

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30年度）

古川一郎，政岡智佳，中嶋直樹

Occurrence of enterohemorrhagic
Escherichia coli in Kanagawa Prefecture
 (April,2018-March,2019)

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る¹⁾。患者あるいは保菌者から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。さらに，EHECの広域的な感染事例を迅速に探知するため「腸管出血性大腸菌による広域的な感染症・食中毒に関する調査について」（平成30年6月29日付事務連絡，厚生労働省健康局結核感染症課，厚生労働省医薬・生活衛生局食品監視安全課）に従い，各症例の疫学的な情報と菌株の遺伝子解析の結果について国および自治体が情報共有することとなった。

感染研では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）を用いた解析法が平成26年度から導入された。現在は，O103，O121，O145，O165およびO91を加えた合計8つの血清型について実施されている。

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，ベロ毒素（以下，VTと略す）型別，薬剤感受性試験およびPFGE法を実施している。さらに，血清型がO157，O26およびO111の株については，MLVA法を用いた遺伝子解析を併せて実施している。本報では，平成30年度に収集したEHEC 111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 111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) 34株を含むヒト由来111株であった。111株のうち64株は，県域の医療機関等で分離され，47株は当所地域調

表1 EHEC 111株の血清型およびVero毒素型（平成30年度）

管轄施設	菌株数	O157		O26		O111	O103	O121	OUT
		VT1&2	VT2	VT1	VT2	VT1&2	VT1	VT2	VT2
平塚保健福祉事務所	16	7	6	1				1	1
同上 秦野センター	6	3	2	1					
鎌倉保健福祉事務所	3	3							
同上 三崎センター	1		1						
小田原保健福祉事務所	7	6	1						
同上 足柄上センター	2	2							
厚木保健福祉事務所	51	7	6	34		3	1		
同上 大和センター	6	1	4	1					
茅ヶ崎市保健所	3	1						2	
藤沢市保健所	16	7	4	1	2		2		
計（割合）	111	37 (33.3%)	24 (21.6%)	38 (34.2%)	2 (1.8%)	3 (2.7%)	3 (2.7%)	3 (2.7%)	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	17	15	32
6-10	2	1	3
11-20	8	8	16
21-30	7	10	17
31-40	3	6	9
41-50	2	4	6
51-60	1	12	13
61-70	2	6	8
>70	4	3	7
計	46	65	111

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。111株の血清型およびVT型は、O157(VT1&2) 37株、O157(VT2) 24株、O26(VT1) 38株、O26(VT2) 2株、O111(VT1&2) 3株、O103(VT1) 3株、O121(VT2) 3株、OUT(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46名、年齢範囲0～82歳で平均21.6歳(中央値18.0歳)、女性が65名、年齢範囲1～91歳で平均42.5歳(中央値44.0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時間行った。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、O26およびO111についてはMLVAを併せて行い、

