

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27年度）

古川一郎，政岡智佳，石原ともえ，相川勝弘，  
 黒木俊郎

Occurrence of enterohemorrhagic  
*Escherichia coli* in Kanagawa  
 Prefecture (April, 2015-March, 2016)

Ichiro FURUKAWA, Tomoka MASAOKA,  
 Tomoe ISHIHARA, Katsuhiko AIKAWA  
 and Toshiro KUROKI

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）に集められ，生化学的性状，血清型，毒素型等を確認したのち，地研は「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，EHECの主要な血清型であるO157，O26およびO111についてMLVA；Multilocus variable-number tandem-repeat analysisを用いた解析が実施され，その結果は各自自治体へ報告されている。

さらに，溶血性尿毒症症候群（以下，HUSと略す）発症者については，便からのベロ毒素（以下，VTと略す）の検出，血清中のO抗原凝集抗体あるいはVT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。

当所では，毎年神奈川県域（横浜市，川崎市，相模原市および横須賀市を除く神奈川県内，以下，県域と略す）から集まったEHECについては，血清型別，VT型別，薬剤感受性試験およびPFGE解析を，またO157についてはスクリーニング法として用いられているIS-printing法（以下，IS法と略す）も実施し，HUS発症者の血清についてはEHEC加熱死菌による抗体の確認を行っている。本報では，平成27年度に収集したEHEC57株とHUS発症者血清1検体の結果について報告する。

表1 EHEC 57株の血清型およびVero毒素型（平成27年度）

施設	O157			O26	O111	O103	OUT※		菌株数
	VT1&2	VT1	VT2	VT1	VT1&2	VT1	VT1&2	VT1	
厚木保健福祉事務所	2	1	3			1			7
同上 大和センター	2								2
平塚保健福祉事務所	5		1		2				8
同上 秦野センター				1					1
茅ヶ崎保健福祉事務所	4								4
小田原保健福祉事務所	3			8	1				12
同上 足柄上センター	1			4					5
鎌倉保健福祉事務所			1					1	2
食肉衛生検査所				2		1	1		4
藤沢市保健所	6		3	3					12
計（割合）	23 (40.4%)	1 (1.8%)	8 (14.0%)	18 (31.6%)	3 (5.3%)	2 (3.5%)	1 (1.8%)	1 (1.8%)	57

※ UT；型別不能（市販血清に凝集せず）

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	2	0	2
11-20	4	7	11
21-30	3	8	11
31-40	1	4	5
41-50	2	3	5
51-60	1	3	4
61-70	1	3	4
>70	2	3	5
計	21	33	54

EHEC57株の内訳は、県域の医療機関や保健福祉事務所からのヒト由来株44株、当所地域調査部において患者家族および一般の検便から分離された9株、食肉衛生検査所からのウシ由来の4株であった。HUS患者血清は県域の医療機関から1検体搬入された。これら57株

の血清型およびVT型は、O157(VT1&2) 23株、O157(VT2) 8株、O157(VT1) 1株、O26(VT1) 18株、O111(VT1&2) 3株、O103(VT1) 2株、O型別不能(以下、UTと略す)(VT1&2) 1株、OUT(VT1) 1株であった(表1)。このうちO26(VT1) 1株およびO111(VT1&2) 1株は同時期に同一患者から分離された。HUS患者血清1検体については、O121の血清抗体が確認された。菌株が分離された患者および保菌者について、性別および年齢構成を表2に示した。年齢の範囲および人数は、男性が0~85歳で21人、女性が1~94歳で33人、年齢の平均は男性27.5歳、女性は36.9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°C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。菌株数の多いO157(VT1&2)、O157(VT2)およびO26(VT1)について、PFGEパターンを基にデンドログラムを作成し、IS法の結果を記号で表記した(図1、図2、図3)。

