

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28年度）

古川一郎, 政岡智佳, 中嶋直樹, 黒木俊郎

Occurrence of enterohemorrhagic  
*Escherichia coli* in Kanagawa Prefecture  
 (April,2016-March,2017)

Ichiro FURUKAWA, Tomoka Masaoka,  
 Naoki NAKAJIMA 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直ち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遺伝子解析を実施し, 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. 感染研では, 2014年度から遺伝子解析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, 神奈川県域(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)から集まったEHECについて血清型別, 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)を併せて実施している. 本報では, 平成28年度に収集したヒトおよび集団食中毒事例の原因食品から分離されたEHEC 120株の遺伝子解析および薬剤感受性試験の結果について報告する.

EHEC 120株のうち, ヒト由来株はO157(VT2)の集団食中毒事例で分離された61株を含む116株であり, この他集団食中毒事例の原因食品から4株が分離された. 116株のうち89株は, 県域の医療機関等で分離され, 27株は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

表1 EHEC 116株の血清型およびVero毒素型(平成28年度)

施設	菌株数	O157		O26	O111		O121	O103	O91	OUT
		VT1&2	VT2	VT1	VT1&2	VT1	VT2	VT1	VT1&2	VT2
平塚保健福祉事務所	38	6	30		1	1				
同上 秦野センター	15	1	11	3						
茅ヶ崎保健福祉事務所	10	4	3	3						
厚木保健福祉事務所	7	1	2	4						
同上 大和センター	1						1			
小田原保健福祉事務所	11	1	5					4		1
鎌倉保健福祉事務所	4	1	3							
同上 三崎センター	3						3			
藤沢市保健所	27	7	15	4					1	
計(割合)	116	21 (18.1%)	69 (59.5%)	14 (12.1%)	1 (0.9%)	1 (0.9%)	4 (3.4%)	4 (3.4%)	1 (0.9%)	1 (0.9%)

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	4	8	12
6-10	8	5	13
11-20	15	13	28
21-30	7	6	13
31-40	2	9	11
41-50	6	9	15
51-60	4	3	7
61-70	4	5	9
>70	3	5	8
計	53	63	116

分離された。表1には管轄施設別の搬入菌株数、EHECの血清型、毒素型および分離株数を示した。ヒト由来の116株の血清型およびVT型は、O157(VT1&2) 21株、O157(VT2) 69株、O26(VT1) 14株、O111(VT1&2) 1株、O111(VT1) 1株、O121(VT2) 4株、O103(VT1) 4株、O91(VT1&2) 1株、O型別不能(以下、UTと略す)(VT2) 1株であった。

EHECが分離された患者および保菌者の性別と年齢構成は、男性が53名、年齢範囲1～79歳で平均29.1歳、女性が63名、年齢範囲1～84歳で平均32.0歳であった(表2)。

PFGEは、制限酵素Xba Iを使用し、6V/cm、パルスタイム2.2～54.2秒、12℃の条件下で19時間行われた。泳動パターンについてBioNumerics (Applied Maths社)を用いてクラスター解析し、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、PFGEパターンが一致した場合あるいは家族内感染等の疫学的関連が認められた場合は1つの事例として図中に示した(図1、図2、図3)。また、IS法の結果をパターンごとに記号で表記した。

O157(VT1&2)の遺伝子解析の結果、感染事例1～4において、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。事例2および3は、PFGEの遺伝子パターンは異なるものの類似度は95%以上と高く、IS法のパターンも一致しており疫学的な関連が疑われたが、事例2は家族内感染であり、共通食品の喫食等、事

