

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2年度)

政岡智佳, 鈴木美雪, 古川一郎

Occurrence of enterohemorrhagic
Escherichia coli in Kanagawa Prefecture
 (April,2020-March,2021)

Tomoka MASAOKA, Miyuki SUZUKI,
 Ichiro FURUKAWA

腸管出血性大腸菌 (enterohemorrhagic *Escherichia coli*: 以下, EHECと略す) 感染症は, 「感染症の予防およ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感染症の患者を診断した医師は, 保健所を経由して都道府県知事に直ちにその者の氏名, 年齢, 性別その他厚生労働省令で定める事項を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採知することにより感染の拡大防止に努めている. 「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) において, これまで実施されていた遺伝子型別検査であるパルスフィールド・ゲル電気泳動 (以下, PFGEと略す), IS-Printing Systemおよび反復配列多型解析法 (Multilocus variable-number tandem-repeat analysis, 以下MLVAと略す) の中から, 広域的な事案の採知の迅速化のために, 異なる検査機関で実施した検査の結果が比較可能なMLVAによる遺伝子解析を実施することで統一された. 感染研ではMLVA解析について2014年から血清型O157, O26およびO111について解析が実施されており, さらに2017年からは血清型O103, O121, O145, O165およびO91についても解析が実施され, その結果が各自自治体に報告されている²⁾. また, 溶血性尿毒症症候群 (以下, HUSと略す) 発症者については, 便からのペロ毒素 (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, 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) から搬入されたEHECについて血清型別, 毒素型別, 薬剤感受性試験, PFGEおよびMLVA (血清型O157, O26およびO103のみ) を実施している. 本報では, 令和2年度に収集したヒトから分離されたEHEC27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.

EHEC27株のうち24株は県域の医療機関等で分離さ

表1 菌株の血清型および毒素型

施設	合計 (株)	血清型						
		O157		O26	O103	O130	O145	OUT
		VT1&2	VT2	VT1	VT1	VT2	VT2	VT1&2
平塚保健福祉事務所	4	2	1					1
同上 秦野センター	6	3	2	1				
鎌倉保健福祉事務所	3		1				2	
同上 三崎センター	1		1					
小田原保健福祉事務所	1	1						
同上 足柄上センター	2	2						
厚木保健福祉事務所	3	1			2			
同上 大和センター	3	1	2					
藤沢市保健所	4	1	2			1		
合計 (割合)	27	11 (40.7%)	9 (33.3%)	1 (3.7%)	2 (7.4%)	1 (3.7%)	2 (7.4%)	1 (3.7%)

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			0
6-10	2		2
11-20	1	2	3
21-30	2	5	7
31-40	1	3	4
41-50			0
51-60	1	1	2
61-70	1	3	4
>70	3	2	5
計	11	16	27

れ、3株は当所地域調査部において患者家族から分離された。表1には管轄施設別の搬入菌株数、EHECの血清型および毒素型別を示した。27株の血清型および毒素型は、O157(VT1&2) 11株、O157(VT2) 9株、O26(VT1) 1株、O103(VT1) 2株、O130(VT2) 1株、O145(VT2) 2株およびO型別不能(VT1&2) 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11名、年齢範囲6～85歳で平均45.2歳、女性が16名、年齢範囲14～92歳で平均42.5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°Cの条件下で19時間実施した。泳動パターンについてBioNumerics Ver.6.6(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。MLVAは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で作成した「腸管出血性大腸菌 MLVAハンドブック(O157, O26, O111編) Ver.1.2」³⁾記載の方法に従い実施した。O157(VT1&2)、O157(VT2)およびO157以外の血清型について、PFGEパターンを基に作成したデンドログラムに、O157の菌株についてはMLVAの結果もあわせてパターンごとに記号で表記した(図1, 図2, 図3)。

図1に示したO157(VT1&2)の遺伝子解析の結果、家族内事例1では、PFGEパターンおよびMLVAパターンの両方が一致した。No.1からNo.3の菌株では、PFGEパターンは一致していたが、No.3のMLVAの結果が1遺伝子座のみ異なるsingle locus variant(以下、SLVと略す)であった。同一事例から分離された菌株でもSLVは確認されており⁴⁾、この3株について同一の感染源が疑われたが疫学的関連は認められなかった。図2に示したO157(VT2)の遺伝子解析の結果、2つの家族内事例においてPFGEパターンが一致していた。家族内事例2ではMLVAの結果はSLVではあったが家族間での感染と考えられた。菌株No.14は家族内事例3の菌株No.15およびNo.16とPFGEパターンが一致していたが、MLVAでは3遺伝子座違いであり、さらに疫学的関連も認められなかったことから異なる事例であると考えられた。図3で示したO157以外の血清型における遺伝子解析の結果、家族内事例であったO145の2株はPFGEパターンが一致していた。さらに、O103の2株についてもPFGEパターンが一致しており、さらに居住地も同一自治体であったが感染源を特定することはできなかった。

次に、EHEC 27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)、ノルフロキサシン(NFLX)、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12薬剤について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、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⁵⁾。その結果、7株がいずれかの薬剤に耐性を示し、このうち4株が多剤耐性であった。さらに、2株が1薬剤に対して中程度の耐性を示し、残りの18株は供試した薬剤全てに感受性となり、薬剤耐性パターンは8パターンに分けられた(表3)。最も多くの薬剤に耐性を示し

