

資料

神奈川県における腸管出血性大腸菌の検出状況（令和元年度）

古川一郎，政岡智佳，中嶋直樹

Occurrence of enterohemorrhagic *Escherichia coli* in Kanagawa Prefecture (April,2019-March,2020)

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届出が必要となる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、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EHEC感染症と診断された場合も届出の対象となつており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O抗原凝集抗体の確認を行っている。

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)から集まつたEHECについて血清型別、VT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

表1 EHEC 37株の血清型およびVero毒素型(令和元年度)

管轄施設	菌株数	O157		O26	O91	O103	O111	OUT
		VT1&2	VT2					
平塚保健福祉事務所	2	1		1				
同上 秦野センター	4	3						1
鎌倉保健福祉事務所	2	2						
同上 三崎センター	2	2						
小田原保健福祉事務所	4	2	1		1			
同上 足柄上センター	2	1	1					
厚木保健福祉事務所	4	3		1		1		
同上 大和センター	3		1			2		
茅ヶ崎市保健所	3		1				1	1
藤沢市保健所	11	6	4					1
計 (割合)	37	20 (54.1%)	8 (21.6%)	2 (5.4%)	1 (2.7%)	2 (5.4%)	2 (5.4%)	2 (5.4%)

表2 年齢層別・性別によるEHEC感染症患者及び保菌者の数

年齢層	男性	女性	計
0 - 5	6	3	9
6-10	1		1
11-20	1	1	2
21-30	3	5	8
31-40	1	4	5
41-50	2	3	5
51-60		1	1
61-70		1	1
>70	2	4	6
計	16	22	38
年齢平均値	25.8	38.2	33.0
年齢中央値	22.0	33.0	29.0

を用いた遺伝子解析を併せて実施している。本報では、令和元年度に収集したEHEC 37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 37株の内訳は、すべてヒト由来であり、35株は県域の医療機関等で分離され、2株は当所地域調査部において患者家族および接

触者の検便から分離された。菌株の他にHUS患者の血清1検体が搬入され、O157の血清抗体が確認された。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。37株の血清型およびVT型は、O157(VT1&2) 20株、O157(VT2) 8株、O26(VT1) 2株、O103(VT1) 2株、O111(VT1) 2株、O91(VT1) 1株、OUT(VT1) 2株であった。

EHECが分離されず血清で診断された患者1名を含め、EHEC感染症と診断された患者および保菌者38名の性別と年齢構成は、男性が16名、年齢範囲1～84歳で平均25.8歳（中央値22.0歳）、女性が22名、年齢範囲3～87歳で平均38.2歳（中央値33.0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°C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、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。O157(VT1&2)20株およびO157(VT2)について、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