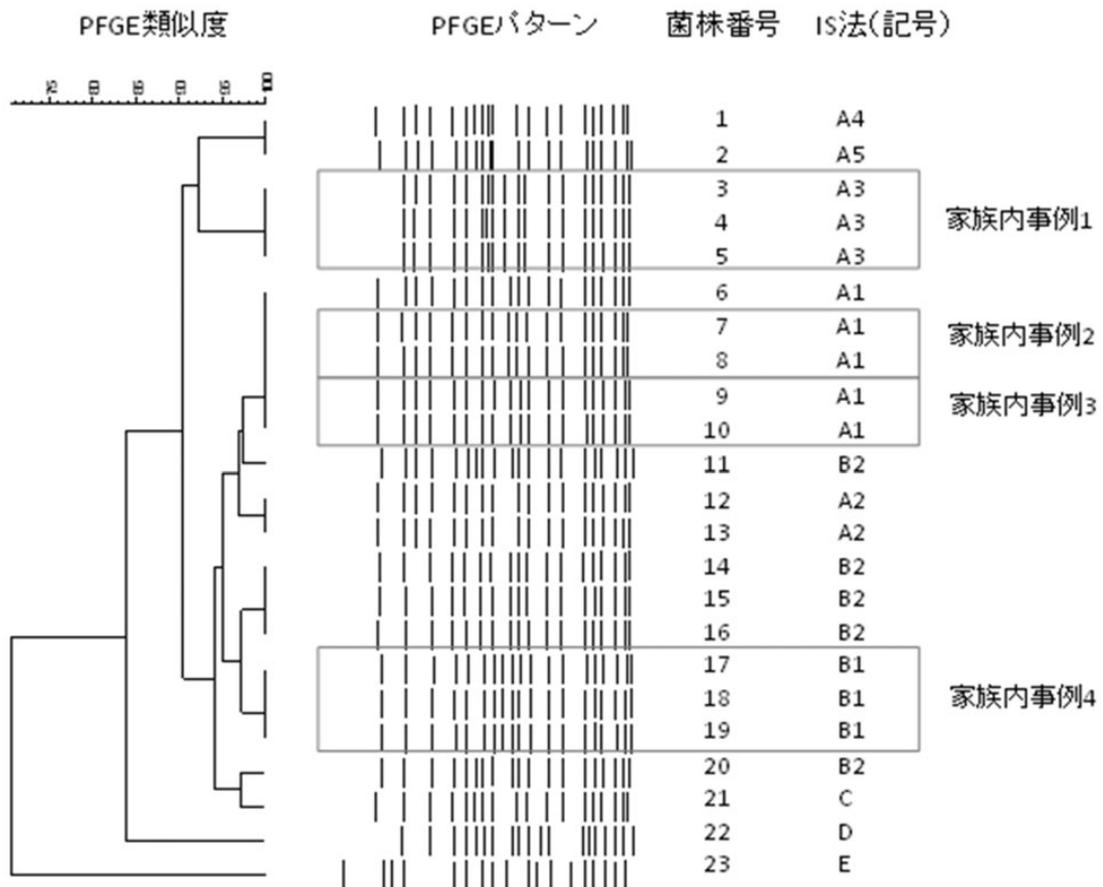


図 1 EHEC O157 (VT1&2) の遺伝子解析結果



図2 EHEC O157 (VT2) の遺伝子解析結果

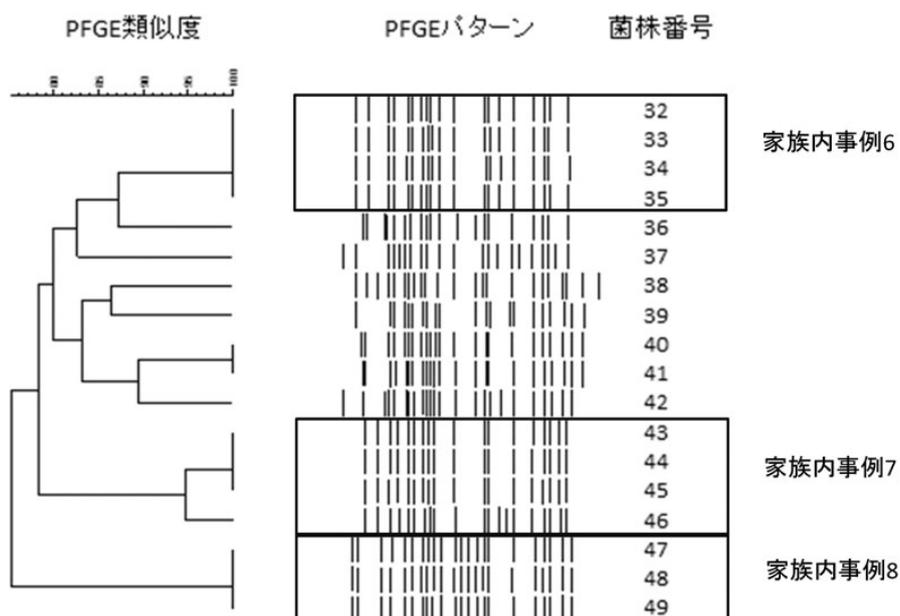


図3 EHEC O26 (VT1) の遺伝子解析結果

O157(VT1&2)の遺伝子解析の結果、4つの家族内での感染事例においては、いずれの事例もPFGEおよびIS法の遺伝子パターンはそれぞれの事例ごとに一致していた。家族内事例2および3の分離株を含む菌株No.6～No.10の5菌株については、同一家族以外に疫学的関連は認められなかった。菌株No.12およびNo.13、さらに菌株No.14～No.16は、PFGEおよびIS法の結果がそれぞれ一致していたが、いずれも疫学的な関連は認められなかった。

O157(VT2)の遺伝子解析の結果、家族内事例5から分離された2菌株を含むNo.26～No.30の5菌株は、PFGEおよびIS法の結果が一致していたものの、疫学的な関連は認められなかった。

平成27年度に搬入されたEHECの菌株数は、平成26年度の77菌株から57菌株と全体としては減少したが、O26(VT1)は平成26年度の7株を上回り18菌株であった。

表3 患者・保菌者の年齢構成および性別

	耐性薬剤	血清型	菌株数
5剤	ABPC, KM, SM, ST, TC	O111 VT1&2	1
3剤	ABPC, SM, ST	O26 VT1	3
	ABPC, SM, TC	O26 VT1	1
2剤	SM, TC	O157 VT2	1
	ABPC, SM	O26 VT1	1
単剤	CP	O26 VT1	1
	ST	O157 VT1&2	1
中間値	SM	O157 VT1	1
		O157 VT2	1
		O26 VT1	1
	CP	O157 VT1&2	1
FOM	O26 VT1	1	
感受性			43
計			57

