

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29年度）

古川一郎，政岡智佳，中嶋直樹

Occurrence of enterohemorrhagic
Escherichia coli in Kanagawa Prefecture
(April,2017-March,2018)

Ichiro FURUKAWA, Tomoka Masaoka,
and Naoki NAKAJIMA

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¹⁾。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 Multilocus variable-number tandem-repeat analysis（以下、MLVAと略す）を用いた解析が実施され、その結果は各自治体へ還元されている。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、EHECが分離されなくても、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¹⁾、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、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29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 91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。

当所微生物部に搬入されたEHEC 91株の内訳は、県内の保育施設における集団事例で分離されたO26(VT1)

表1 EHEC 91株の血清型およびVero毒素型（平成29年度）

施設	菌株数	O157		O26	O103	O121	O165	OUT
		VT1&2	VT2	VT1	VT1	VT2	VT1&2	VT2
平塚保健福祉事務所	16	4	12					
同上 秦野センター	31	6	2	23				
鎌倉保健福祉事務所	3		2					1
小田原保健福祉事務所	8	5	3					
同上 足柄上センター	7	4	3					
厚木保健福祉事務所	10	4	5		1			
同上 大和センター	3		1	1		1		
茅ヶ崎市保健所	1	1						
藤沢市保健所	12	5	4	2			1	
計（割合）	91	29 (31.9%)	32 (35.2%)	26 (28.6%)	1 (1.1%)	1 (1.1%)	1 (1.1%)	1 (1.1%)

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	13	8	21
6-10	3	3	6
11-20	4	1	5
21-30	5	11	16
31-40	6	8	14
41-50	3	2	5
51-60	2	7	9
61-70	4	3	7
>70	3	3	6
計	43	46	89

23株を含むヒト由来89株および食品由来2株であった。91株のうち59株は、県域の医療機関等で分離され、32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89株の血清型およびVT型は、O157(VT1&2) 29株、O157(VT2) 30株、O26(VT1) 26株、O103(VT1) 1株、O121(VT2) 1株、O165(VT1&2) 1株、OUT(VT2) 1株、食品由来株はO157(VT2)が2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43名、年齢範囲3～80歳で平均29.1歳（中央値27.0歳）、女性が46名、年齢範囲1～81歳で平均32.8歳（中央値29.5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時間行った。泳

