堺市における腸管出血性大腸菌（EHEC）による感染症の発生動向

岩崎　直昭、東野　和直、福田　弘美

要旨

堺市における令和元年度の腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症は 5 事例（感染者 6 名）で、O157 が 2 事例（2 名）、O26 が 1 事例（2 名）、O91 が 1 事例（1 名）、O103 が 1 事例（1 名）であった。事例数・感染者数ともに、この 5 年間で 1 番少ない数であった。

今回、市内で発生した EHEC 感染症の事例間で、遺伝子解析の結果から関連性を示すものはなかった。また、国内分離株との比較においても、広域的に発生がみられる遺伝子型と一致するものはなかった。

広域的な EHEC 事案については、遺伝子型別法を反復配列多型解析（MLVA）法へ統一する方向性が示されて以降、各地方衛生研究所においても、MLVA 法が普及しつつある。今後、当所においても得られた菌株の事例内での同一性、他の事例間との関連性や広域性の有無などを早期に探知するために MLVA 法へ取り組む予定である。

1　はじめに

腸管出血性大腸菌（enterohemorrhagic *Escherichia coli* : EHEC）感染症は Vero 毒素（Vero toxin : VT または Shiga toxin : Stx）を産生、または VT 遺伝子を保有する EHEC の感染によって起こり、主な症状は腹痛、水溶性下痢および血便である。VT 等の作用により血小板減少、溶血性貧血、急性腎不全をきたして溶血性尿毒症症候群（HUS）を引き起こし、脳症などを併発して死に至ることがある。EHEC 感染症は感染症法の三類感染症に分類され、本感染症を診断した医師は直ちに保健所に届出なければならない。

地方衛生研究所（地衛研）では本感染症により届出のあった菌株について生化学的性状、血清型、毒素型等を確認し、その結果を感染症サーベイランスシステム（NESID）へ報告する。国立感染症研究所（感染研）は、地衛研から送付された菌株の血清型、毒素型の確認を行うと同時に、反復配列多型解析（MLVA）法やパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）法による分子疫学的解析を行っている。これらの解析結果は各地衛研へ還元されるとともに、必要に応じて食中毒調査支援システム（NESFD）で各自治体等へ情報提供されている。

ここでは、堺市における令和元年度の EHEC 感染症発生状況と市内医療機関等で分離された患者由来株および当所分離株において実施した血清型、毒素型、薬剤感受性および分子疫学的解析の結果について以下のとおり報告する。

2　材料と方法

1)　EHEC 感染症患者由来株

市内医療機関等より分与された患者由来株について、3)分離・同定の方法により生化学的性状、血清型および毒素型（*stx* 遺伝子型）を確認し、以下 4)薬剤感受性試験、5)遺伝子型別の検査を実施した。また、感染研へ菌株を送付し、MLVA 法による遺伝子解析を実施、その結果を還元して頂いた。なお、感染研での MLVA 法による解析は、O157、O26、O111、O103、O121、O145、O165、O91 の 8 種の血清群について実施されている [1)]。

2) 家族および接触者検便等で分離された当所分離株

市内医療機関等より EHEC 感染症として届出のあった患者の家族あるいはその接触者の便について、3)分離・同定による検査を実施し、EHEC の有無を確認した。EHEC が確認された株は、患者由来株と同様に以下 4)、5)の検査および感染研にて MLVA 法による遺伝子解析を実施した。

3) 分離・同定

EHEC の検査について、O157 は CT-SMAC 寒天培地、O26 は CT-RMAC 寒天培地、O91 は、CT-SMAC 寒天培地と DHL 寒天培地への直接塗沫を実施し、mEC 液体培地による増菌培養後、免疫磁気ビーズ法（O91 は除く）により集菌した菌液を塗沫し、培養した。各選択分離培地に発育した各血清型が疑われる集落について「腸管出血性大腸菌（EHEC）検査・診断マニュアル（国立感染症研究所）」[2]に従って生化学的性状、血清型および毒素型（*stx* 遺伝子型）を確認した。