PFGEによるO26(VT1)の遺伝子解析の結果、家族内事例6および8は、事例ごとにPFGEパターンが一致していた。家族内事例7から分離されたNo.43~46の4菌株は、菌株No.46のみPFGEのバンド2本分が異なっていたが、他の3菌株との類似度は約95%と高い値を示しており、同一感染源由来の可能性が強く示唆された。また、食肉衛生検査所から搬入されたウシ由来の2株(No.40, No.41)は同時期に分離されており、PFGEパターンも一致していた。

この他、O111(VT1&2)の2株は、疫学調査の結果から同一店舗の焼肉店を利用した患者2名から分離されており、PFGEが一致していた。O103(VT1)の2株は、ヒト由来とウシ由来であったが、PFGEパターンの類似度が95%と高い値を示した。

次に、EHEC57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、9株がいずれかの薬剤に耐性を示し、この内7株は多剤耐性であった。5株は中等度耐性を示した。57株中43株が供試した11薬剤に感受性であった。

今回、大規模な集団事例は起きなかったものの、家族内における感染事例が8例確認され、一般家庭に対してEHECの感染防止に向けた啓発が改めて必要と思われた。血清型別に見ると、O26の感染事例が増加し、さらに、

市販の血清では判定できないEHECが2株確認され、O157等の主要な血清型はもちろんであるが、これら以外の血清型についても動向を注視する必要がある。

EHECの散発および集団事例に対しては迅速に原因菌を探索して拡大を防止しなければならない。当所ではEHECの遺伝子解析の結果が一致した場合は、直ちにEHEC感染症の届出のあった保健福祉事務所にこの結果を報告して情報の共有化を図っている。今後もPFGEを中心とした遺伝子解析を行うことにより、EHEC感染症の原因究明および広域的な集団発生の把握に努めたいと考える。

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、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。

## 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)