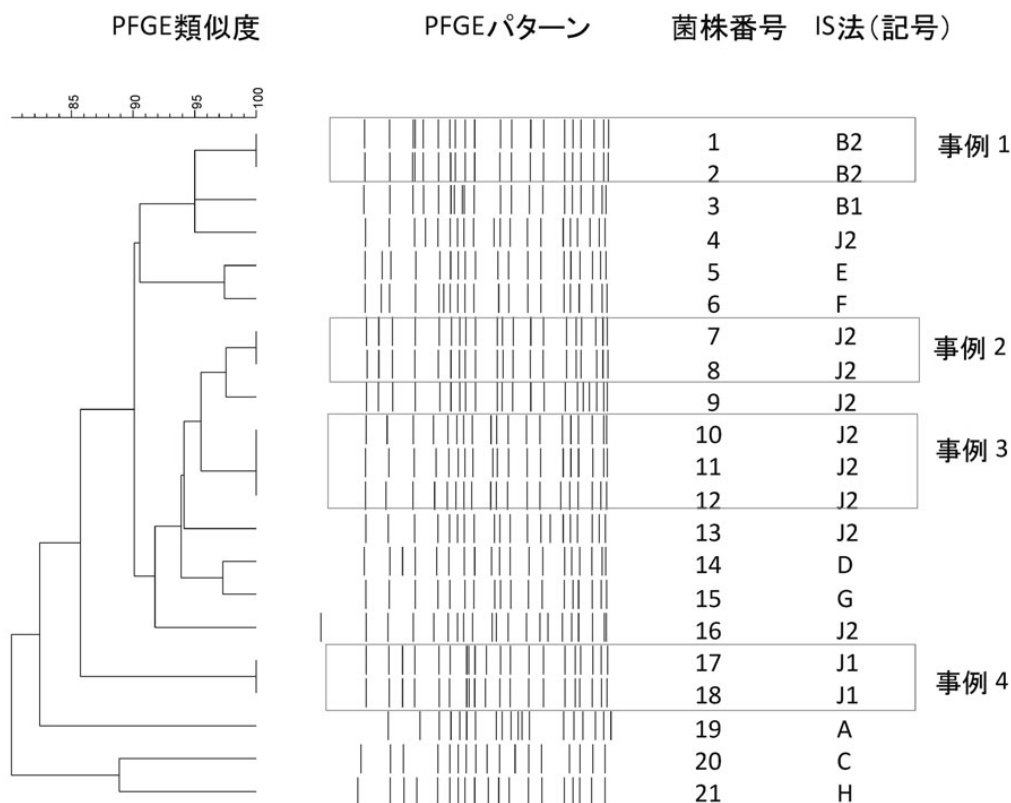


図1 EHEC O157 (VT1&2) の遺伝子解析結果

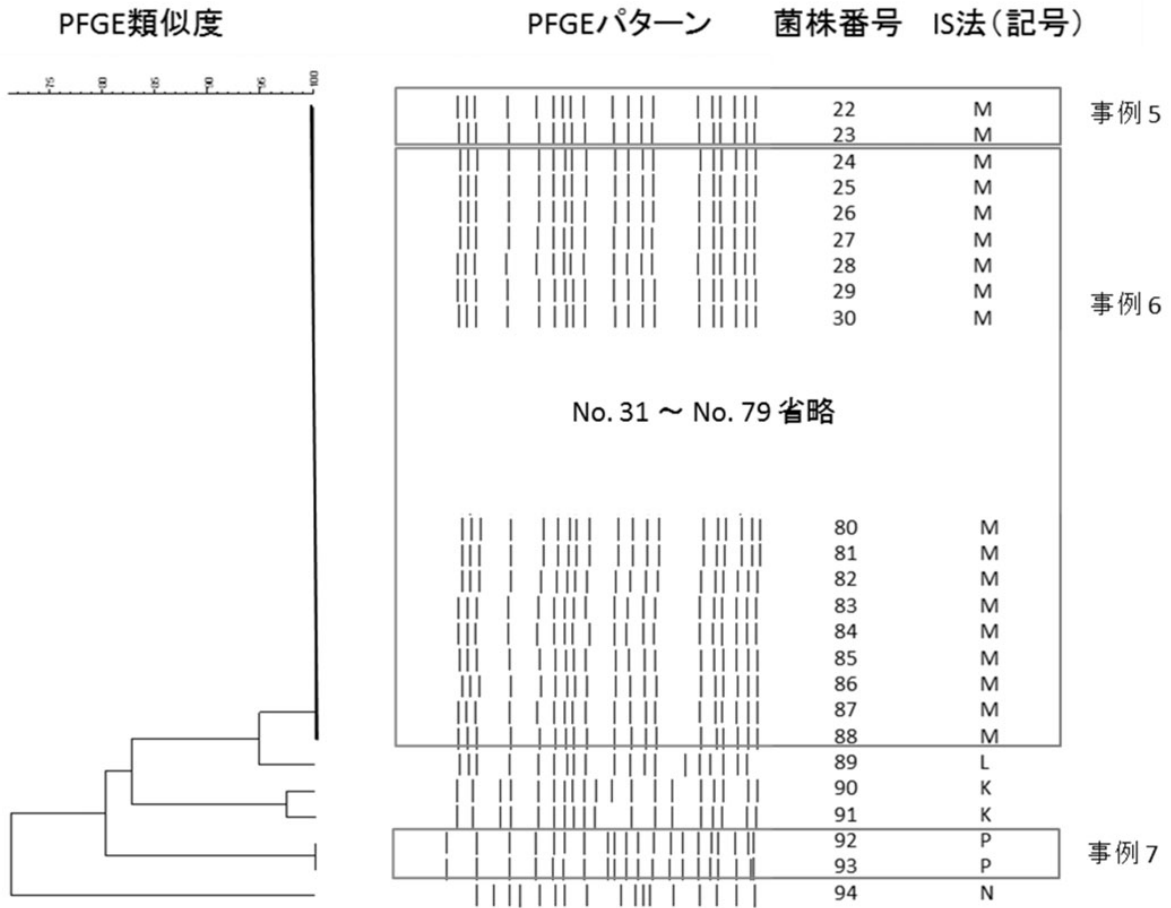


図2 EHEC O157 (VT2) の遺伝子解析結果

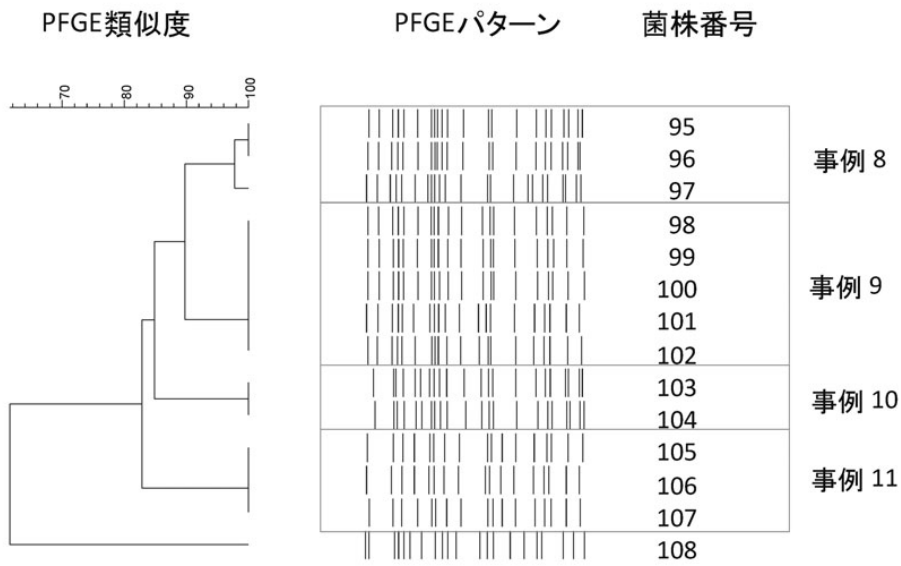


図3 EHEC O26 (VT1) の遺伝子解析結果

例3との直接的な関連は認められなかった。さらに散发事例の菌株No.4, 8, 12, 13およびNo.16のPFGEパターンは、90%以上の類似性が認められたもののバンド数1～3本分が異なっていたが、IS法の遺伝子パターンは一致していた(図1)。IS法は、1日以内に結果が得られるなど迅速性に優れており、スクリーニング法として有効であるが、より識別能力に優れたPFGEあるいはMLVAによる解析の必要性が改めて示された。MLVAについては年度内の導入に向けて検討中である。

O157(VT2)の遺伝子解析の結果、集団食中毒事例である事例6について、患者およびその家族等から分離された61株、原因食品と同一ロットの食品から分離された3株、原因食品と同じ施設で製造された別製品から分離された1株、計65株のPFGEおよびIS法のパターンはすべて一致していた。事例5の菌株No.22と23は、事例6で分離された菌株と同一のPFGEおよびIS法パターンを示したが、国立感染症研究所においてMLVAにより解析した結果、これら2つの事例の分離菌株は互いに異なる遺伝子パターンであることが確認された。事例7の菌株No.92と93のPFGEおよびIS法の遺伝子パターンは一致していたが、共通食品の喫食等、疫学的な関連は認められなかった(図2)。

O26(VT1)の事例8、事例9および事例11はいずれも家族内事例であったが、事例9には2つの家族が含まれているものの、共通食品の喫食等、家族間の疫学的な関連は認められなかった。事例10の菌株No.103と104は、他の自治体における集団事例の患者および接触者から分離された(図3)。

