

短報

感染性胃腸炎患者からの原因菌の検出 及び下痢原性大腸菌における病原因子 の保有状況

政岡智佳, 古川一郎, 伊達佳美, 陳内理生,
播磨由利子*, 鈴木美雪, 中嶋直樹, 大屋日登美

Isolation of diarrheal pathogen from patients with diarrhea and prevalence of virulence genes in *Escherichia coli*

Tomoka MASAOKA, Ichiro FURUKAWA,
Yoshimi DATE, Michio JINNAI,
Yuriko HARIMA*, Miyuki SUZUKI,
Naoki NAKAJIMA and Hitomi OHYA

感染性胃腸炎は、細菌またはウイルスなどの感染性病原体による感染症であり、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（感染症法）に基づく5類感染症小児科定点報告の対象となっている。臨床症状としては、原因となる病原体や宿主の状態により異なるが、発熱、下痢、悪心、嘔吐、腹痛などが見られる。

感染性胃腸炎の原因となる細菌は複数存在するが、下痢原性大腸菌はその中で代表的な細菌である。下痢原性大腸菌には、腸管病原性大腸菌(*enteropathogenic Escherichia coli*, EPEC), 腸管毒素原性大腸菌(*enterotoxigenic E. coli*, ETEC), 腸管侵入性大腸菌(*enteroinvasive E. coli*, EIEC), 腸管出血性大腸菌(*enterohemorrhagic E. coli*, EHEC)などがある。2012年に感染症サーベイランスシステムの病原体検出情報システムで下痢原性大腸菌の分類の見直しが行われ、これまでO血清型で判断されていたEPECが`eae`の保有の有無に変更され、さらに`aggR`を保有する大腸菌が腸管凝集付着性大腸菌(*enteroaggregative E. coli*, EAggEC)として新たに追加されるなど、血清型別を中心分類されていたものが、病原因子関連遺伝子の保有の有無による分類へと変更された¹⁾（表1）。

そこで本研究では、神奈川県における感染性胃腸炎の原

表1 下痢原性大腸菌の分類

分類	略称	主な病原因子等	定義
腸管出血性大腸菌	EHEC	VT1、VT2	Vero毒素(VT)産生性あるいはVT遺伝子が確認されたもの
腸管毒素原性大腸菌	ETEC	LT、ST	易熱性エンテロトキシン(LT)、耐熱性エンテロトキシン(ST)、あるいはその両者の産生性あるいは毒素遺伝子が確認されたもの
腸管侵入性大腸菌	EIEC	<i>invE</i>	組織侵入性プラスミドを保有していること、あるいは組織侵入性遺伝子が確認されたもの
腸管病原性大腸菌	EPEC	<i>eae</i>	培養細胞への局在付着性、または、それに関連する遺伝子が確認されたもの VT、LT、ST、侵入性が確認されたものを除く
腸管凝集付着性大腸菌	EAggEC	<i>aggR</i>	培養細胞への凝集付着性、または、それに関連する遺伝子が確認されたもの VT、LT、ST、侵入性が確認されたものを除く
他の下痢原性大腸菌		<i>afaD</i> 、 <i>astA</i>	上記5つに該当しないが胃腸炎の原因菌と考えられるもの 生化学的性状が同じものが多数の患者より検出された場合