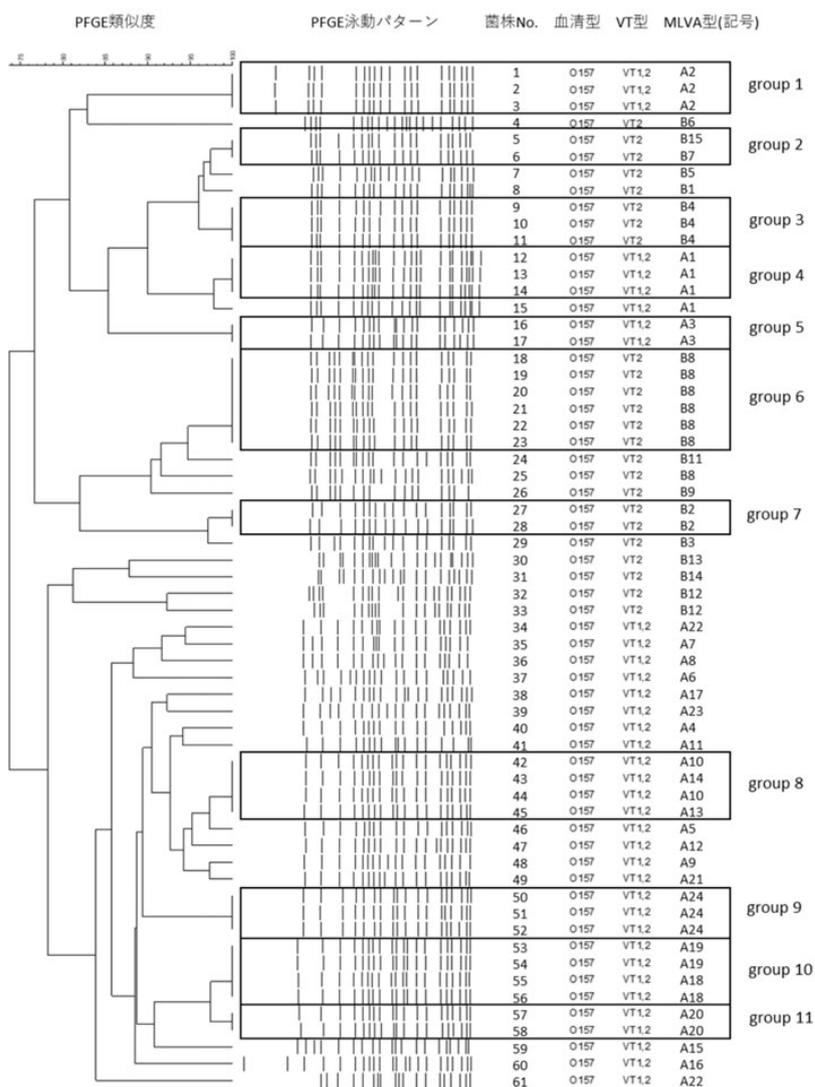


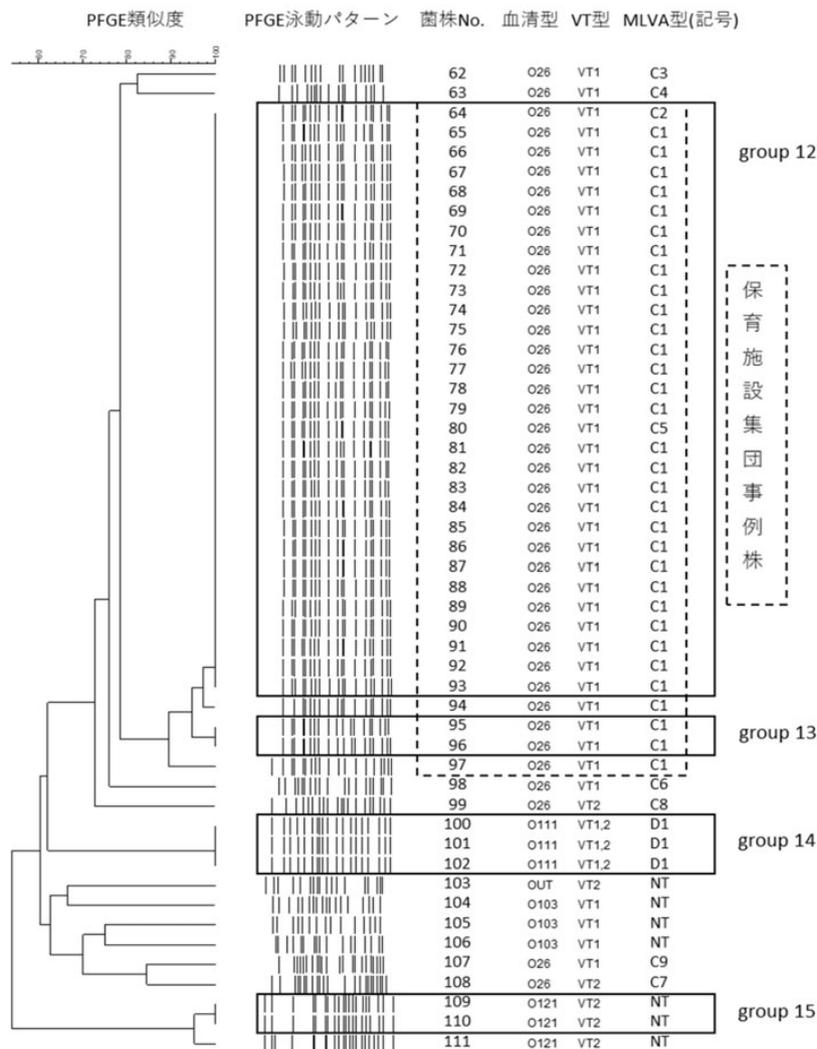
図1 EHEC O157 (61株) の遺伝子解析結果

表 3 EHEC 111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, CP, SM, TC	O157 VT1&2	2
	SM, TC	O157 VT2	2
	2剤 ABPC, CTX	O157 VT2	1
	ABPC, SM	O157 VT1&2	1
	CP	O157 VT1&2	5
	CTX	O157 VT1&2	1
	単剤 FOM	O26 VT1	1
	SM	O26 VT1	1
感 性			97
計			111

方法は腸管出血性大腸菌MLVAハンドブックO157, O26, O111編(地研協議会保健情報疫学部会マニュアル作成ワーキンググループ編)に従って実施した。PFGEの結果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は1つのgroupとして図中に示した(図1, 2)。また、MLVA法の結果についてはパターンごとに記号で表記した。

O157(VT1&2)およびO157(VT2) 61株の遺伝子解析の結果、group 1, 3および4は家族内事例の分離株であり、PFGEおよびMLVA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)。group 6は2家族からの分離株が含まれ、さらに家族間における共通食品の接点があるなど疫学的な関連が認められた。group 2, 5, 7, 8, 10および11については、group 10に含まれる菌株No.55およびNo.56の家族から分離された菌株以外は、患者・保菌者における共通食品の喫食等、疫学的



NT: MLVA未実施

図 2 EHEC O26, O111, O103, O121, OUT (47株) の遺伝子解析結果

な関連は認められなかった。group 9の3菌株が分離された患者は同一の福祉施設を利用していることが確認され、PFGEおよびMLVAの結果も一致していたが感染源および感染経路は不明であった。