4) 薬剤感受性試験

各菌株は Kirby-Bauer 法によるディスク拡散法によりアンピシリン(ABPC)、セフォタキシム(CTX)、カナマイシン(KM)、ゲンタマイシン(GM)、ストレプトマイシン(SM)、テトラサイクリン(TC)、シプロフロキサシン(CIP)、ナリジクス酸(NA)、ホスホマイシン(FOM)、ノルフロキサシン (NFLX)、ST 合剤(ST)、クロラムフェニコール(CP)の 12 薬剤に対する感受性試験を実施した。

5) 遺伝子型別の検査

(1) IS-printing System (IS) 法による遺伝子型別（O157 のみ）

O157 の菌株について IS-printing System（東洋紡）に添付のプロトコールに従って検査を実施した。判定結果は、近畿 IS データベースへ菌株情報を登録し、IS コードに変換した。

(2) PFGE 法による遺伝子型別

PFGE による遺伝子型別は、「PFGE New Protocol-Kinki」の方法[3]により実施し、泳動像を BioNumerics(AppliedMaths)を用いて解析した。

3 結果

堺市における令和元年度の EHEC 感染症発生状況を表 1 に示した。

表 1 EHEC 感染症発生状況 （令和元年度）

事例 No.	発生届 報告年月	菌株 No.	年齢	性別	臨床症状	血清型	Stx型	薬剤耐性	備考
1	2019.08		46	F	無症状	O103	1	−	菌株なし
2	2019.10	1	50	M	腹痛、水溶性下痢、血便	O157:H7	1&2	（全て感受性）	焼肉を喫食
3	2019.10	2	68	M	腹痛、血便、発熱（37.1℃）	O157:H7	1&2	（全て感受性）	カルビ定食を喫食
4	2019.11	3	56	F	無症状	O91:H14	1	（全て感受性）	
5	2020.01	4	37	F	腹痛	O26:H11	1	ABPC※)	菌株No.4,5は家族
	2021.01	5	1	F	血便、発熱	O26:H11	1	ABPC※)	

*) 中間：感受性、耐性のどちらでもない

5 事例での感染者は 6 名で有症者が 4 名、無症状病原体保有者は 2 名であった。血清型別では、O157 が 2 事例（2 名）、O26 が 1 事例（2 名）、O91 が 1 事例（1 名）、O103 が 1 事例（1 名）であった。*stx* 遺伝子の型別は、O157 で Stx1&2 が 2 株であった。O26、O91、O103 の 3 株はすべて Stx1 であった。12 薬剤に対する感受性試験では、O26 の 2 株が ABPC に感受性、耐性のどちらでもない中間を示す株で、そ

れ以外の 3 株は、すべて感受性を示した。

近畿 IS コードと感染研による MLVA 法の解析結果を表 2、PFGE 法の解析結果を図 1 に示した。事例 5 の 2 株は、MLVAtype および PFGE パターンが一致した。事例間では、近畿 IS コード（O157 のみ）、MLVAtype および PFGE パターンが一致または高い類似性を示すものはなかった。

表 2　近畿 IS コードと感染研 MLVAtype/complex（令和元年度）

事例 No.	菌株 No.	血清型	Stx型	近畿ISデータベース	感染研MLVA
				ISコード	MLVA type
1	－	O103	1	－	－
2	1	O157:H7	1&2	85885-84427	20m0295
3	2	O157:H7	1&2	247917-114863	19m0486
4	3	O91:H14	1	－	20m8009
5	4	O26:H11	1	－	20m2083
	5	O26:H11	1		

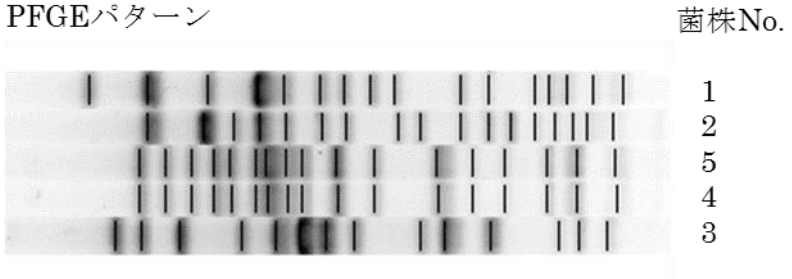

図 1　EHEC の PFGE パターン（令和元年度）

4　考察

堺市における令和元年度の EHEC 感染症は 5 事例（感染者 6 名）であった。この 5 年間で一番少なかった 2018 年度（事例数 10 例、感染者数 13 名）と比べても事例数・感染者数とも、その約半数であった。