神奈川県衛生研究所 微生物部
〒253-0087 茅ヶ崎市下町屋1-3-1

* 相模原市衛生研究所
〒252-0236 相模原市中央区富士見1-3-41

表2 プライマーの塩基配列と増幅サイズ

標的遺伝子	プライマー	Sequence(5'-3')	増幅サイズ(bp)
<i>invE</i>	I-1	ATA TCT CTA TTT CCA ATC GCG T	379
	I-51	GCG GAG AAA TTA TAT CCC G	
<i>stx1</i>	mmk1_1	GAA TTT ACC TTA GAC TTC TCG AC	234
	mmk1_2	TGT CAC ATA TAA ATT ATT TCG TTC	
<i>stx2</i>	mmk2_1	GAG TTT ACG ATA GAC TTT TCG AC	234
	mmk2_2	GCG CAC ATA TAA ATT ATT TTG CTC	
<i>STp</i>	ST1a_as	GGA TTA CAA CAA AGT TCA CAG	179
	ST1a_s	GCA ATT TTT ATT TCT GTA TTA TCT TT	
<i>STh</i>	ST1b_S2	TTT TTC ACC TTT CGC TCA G	179
	ST1b_A1	TTA ATA GCA CCC GGT ACA AG	
<i>LT</i>	LT-11	CCC ACC GGA TCA CCA	123
	LT-2	GTG CTC AGA TTC TGG GTC TC	
<i>eae</i>	mSK1	CCG GCA CAA GCA TAA GC	310
	eaekas_a	TGG CAA AAT GAT CTG CTG	
<i>aggR</i>	aggR_multi_S4	GCG ATA CAT TAA GAC GCC TA	254
	aggR_multi_A4	AAA GAA GCT TAC AGC CGA TA	
<i>astA</i>	EASTOS1	GCC ATC AAC ACA GTA TAT CCG	109
	EASTOAS2	CGC GAG TGA CGG CTT TGT AG	
<i>afaD</i>	afaDks1	GGG AGT ATA AGG AAG ATG ATG C	207
	adaDks1	GTC CAC CTG ACG CTC A	

表3 年度別の病原菌検出状況

年度	検体数	病原菌検出		検出病原菌(検体)			
		検体数 (検出率%)	下痢原性 大腸菌	カンピロバクター・ ジェジュニ/コリ	サルモネラ 属菌	エロモナス 属菌	ウェルシュ菌
2014	102	31 (30.4%)	24	7			
2015	89	26 (29.2%)	25	2	1	1	
2016	41	12 (29.3%)	10	3		1	
2017	18	7 (38.9%)	5	2		1	
2018	29	5 (17.2%)	3	1		2	
計	279	81 (29.0%)	67	15	1	3	2

※病原菌の重複感染の検体は7検体

因菌の検出状況を調査するとともに、下痢原性大腸菌の病原因子の保有状況について調査を行ったので報告する。

材料および方法

2014年4月から2019年3月の間に、協力医療機関から搬入された感染性胃腸炎患者便279検体を調査対象とした。

患者便は保存培地入りの採便管を使用し当所に搬入された。検出対象菌は、下痢原性大腸菌、腸炎ビブリオ、コレラ菌、ナグビブリオ、ビブリオ・フルビアリス、赤痢菌、サルモネラ属菌、チフス菌、パラチフス菌、黄色ブドウ球菌、カンピロバクター・ジェジュニ/コリ、ウェルシュ菌、セレウス菌、エロモナス属菌、エルシニア・エンテロコリチカ及びプレジオモナス・シゲロイデスとし常法に従い分離及び同定を行った。大腸菌の病原因子の検出にはPCR法を用い、検出を行った病原因子及び使用したプライマーは表2に示した。病原因子が検出されるか、検出されない場合でも市販のO血清で凝集

搬入数と検出率(平均)

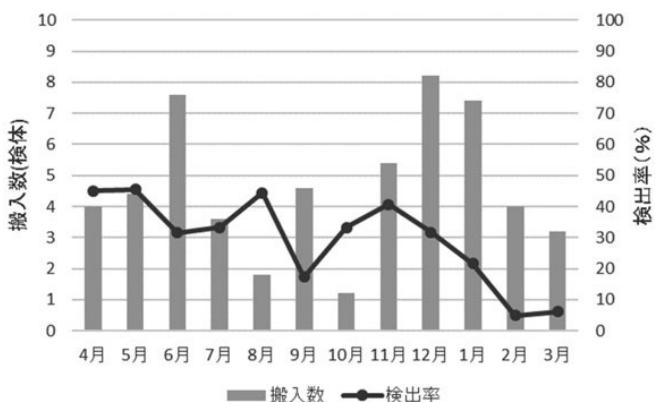


図1 月別の検体搬入数と感染性胃腸炎原因菌検出率

が確認されたものを下痢原性大腸菌とした。

結果および考察

279検体中81検体（29.0%）から88株の感染性胃腸炎原因菌が分離され、このうち複数の菌種が感染していたのは7検体であった。各年度の感染性胃腸炎原因菌の検出率は2018年度が一番低く17.2%で2017年度が一番高く38.9%となり、調査期間中の平均は29.0%であった（表3）。菌種別の検出状況は、いずれの年度でも下痢原性大腸菌が最も多く、次いでカンピロバクター・ジェジュニ/コリという結果となった（表3）。この2つは調査期間中、毎年度検出されており、感染性胃腸炎原因菌として市中に常在している可能性が示唆された。