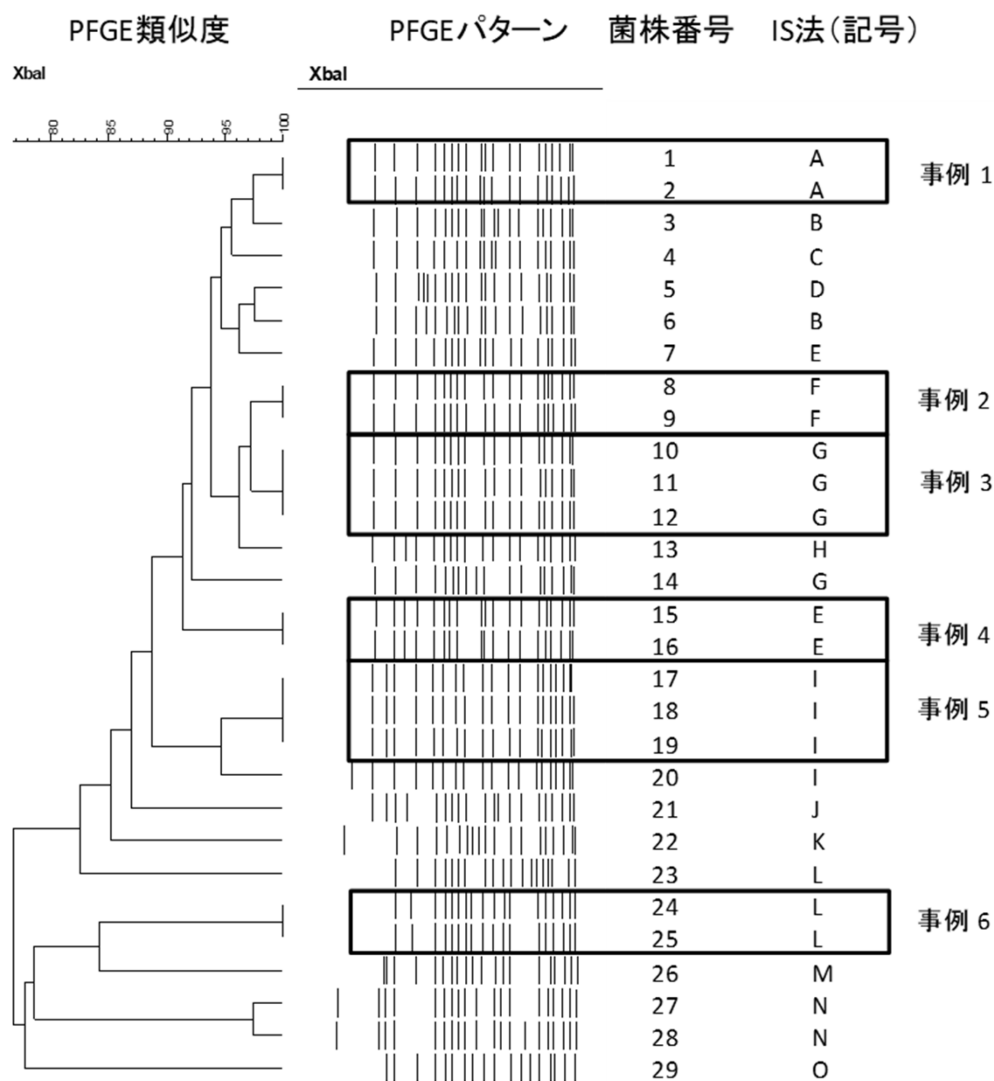


図1 EHEC O157(VT1&2) 29株の遺伝子解析結果

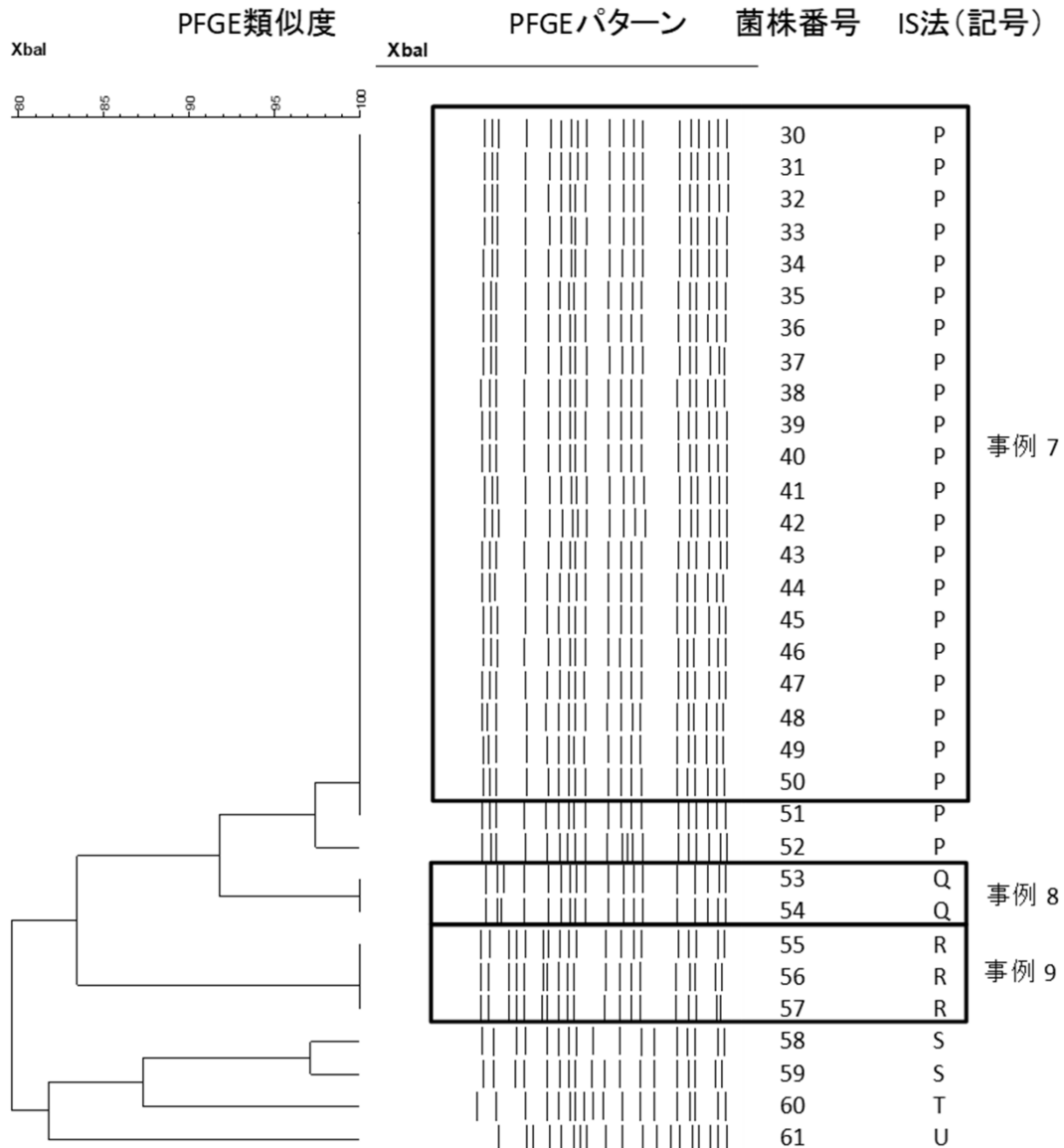


図2 EHEC O157(VT2) 32株の遺伝子解析結果

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) を併せて行い、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1-3)。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) 29株の遺伝子解析の結果、事例1、3、5および6は家族内事例の分離株であり、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(図1)。菌株No.20は事例5の同一家族から分離された株であり、IS法の遺伝子パターンは一致していたが、PFGEでは遺伝子パターンの類似度は高いものの、バンド2本分が異なっていた(類似度約95%)。事例2および4は、PFGEおよびIS法の遺伝子パターンは事例ごとにそれぞれ一致していたが、共通食品の喫食等、疫学的な関連は認められなかった。

O157(VT2) 32株については、事例7とした22株は関東地方を中心に広く分離された菌株と遺伝子解析の結果が一致する菌株であった(図2)。さらに、このうち食品由来の2株は、ある民間施設において昼食として提供された食品から分離され、施設利用者は喫食により感染した可能性が考えられたが、同一施設の利用者で当該食品を喫食していない患者も確認されたことから、菌分離され

