | 47 |

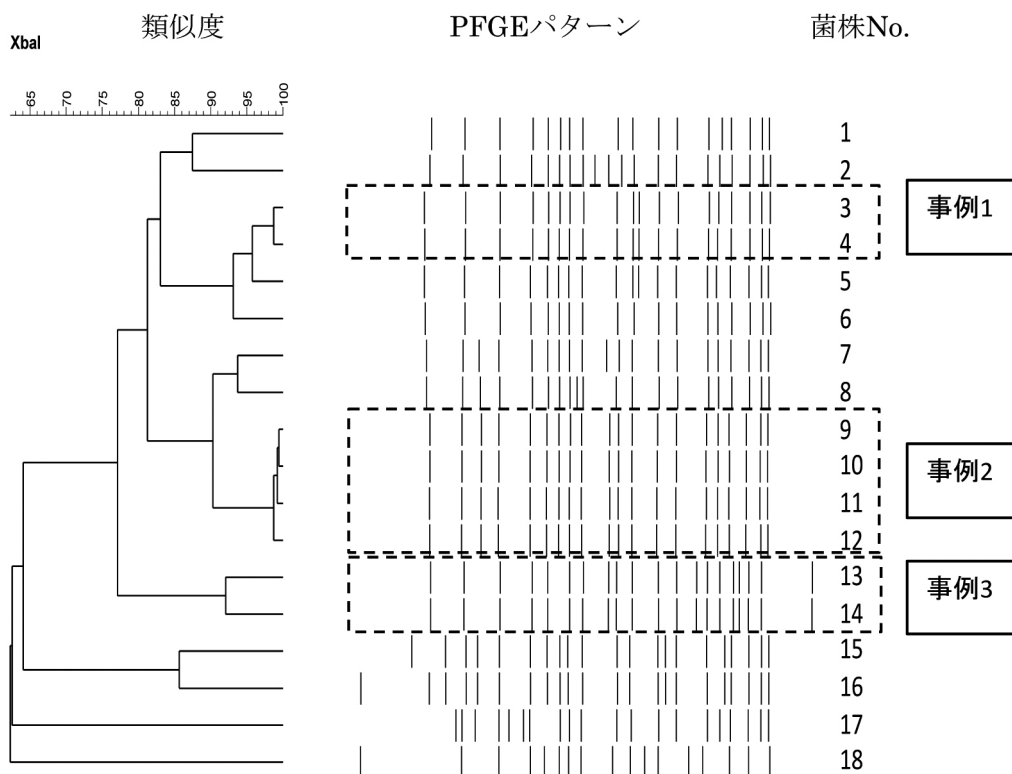


図1 EHEC O157 (VT1&2) のデンドログラムおよびPFGEパターン

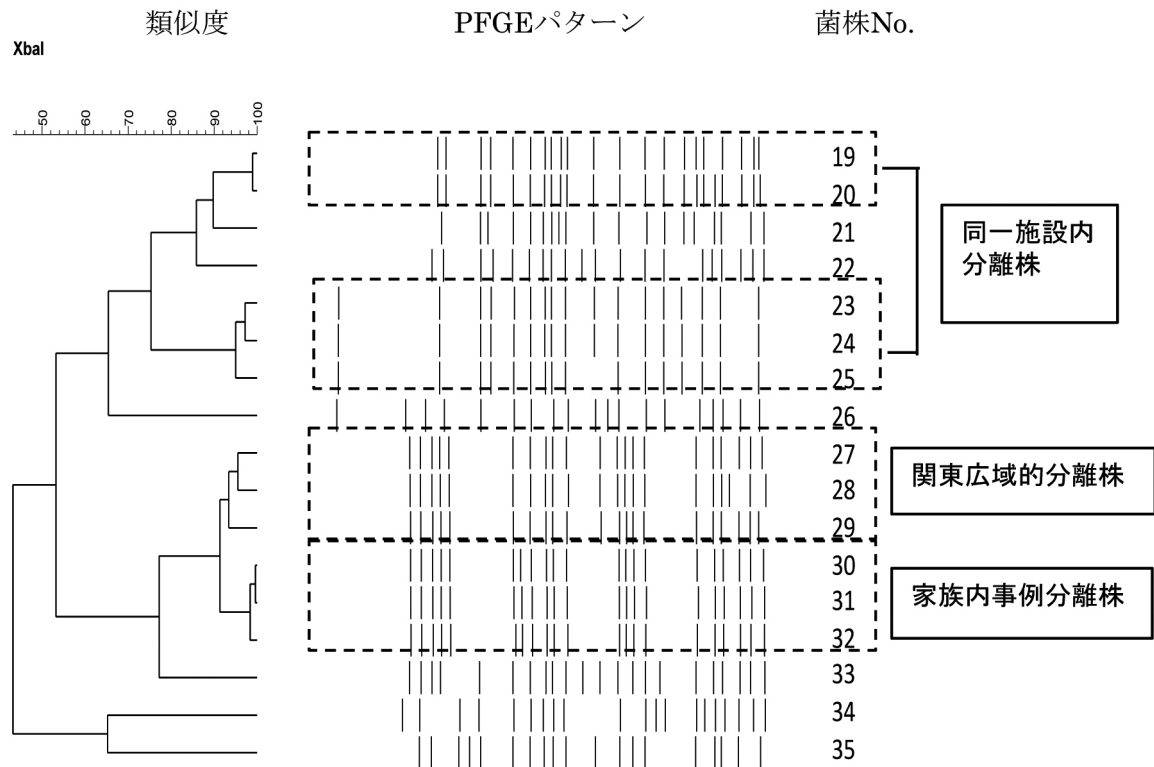


図2 EHEC O157 (VT2) のデンドログラムおよびPFGEパターン

95%以上の類似度を示してほぼ一致し、IS法のパターンも一致していた。同一施設内集団事例株は、菌株No.19およびNo.20のクラスターと菌株No.23～No.25のクラスターに分かれ、これら二つのクラスター間の類似度は75%と低い値を示したが、IS法では菌株No.19のみがパターンが異なり、他の4菌株は同一パターンを示した。このことから、同一施設内で分離されたこれらの菌株は関連していると考えられた。菌株No.27～No.29については、関東地方において広域的に分離された菌株とPFGEパターンの類似度が高く、IS法の結果も一致したが、いずれの菌株も疫学的な関連は認められなかった。さらに、県域外の2つの集団事例との関連が疑われた菌株であるNo.33およびNo.35は、PFGEおよびIS法を用いた遺伝子解析ではいずれのパターンも県域外分離株と一致し、それぞれの事例における分離株の関連が遺伝子レベルで確認された。

食肉衛生検査所においてウシから分離されたO157 (VT1) 1株のPFGEおよびIS法の結果は、ヒト由来O157 (VT1) 1株のいずれとも異なっていた。

O26 (VT1) 4株、O103 (VT1) 4株およびO121 (VT2) 2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48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<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、KM、SM、ST、TCの5剤耐性は1株、ABPC、SM、STの3剤耐性は6株、ABPC、SM、TCの3剤耐性は4株、ABPC、SMの2剤耐性は1株、SM、TCの2剤耐性は1株、TCの単剤耐性は1株認められ、48株中34株が供試した11薬剤に感受性であった。

