

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26年度）

古川一郎，石原ともえ，渡辺祐子

Occurrence of enterohemorrhagic  
*Escherichia coli* in Kanagawa  
Prefecture (April, 2014-March, 2015)

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、「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，保健所を経由して都道府県知事に届け出なければならない<sup>1)</sup>。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。2014年度から，感染研で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）に代わり，O157等のEHECの主要な血清型についてMultilocus variable-number tandem-repeat analysis（以下，MLVAと略す）を用いた解析が実施され，各自治体へ結果報告されている。

本報では，平成26年4月から平成27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）で分離され，当所に送付されたEHEC菌株についてPFGE解析および薬剤感受性試験を行うとともに，迅速性からO157のスクリーニング法として用いられるIS-printing system（以下，IS法と略す）をヒト由来のO157について実施したので，これらの結果を報告する。

平成26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61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および食材から分離された13株，食肉衛生検査所から送付されたウシ由来3株を含めた合計77株であった。血清型およびVero毒素(VT)型の違いによる内訳は，O157(VT1&2) 36株，O157(VT2) 24株，O157(VT1) 1株，O26(VT1) 7株，O26(VT2) 1株，O103(VT1) 3株，O121(VT2) 3株，O111(VT1&2) 1株，O146(VT1) 1株であった（表1）。菌株が分離

表1 搬入あるいは管轄施設別の菌株受領状況

| 施設         | O157  |     |     | O26 |     | O103 | O121 | O111  | O146 | 菌株数 |
|------------|-------|-----|-----|-----|-----|------|------|-------|------|-----|
|            | VT1&2 | VT1 | VT2 | VT1 | VT2 | VT1  | VT2  | VT1&2 | VT1  |     |
| 厚木保健福祉事務所  | 5     |     | 10  |     |     |      | 2    |       | 1    | 18  |
| 同上 大和センター  | 4     |     | 1   | 2   |     |      |      |       |      | 7   |
| 平塚保健福祉事務所  | 11    |     | 2   |     |     |      |      |       |      | 13  |
| 同上 秦野センター  |       |     |     |     |     | 1    |      |       |      | 1   |
| 茅ヶ崎保健福祉事務所 | 3     |     | 4   | 1   |     |      | 1    |       |      | 9   |
| 小田原保健福祉事務所 |       |     |     | 4   | 1   |      |      |       |      | 5   |
| 鎌倉保健福祉事務所  | 1     |     | 2   |     |     |      |      | 1     |      | 4   |
| 食肉衛生検査所    |       | 1   | 2   |     |     |      |      |       |      | 3   |
| 藤沢市保健所     | 12    |     | 3   |     |     | 2    |      |       |      | 17  |
| 計          | 36    | 1   | 24  | 7   | 1   | 3    | 3    | 1     | 1    | 77  |

された患者および保菌者のうち、記録があるものについて、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0～76歳で30人、女性が0～75歳で42人、年齢の平均は男性26.2歳に対し、女性は36.2歳であった。

PFGE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時間行った。泳動の結果はBioNumerics（Applied Maths社）を用いてクラスター解析を行い、デンドログラムを作成した。

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。

2014年度はO157(VT1&2)の広域的な感染が疑われる事例が確認され、これらの分離株を含め61株のO157が搬入された。特に分離株数の多いO157(VT1&2)およびO157(VT2)について、PFGEパターンを基にデンドログ

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  |
|-------|----|----|----|
| 0 - 5 | 5  | 2  | 7  |
| 6-10  | 6  | 5  | 11 |
| 11-20 | 6  | 8  | 14 |
| 21-30 | 2  | 5  | 7  |
| 31-40 | 3  | 5  | 8  |
| 41-50 | 3  | 3  | 6  |
| 51-60 | 0  | 2  | 2  |
| 61-70 | 3  | 8  | 11 |
| >70   | 2  | 4  | 6  |
| 計     | 30 | 42 | 72 |