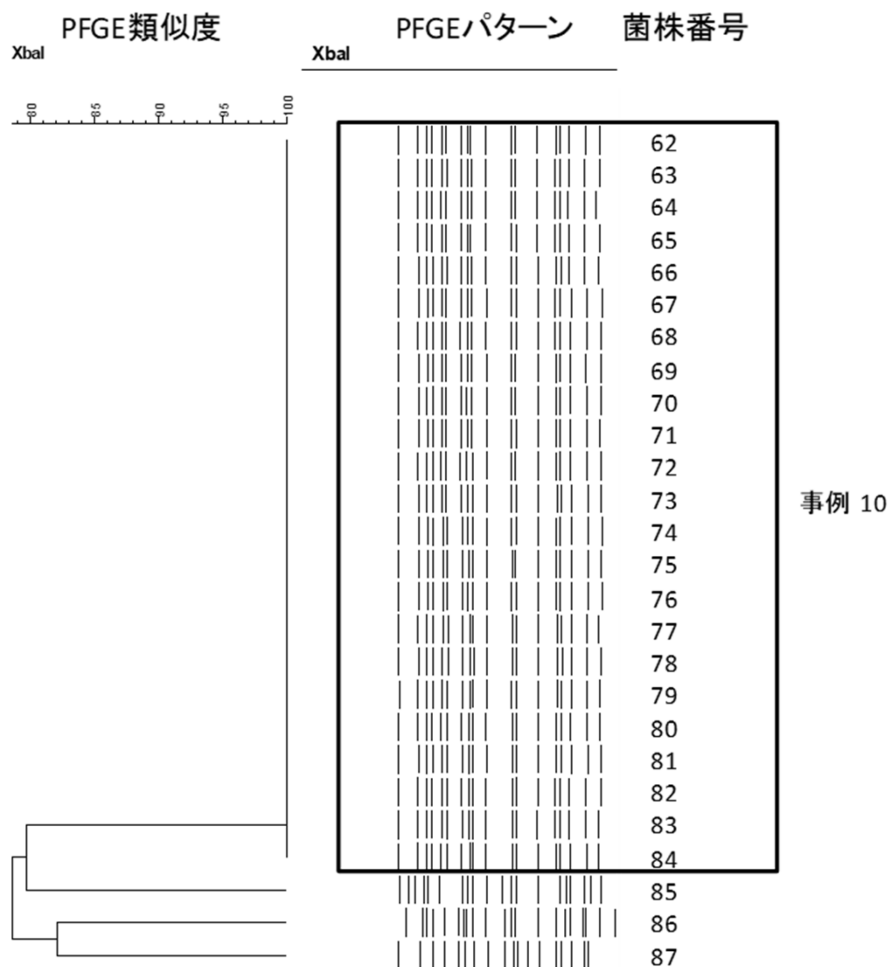


図3 EHEC O26(VT1) 26株の遺伝子解析結果

た食品が原因とは断定されなかった。そのほか菌株No.52, 53および54は、PFGEでは上記22株との類似性が95%以上を示し、菌株No.52はIS法の遺伝子パターンも一致していた。今回のような広範囲にわたる地域で遺伝子パターンが一致あるいは類似度が高い菌株が分離されたことについては、他の自治体においても患者の疫学的な調査が行われたが、感染源および感染経路の特定には至らなかった。事例8の菌株No.53およびNo.54が分離された患者あるいは事例9におけるNo.56およびNo.57が分離された患者らは、疫学情報から各家庭における感染が疑われたが、事例9のNo.55が分離された患者は、PFGEパターンが一致するNo.56およびNo.57が分離された患者とは互いに血縁関係や知人ではなく、共通食品の喫食等、疫学的な関連は認められなかった。

O26(VT1) 26株の遺伝子解析の結果、県域の保育施設における集団感染事例において患者および家族等の接触者から分離された23株のPFGEパターンはすべて一致していた(図3)。

次に、EHEC 91株について、CLSI (米国臨床検査標

準化協会) 法²⁾ に準拠して薬剤感受性試験を実施した。12薬剤〔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)、ノルフロキサシン(NFLX)、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)]を用い、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)。4剤および3剤に耐性を示したO157(VT1&2)の2株は、いずれも散発的な事例で分離された菌株であった。2剤耐性を示したO157(VT1&2)の2株は、図1の事例6とした家族内感染の分離株であった。保育施設における集団事例の分離株であるO26(VT1) 23株は、すべて遺伝子型は一致していたものの、1株がABPCに耐性、2株が3剤あるいはFOM, SMの2剤に対し中間を示し、さらに、5株がFOM単剤、3株がSM単剤に対し中間を示すなど、薬剤耐性パターンと遺伝子パターンは一致しなかった。図2の事例7とした22株では、CPに中間を示した2株お

表3 EHEC 91株の薬剤感受性試験結果

判 定	薬剤の数とその内訳	血清型	菌株数
耐 性	4剤 ABPC, SM, ST TC	O157 VT1&2	1
	3剤 ABPC, SM, ST	O157 VT1&2	1
	2剤 SM, TC	O157 VT1&2	2
	単剤 ABPC	O26 VT1	1
中 間	3剤 CP, FOM, SM	O26 VT1	1
	2剤 FOM, SM	O26 VT1	2
		CP, FOM	1
	ABPC	O157 VT1&2	2
		O103 VT1	1
	CP	O157 VT2	2
		O157 VT1&2	1
	FOM	O26 VT1	5
		SM	11
	単剤	O26 VT1	4
		O157 VT1&2	3
		O121 VT2	1
		O8 VT1&2	1
感 性			51
計			91

よびSMに中間を示した11株中 5 株がこれに含まれ、その他の15株は今回試験した12薬剤に対してすべて感受性であった。

平成29年度は、上述したとおり関東地方を中心に遺伝子パターンが一致するO157(VT2)が分離され、県域では

患者由来20株、食品由来 2 株が確認された。これらの感染源および感染経路は特定されていないが、原因究明に向けて今後も遺伝子解析を実施し、同一あるいは類似する遺伝子型の菌株の分離状況を注視しなければならない。さらに、県域内の保育施設でO26(VT1)による集団感染事例が発生し、児童とその家族から菌が分離され、6 家族を含む23名まで感染が拡大したことが確認された。感染拡大の防止に向け、児童やその家族に対する啓発あるいは保育施設における日頃の感染症対策が必要と考える。

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、藤沢市保健所ならびに茅ヶ崎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)