O157 による 2 事例では、近畿 IS コード、PFGE パターンおよび MLVAtype が事例間で一致または高い類似性はなかった。また、それぞれの菌株においても 2019 年の主な近畿 IS コードおよび広域的な発生のある MLVAtype ではなかった。

次に、O26 および O91 の MLVAtype も国内で広域的な発生のある MLVAtype ではなかった。

EHEC の主な遺伝子型別法には、IS 法、PFGE 法および MLVA 法がある。IS 法は O157 のみで型別能は低いものの、簡便・迅速に実施できるため、スクリーニング検査としてこれまで活用されてきた。しかし、近畿 IS データベースの登録施設数・登録株数は 2017 年度以降、減少しており、2019 年度は 7 施設から 145 株の登録で、ピーク時と比べると登録施設数は 58%、登録株数は 31%であった。各地衛研において、IS 法に代わり MLVA 法が普及してきていることが要因と考えられ、近畿 IS データベースの運用も見直しが検討されている [4]。

5　まとめ

1)　堺市における令和元年度の EHEC 感染症は、5 事例（6 名）で、そのうち O157 が 2 事例（2 名）、O26 が 1 事例（2 名）、O91 が 1 事例（1 名）、O103 が 1 事例（1 名）であった。

2)　O157 による 2 事例間で遺伝子解析の結果、関連性はみられなかった。また、それぞれの菌株においても、主な近畿 IS コードおよび広域的な発生のある MLVAtype と一致するものはなかった。

3)　O26 と O91 の MLVAtype も国内で広域的な発生がみられる遺伝子型ではなかった。

6　おわりに

EHEC感染症は少量の菌数（100個程度）でも感染が成立するため、ヒトからヒトまたは、ヒトから食材・食品を介して感染が拡がりやすい。ヒトの移動や食材・食品などの流通が広域化および高速化する中、EHEC 感染症・食中毒事案を早期に探知することが感染拡大の防止に重要である。

2018 年 6 月に厚生労働省より EHEC の遺伝子解析法として MLVA 法へ統一する方向性 [5]が示されて以降、各地衛研でも MLVA 法が普及してきており、EHEC 分離株の遺伝子型別法として MLVA 法が第 1 選択、PFGE 法や IS 法が第 2 選択として活用される方向になりつつある。今後、当所においても、MLVA 法を活用できるように取り組む予定である。

謝辞

今回の調査を実施するにあたり、これらの菌株を分与して頂きました市内各医療機関の関係各位並びに菌株の入手に携わって頂いた感染症対策課の皆様、また分子疫学的解析結果を還元して頂いた国立感染症研究所細菌第一部の皆様に深く御礼申し上げます。

なお、本報告は一部「厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）」の支援を受けて実施したものであることを付記します。

参考文献

1)　病原微生物検出情報　Vol.41 No.5(2020.5):65-76

2)　国立感染症研究所:腸管出血性大腸菌（EHEC）検査・診断マニュアル（2019 年 9 月改訂）

3)　勢戸和子、他:厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）平成 15 年度分担研究報告書－近畿ブロックにおけるパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）型別法の施設間変動について、感染研新プロトコールの試用、食品由来感染症の細菌学的疫学的指標のデータベース化に関する研究、平成 15 年度総括・分担研究報告書 2004:95-104

4)　河合高生、他:厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）平成 31/令和元年度分担研究報告書－高度解析法の構築と近畿ブロックにおける情報共有体制の構築の検討、令和元年度総括・研究分担報告書 2020:63-71

5)　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 日付け厚生労働省健康局結核感染症課事務連絡）