月別の感染性胃腸炎原因菌の検出率を図1に示した。検体搬入数は11月から1月にかけて増加しているが、感染性胃腸炎原因菌の検出率は4月から8月にかけて高くなっている。冬場の感染性胃腸炎検体数の増加はウイルス性下痢症など、細菌以外が原因となっている可能性が考えられた。

下痢原性大腸菌は67検体から68株分離され、検出を行った病原因子のいずれかを保有していたのは29株であった（表4）。最も多く検出された病原因子はastAで他の病原因子との重複保有も含めて13株検出され、調査期間中は毎年度検出された。astA保有大腸菌の検出数が多いのは、他の自治体の報告と同様であった²⁾。複数の病原因子が検出された2株は、ST（耐熱性エンテロトキシン、heat-stable enterotoxin）遺伝子とastA及びaggRとastAという組み合わせであった。astAは腸管凝集付着性大腸菌耐熱性毒素をコードする遺伝子で、本調査と同様にEPECやEAggECといった下痢原性大腸菌から検出されたという報告もあり³⁾、様々な下痢原性大腸菌が保有していると考えられた。astA

表4 下痢原性大腸菌の病原遺伝子保有状況

年度	病原遺伝子		検出病原遺伝子(株)					
	不検出株数	検出株数	<i>astA</i>	<i>afaD</i>	<i>eae</i>	<i>aggR</i>	<i>aggR+astA</i>	<i>ST+astA</i>
2014	18	6	3	3				
2015	15	10	4	4	1	1		
2016	3	7	3	3		1		
2017	3	3			1		1 ¹⁾	1 ¹⁾
2018		3	1	1	1			
計	39 ²⁾	29	11 ³⁾	11 ⁴⁾	3 ⁵⁾	2 ⁶⁾	1 ⁷⁾	1 ⁸⁾

※重複感染検体を含む

1)同一患者由来の菌株

2)O1:5株, O6:3株, O8:2株, O18:5株, O25:7株, O27:1株, O44:2株, O55:1株, O86a:2株, O111:1株, O124:1株, O125:2株, O146:2株, O152:1株, O153:2株, O166:1株, O167:1株

3)O1:1株, O6:2株, O25:1株, O型別不能:7株

4)O1:2株, O15:1株, O18:1株, O25:3株, O型別不能:4株

5)O型別不能:3株

6)O型別不能:2株

7)O型別不能:1株

8)O169:1株

表5 下痢原性大腸菌の病原遺伝子検出状況と主な臨床症状

病原遺伝子	患者数	症状		
		下痢	嘔吐	発熱
<i>aggR</i> 単独	2	2 (100%)	2 (100%)	
<i>eae</i> 単独	2	2 (100%)	1 (50%)	
<i>astA</i> 単独	10	8 (80%)	2 (20%)	1 (10%)
<i>afaD</i> 単独	9	8 (88.9%)	3 (33.3%)	
[ST+astA]+[aggR+astA]	1	1 (100%)		
病原遺伝子不検出	36	33 (91.7%)	7 (19.4%)	8 (22.2%)
下痢原性大腸菌単独				

()内の数値は、各下痢原性大腸菌に感染した患者のなかで症状を呈した患者の割合を示す。下痢原性大腸菌が検出された患者の中に無症状者はいなかった。

患者の中には複数の臨床症状を呈するものがいた。

単独での下痢原性は不明であるが、*astA* 単独保有大腸菌による食中毒が報告されており⁴⁾、*astA* 単独保有の大腸菌でもヒトに下痢などを引き起こす可能性があると考えられる。東京都が行った食品由来大腸菌の病原遺伝子保有状況の調査では、供試した大腸菌株277株のうち38株（13.7%）が*astA*を保有しており、検出された病原遺伝子の中で最も多く、*astA* 保有大腸菌の92%は生