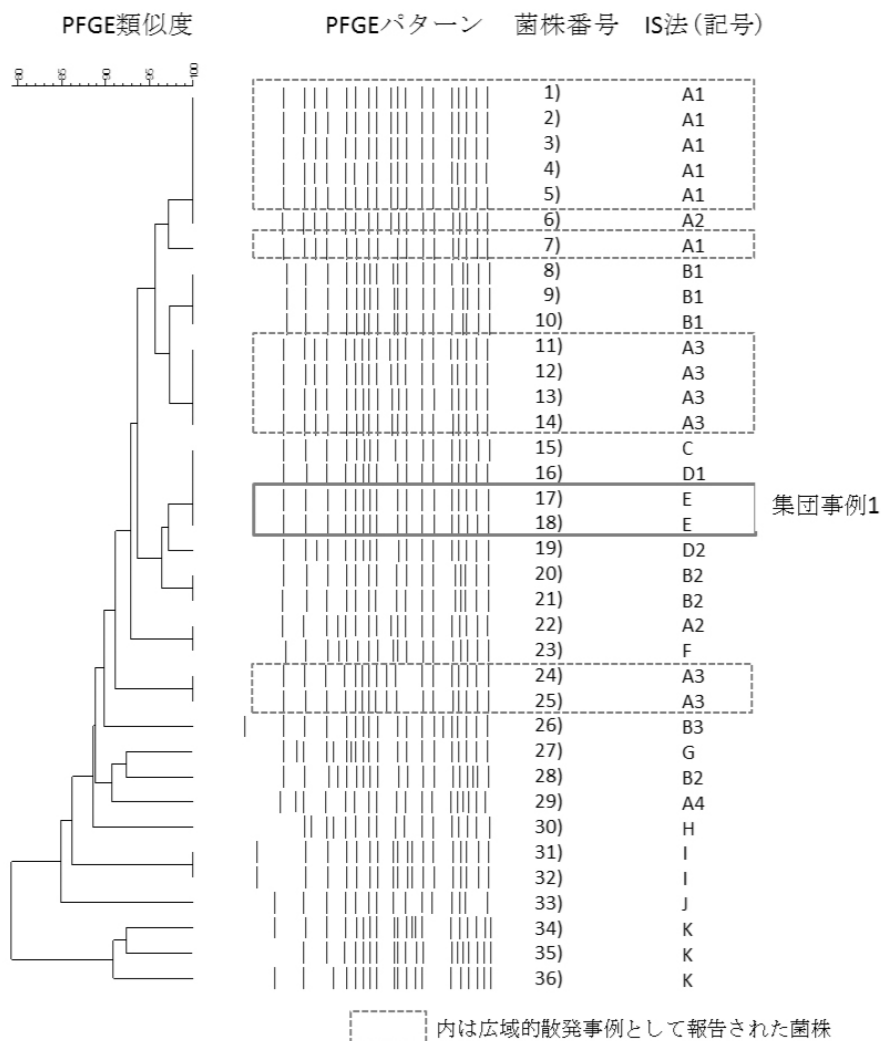


図1 EHEC O157 (VT1&2) の遺伝子解析結果

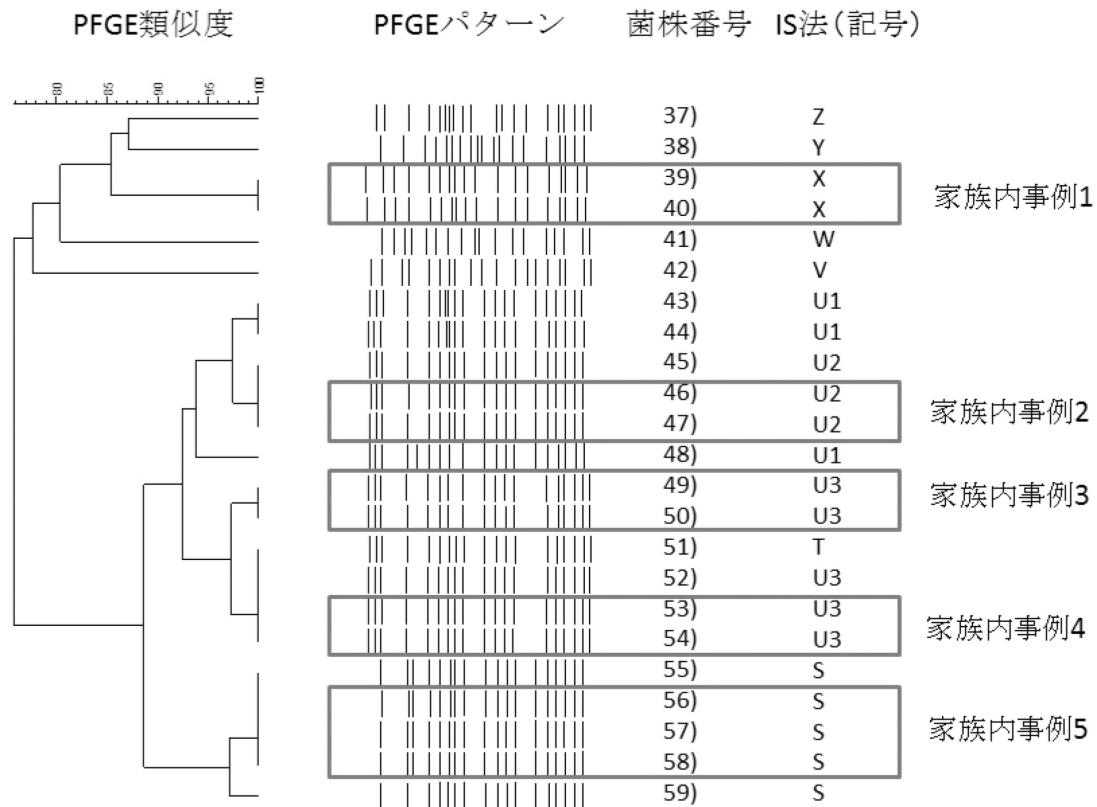


図2 EHEC O157 (VT2) の遺伝子解析結果

ラムを作成し、IS法の結果を記号で表記した(図1, 図2)。O157(VT1&2)の広域的散発事例株については、感染源および感染経路の調査を目的とした情報共有を図るため、感染研から各自治体の関係機関に対し、当該菌株のIS法のデータが周知され、各自治体はこれらのデータも参考に分離株の比較検討を行った。当所で行ったIS法でA1およびA1とは1箇所のみパターンが異なるA3となった2つのパターンの広域的散発事例株は、県域および藤沢市分離株で12株確認されたが、いずれの菌株も疫学的な関連は認められなかった。この他に、IS法でA3とは別にA1と1箇所のみパターンが異なるA2を示した菌株No.6およびNo.22は、広域的散発事例株である菌株No.1～No.5とPFGEパターンが一致および90%以上の類似性を示し、さらに、菌株No.8～10はこれらの菌株とPFGEパターンが95%の高い類似性を示すなど、いずれも疫学的関連は認められなかったが県域および藤沢市における広域的散発事例株と思われる。菌株No.17およびNo.18は、他の自治体における食中毒事例関連株であり、食中毒事例株とIS法のパターンは一致していた。IS法は、遺伝子の有無により記号化されたデータが得られ、実験室間でのデータ比較が容易なことから、

今回の広域的散発事例ではIS法のデータが有効に活用された。

5つの家族内事例の分離株を含むO157(VT2) 23株のPFGEによる解析では、それぞれの事例においてPFGEパターンおよびIS法の結果はすべて一致していた(図2)。家族内事例3および4の分離株は、PFGEパターンの類似度が95%以上と高く、IS法の結果も一致していたが、疫学的な関連は認められなかった。さらに、家族内事例2, 4および5において、各事例で分離された菌株の他に、疫学的な関連は認められないもののPFGEパターンが一致する菌株がそれぞれの事例で確認された。

食肉衛生検査所においてウシから分離されたO157(VT2) 2株およびO157(VT1) 1株についてヒト由来株と比較した結果、PFGEおよびIS法でパターンが一致あるいは類似度の高い菌株は認められなかった。

O26(VT1) 7株、O103(VT1) 3株およびO121(VT2) 3株におけるPFGE解析では、家族内事例分離株はすべてPFGEパターンが一致し、その他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、EHEC 77株について、アミノベンジルペニシ

表 3 薬剤感受性試験結果 (77株)

|     | 耐性薬剤             | 血清型        | 菌株数 |
|-----|------------------|------------|-----|
| 4剤  | ABPC, SM, ST, TC | O157 VT1&2 | 1   |
| 3剤  | ABPC, SM, ST     | O157 VT1&2 | 1   |