表3 薬剤感受性試験結果 (48株)

|     | 耐性薬剤           | 菌株数 | 血清型 (株数)       |
|-----|----------------|-----|----------------|
| 5剤  | CP,KM,SM,ST,TC | 1   | O111 VT1&2 (1) |
| 3剤  | ABPC,SM,ST     | 6   | O157 VT2 (6)   |
|     | ABPC,SM,TC     | 4   | O157 VT1&2 (4) |
| 2剤  | ABPC,SM        | 1   | O157 VT2 (1)   |
|     | SM,TC          | 1   | O157 VT2 (1)   |
| 単剤  | TC             | 1   | O157 VT1&2 (1) |
| 感受性 |                | 34  |                |
| 計   |                | 48  |                |

今回、県域外の2つの集団事例に関連する患者が県域で報告され、分離菌株についてPFGEの遺伝子解析に基づく確定作業を行った結果、いずれの菌株も県域外分離株とPFGEパターンが一致し、それぞれの事例において関連していることが確認された。県域においてはEHEC O157(VT2)による同一施設内における集団感染事例が1例確認され、本事例の分離株の一部は、PFGE解析では異なるクラスターに分かれていたが、IS法ではパターンが一致した菌株も確認されたことから、これらの菌株は互いに関連があるものと思われ、感染経路の解明に向けた詳細な調査が必要と思われた。さらに、家族内の事例が複数確認されており、家庭環境における衛生対策など県民へのさらなる啓発が必要と考えられた。

EHECの散発および集団事例に対しては迅速に探知して拡大を防止しなければならない。PFGEを中心とした遺伝子解析は、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26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)