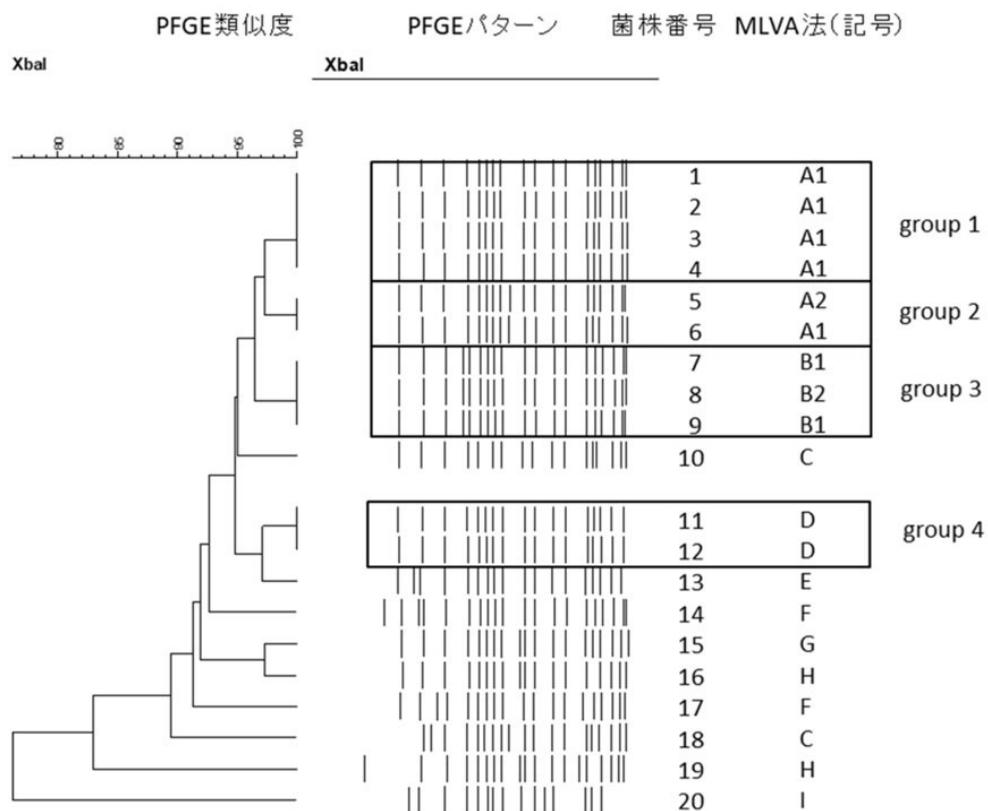


図1 EHEC O157 VT1&2 (20株) の遺伝子解析結果

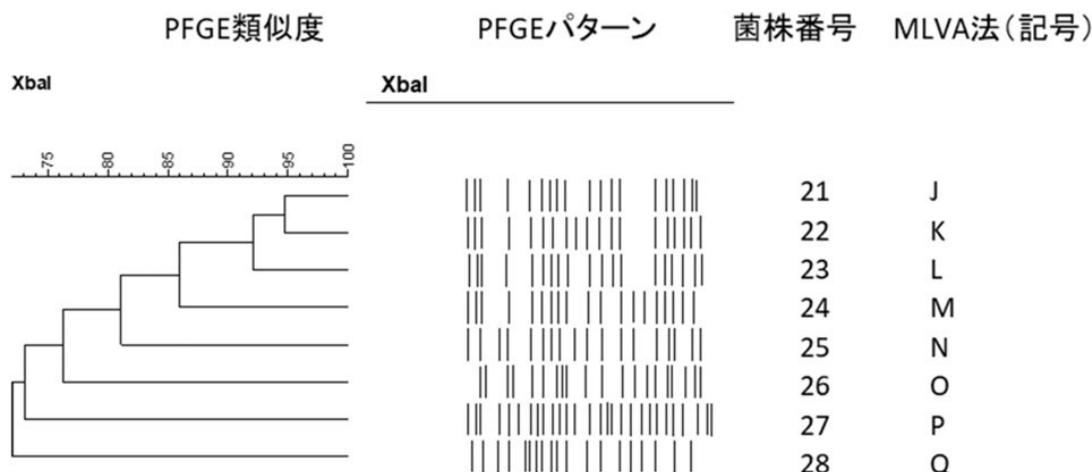


図2 EHEC O157 VT2 (8 株) の遺伝子解析結果

表3 EHEC 37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	3剤 KM, SM, TC	OUT VT1	1
	2剤 SM, TC	O91 VT1	1
	単剤 SM	O157 VT1&2	3
感受性			32
計			37

表記した。

O157(VT1&2) 20株の遺伝子解析の結果、group 1および2に含まれる6株は神奈川県内の保育施設における同一集団事例の分離株であり、PFGEはバンド1本違いの2パターンに、MLVAは菌株No.5のみが17箇所のうちの1か所違いでパターンが分かれたものの、いずれの方法においても菌株間の類似度は高い結果を示した。group 3およびgroup 4はそれぞれが同一家族内の分離株であり、MLVAの結果はgroup 3の菌株No.8が17箇所のうちの1か所違いになった他は各々のグループ内においてパターンは一致していた。

O157(VT2) 8株については同一家族内の分離株2株を含んでいたが、PFGEおよびMLVAによる遺伝子解析の結果、いずれの菌株も遺伝子パターンは一致しなかった。

O157以外の血清型についてはすべて散発的な分離株と思われ、MLVAあるいはPFGEにおいてパターンが一致した菌株は確認されなかった。

次に、EHEC 37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)、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・トリメトブリム合剤(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)。いずれかの薬剤に耐性を示したのは5株で、このうちSMに単剤耐性であった菌株No.14、No.15およびNo.17のO157(VT1&2) 3株は、PFGEおよびMLVAのいずれの方法においても遺伝子型は異なっていた。保育施設における集団事例の分離株であるO157(VT1&2)の6株は、今回用いたすべての薬剤に感受性を示した。搬入されたEHECについては、例年と同様に耐性菌の割合は低い傾向が認められた。

令和元年度は37株のEHECが搬入され、前年度の111株と比較して大きく減少した。しかしながら、平成29年度および30年度に続いて保育施設における集団事例が確認された。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)