O26, O111, O103, O121およびO型別不能(以下、OUT)の菌株50株の遺伝子解析の結果を図2に示した。group 12および13を含むO26(VT1)の34株は、同一保育施設の利用者およびその家族から分離された菌株であり、施設従事者からは分離されなかった。これらの菌株を遺伝子解析した結果、PFGEは4パターン、MLVAは3パターンに分けられたが、すべての菌株はPFGEあるいはMLVAのいずれかのパターンが最も大きなグループと一致するなど、34菌株は同一感染源由来と思われた。O111(VT1&2)の3株を含むgroup 14は、同一家族から分離されており、PFGEおよびMLVAの結果も一致していた。group 15のO121(VT2)2株は、県内のファーストフード店で購入した食品を喫食した家族から分離され、感染研の還元データによると他にも13の自治体において同じ遺伝子型のO121が分離されたことが明らかとなった。菌株No.111はこの2株とPFGEパターンの類似度が90%以上を示し、さらに感染研が実施した遺伝子解析により同一遺伝子型であることが確認された。

次に、EHEC 111株について、CLSI(米国臨床検査標準化協会)法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)、スルフアマトキサゾール・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・感受性に分けて判定した(表3)。4剤に耐性を示したO157(VT1&2)の2株は、図1のgroup 5の菌株であり遺伝子型も一致していた。

SMおよびTCの2剤に耐性を示したO157(VT2)の2株は、遺伝子型は一致せず散発的な分離株であった。CP単剤に耐性を示したO157(VT1&2)5株のうち4株は、図1のgroup 10の4株であり、残りの1株は遺伝子型が異なる株であった。保育施設における集団事例の分離株であるO26(VT1)34株は、今回用いたすべての薬剤に感受性を示した。

平成30年度は、県域に関連する事例としては上述のように複数の自治体をまたぐO121(VT2)の集団事例が発生し、疫学情報ならびに遺伝子解析結果の迅速な情報共有が有効であった。さらに、平成29年度に引き続き保育施設におけるEHECの集団事例が発生し、施設利用者やその家族34名の感染者が確認された。今後感染症の発生抑制や感染拡大防止のために、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一層求められると考える。

なお、この報告の一部は、厚生労働科学研究費補助金(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)によって実施した。

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)