野菜から分離された株であった⁵⁾。これらのことから、*astA*は他の地域同様に神奈川県でも検出頻度の高い病原遺伝子であり、身近な下痢原性大腸菌の病原因子のひとつとして注意が必要であると考えられた。

下痢原性大腸菌の病原遺伝子検出状況と主な臨床症状について表5にまとめた。*aggR*は凝集線毛の産生を促進的に制御する遺伝子で、小児の持続性下痢との関連性が示唆されている⁶⁾。東京都や鹿児島県の報告では*eae* 検出のEPECと比較し、*aggR* 検出のEAggECに感染した患者で嘔吐の症状が多く見られており²⁾⁷⁾、本調査でも*aggR* 検出大腸菌単独感染の患者の2人中2人で嘔吐が見られた。また、鹿児島県の報告では*eae*が検出されたEPEC単独感染の患者のうち83.3%で発熱が見られ、他の分類の下痢原性大腸菌患者と比較し高い割合であった²⁾。本調査では*eae* 検出大腸菌の単独感染の患者の2人中1人で発熱の症状が見られ、発熱の症状が見られた他の分類の下痢原性大腸菌と比較すると高い割合であった。*eae*は付着因子であるインチミンをコードする遺伝子で、多くのEHEC菌株が保有していることが知られているが、発熱との関連は不明であった。

今回の調査で下痢原性大腸菌は感染性胃腸炎の原因菌として最も身近なものであり、様々な病原因子を保有していることが明らかとなった。検出された病原因子の中

には、患者の臨床症状と関連が疑われる症例もあったが、関連性を明らかにすることはできなかった。下痢原性大腸菌の病原因子の保有状況と患者の臨床症状の関連を調査することは、各病原因子の病原性を明らかにすることに繋がると考えられ、今後も調査を継続し、データを蓄積していくことが重要であると考えられた。

謝辞

本調査の遂行にあたりご協力いただいた医療機関の皆さんに深謝いたします。

参考文献

- 1) 伊藤健一郎, 伊豫田淳, 八柳潤, 甲斐明美, 磯部順子, 勢戸和子ほか : 下痢原性大腸菌の分類の見直しについて, IASR, 33(1), (2012)
- 2) 濱田まどか, 石谷完二, 濱田結花, 上村晃秀, 御供田睦代 and 岩切忠文 : 感染症発生動向調査事業における下痢原性大腸菌の検出状況, 鹿児島県環境保健センター所報, 14, 59-62, (2013)
- 3) 磯崎将博, 小林治, 星子文香, 津嶋かおり, 金子優, 松下久美子ほか : 下痢症患者から分離された下痢原性大腸菌の各種病原因子の保有状況について, 日本臨床微生物学雑誌, 26(1), (2016)
- 4) 中村寛海, 梅田薰, 山本香織, 長谷篤, 平井有紀, 小笠原準ほか : 腸管凝集付着性大腸菌耐熱性毒素遺伝子(*astA*)保有大腸菌O166:H15が原因と考えられた社員食堂における食中毒事例について一大阪市, IASR, 36, 89-90, (2015)
- 5) 上原さとみ, 松下秀, 鈴木康規, 小林真紀子, 加藤玲, 村内このみほか : 食品由来大腸菌の下痢原性に関与する病原遺伝子の保有状況と薬剤耐性, Ann. Rep. Tokyo Metr. Inst. Pub. Health, 67, 121-126, (2016)
- 6) Guodong D. Fanf, Aldo A. M Lima, Ceci V. Martins, James P. Nataro and Richars L. Guerrant : Etiology and epidemiology of persistent diarrhea in northeastern Brazil: a hospital-based, prospective, case-control study, Journal of Pediatrc Gastroenterology and Nutrition, Aug; 21(2), 137-44, (1995)
- 7) 加藤玲, 尾形和恵and 山田澄夫 : 散発下痢症患者由来大腸菌の腸管病原性大腸菌(EPEC)*eaeA*遺伝子および腸管凝集性大腸菌(EAggEC)*aggR*遺伝子保有状況とその病原性の評価, 感染症誌, 76, 721-729, (2002)