|     |                  | O121 VT2   | 1   |
| 2剤  | ABPC, SM         | O157 VT2   | 1   |
|     | SM, TC           | O157 VT1&2 | 1   |
|     |                  | O121 VT2   | 2   |
| 単剤  | ABPC             | O157 VT1&2 | 1   |
|     | CP               | O157 VT1&2 | 1   |
|     | SM               | O157 VT1&2 | 1   |
| 中間値 | SM               | O157 VT1&2 | 2   |
|     |                  | O91 VT2    | 1   |
|     |                  | O26 VT1    | 1   |
| 感受性 |                  |            | 63  |
| 計   |                  |            | 77  |

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, ABPC, SM, ST, TCの4剤耐性は1株, ABPC, SM, STの3剤耐性は2株, ABPC, SMの2剤耐性は1株, SM, TCの2剤耐性は3株, ABPCの単剤耐性は1株, CPの単剤耐性は1株, SMの単剤耐性は1株認められ, 77株中63株が供試した11薬剤に感受性であった。

今回, 県域内外において広域的散発事例が確認され, 各自治体間においても情報共有されたが, 疫学的な関連は認められなかった。自治体間にまたがる広域的な散発

事例では, 実験室間において結果を比較し, 分離株が集団事例に関連しているかどうかを判断する必要がある。IS法の適用はO157のみに限られるが, 本法は迅速性に優れており, 結果は記号化されたデータであるため実験室間でのO157分離株の比較が容易である。このことからO157の感染事例における菌株の解析には, IS法をスクリーニング検査として実施して関係機関と迅速に情報共有するとともに, 識別能力に優れたPFGEを行うことにより遺伝子レベルでのO157分離株間の関連を明確にすることが有用な手法であると思われる。

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。EHECの解析について感染研に導入されたMLVAは迅速性および再現性に優れており, 当所においても導入を検討すべきと思われるが, シーケンサーを使用するなどといった検討課題があることから, 識別能力に優れたPFGEは, 遺伝子解析の有効な手段として今後も利用され则认为。

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, 食品衛生課, 健康危機管理課ならびに藤沢市保健所の方々に感謝いたします。

(平成27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)