次に、EHEC 116株について、アミノベンジルペニシリン(ABPC)、セフォタキシム(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、試験の結果は薬剤ごとの阻止円の基準に従い、耐性、中間、感受性に分けて判定した(表3)。その結果、集団食中毒事

例の分離株を含む105株は、供試した11薬剤すべてに感受性であった。その他の11株はいずれかの薬剤に耐性を示したが、すべて散发事例由来であった。O111(VT1&2)の1株は、ABPC, CP, GM, KM, NA, SM, ST, TCの8剤に耐性を示し、O26(VT1)の1株は4剤耐性、O157(VT2)の2株は3剤耐性、O157(VT1&2)の1株およびO121(VT2)の1株が2剤耐性であった。OUT(VT2)の1株およびO157(VT1&2)の1株は単剤耐性、3株はそれぞれ単剤で中間を示した。

平成28年度に解析したEHECの菌株数は、O157(VT2)による集団食中毒事例が発生したことにより、平成27年度の57株から大幅に増加した。今回の集団食中毒事例では、早期に原因食品が特定されたことにより、マスコミを通じた県民への情報提供や食品の回収等感染拡大の防止が図られた。本事例では遺伝子解析の結果が一致した時点で県生活衛生課に情報を集約し、その結果は迅速に各保健福祉事務所に連絡された。さらに、患者が県域以外の周辺地域にも見られたため、周辺の自治体とも情報を共有し、迅速に原因菌の分布状況が把握できた。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(食品由来感染症の病原体情報の解析及び共有化システムの構築に関する研究)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、生活衛生課、健康危機管理課ならびに藤沢市保健所の方々に深謝いたします。

## 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)