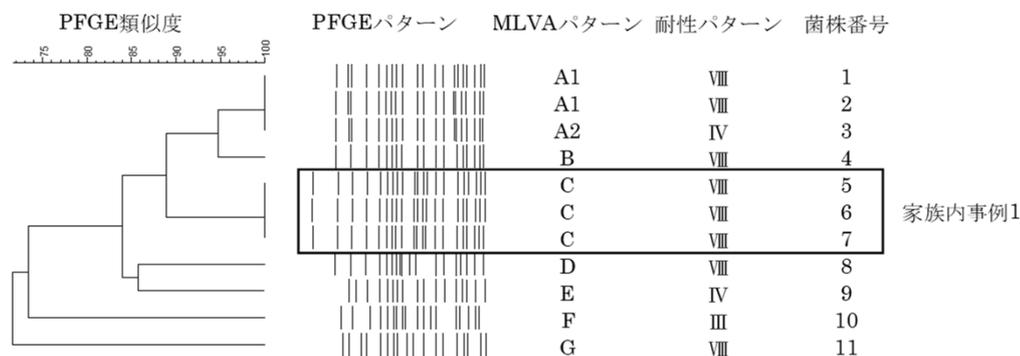


図1 EHEC O157 (VT1&2) の遺伝子解析結果



図2 EHEC O157 (VT2) の遺伝子解析結果

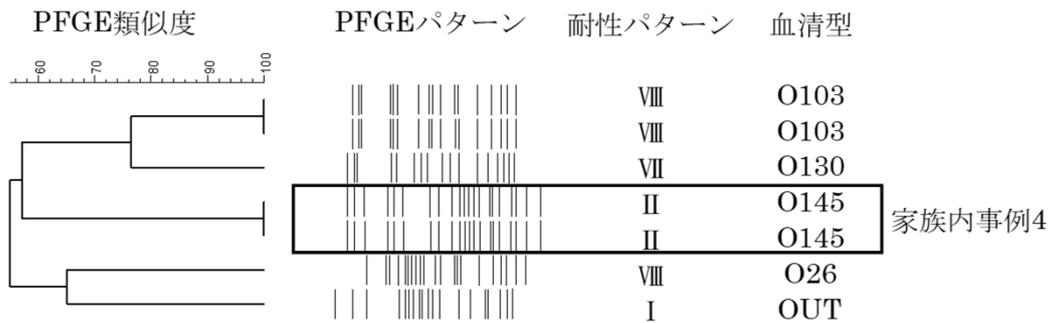


図3 EHEC O157以外の遺伝子解析結果

表3 薬剤感受性試験の結果

		耐性薬剤	パターン	血清型	菌株数
耐性	7剤	ABPC, CP, KM, NA, SM, ST, TC	I	OUT VT1&2	1
	4剤	ABPC, SM, ST, TC	II	O145 VT2	2
		ABPC, CP, SM, TC	III	O157 VT1&2	1
	単剤	SM	IV	O157 VT1&2	2
		CP	V	O157 VT2	1
中間値	単剤	SM	VI	O157 VT2	1
		ABPC	VII	O130VT2	1
感受性			VIII		18
計					27

たのはO型別不能(VT1&2)株で、耐性を示した薬剤の数は7剤であった。今回調査した菌株の中に家族内事例が4つあったが、事例ごとに薬剤耐性パターンは一致していた(図1, 図2, 図3)。

本調査期間中に当所に搬入された菌株は27株であった。このうち9株は家族内事例で全体の3分の1を占めており、EHECの感染対策として家庭内での二次感染を予防することが重要であると考えられた。今回実施した2つの遺伝子解析では、PFGEでパターンが一致したがMLVAでは3遺伝子座が異なっており、異なる感染源であると判断できた事例があった。MLVAの分解能はPFGEと同程度以上である⁶⁾とともに、検査にかかる時間がPFGEと比較し短時間であることから、迅速な対応が求められる集団発生事例等でMLVAによる菌株の解析を実

施することは有用であると考えられた。

なお、この報告の一部は、厚生労働科学研究費補助金(広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究 新興・再興感染症研究事業)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、医療危機対策本部室ならびに藤沢市保健所の方々に深謝いたします。

参考文献

- 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) 厚生労働省医薬・生活衛生局食品監視安全課食中毒

- 被害情報管理室：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, IASR, 40, 83-85(2019)
- 3) 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, 腸管出血性大腸菌MLVAハンドブック(O157, O26, O111編)Ver.1.2, (2018)
- 4) 松本裕子, 小泉充正, 小川敦子, 後藤千恵子, 吉野友章, 田中伸子: MLVA解析を活用した迅速な行政対応が可能であった腸管出血性大腸菌O157食中毒事例-横浜市, IASR, 40, 76-77(2019)
- 5) Clinical and laboratory standards institute; Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement, CLSI document M100-S25, (2015)
- 6) Izumiya *et al.*: New system for multilocus variable-number tandem-repeat analysis of the enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains belonging to three major serogroups: O157, O26, and O111, Microbiol Immunol, 54, 569-577(2010)