

平成 25 年度に福島県で分離された EHEC について

菊地理慧 千葉一樹 菅野奈美 二本松久子 小黒祐子 吉田学 笹原賢司
衛生研究所

要 旨

腸管出血性大腸菌（以下“EHEC”とする）感染症は3類感染症として全数届出が義務付けられている。平成 25 年度に福島県で報告された EHEC は過去¹⁾で最も多く 115 症例であり、当所に 113 菌株搬入された。それらについて、性状確認、パルスフィールドゲル電気泳動法（以下“PFGE”とする）による分子疫学的解析を実施した。性状確認の結果においては、リジン脱炭酸陰性及びインドール陰性等の典型的な大腸菌ではない性状を示す EHEC も見られた。さらに、3 箇所の保育所での集団感染事例から分離された株の遺伝子解析を行った結果、各保育所で異なるパターンを示し、同一菌株ではないことが明らかになった。

キーワード：腸管出血性大腸菌，EHEC，インドール陰性，集団感染，PFGE 法

はじめに

平成 25 年度に本県で報告され、当所に搬入された EHEC について、患者数や分離菌の性状確認及び集団感染の関連性の有無について検討したので、その概要を報告する。

材 料

平成 25 年度に EHEC 感染症と診断され届出となり、当所に搬入された患者 53 名及び無症状保菌者 60 名からの分離菌株について検査を行った（表 1）。

これら 113 菌株の保健所管内別搬入数及び血清型別菌株数、患者年齢階級別及び男女別菌株数を表に示した（表 2，表 3）。

方 法

1 性状確認

性状確認は TSI 寒天培地，シモンズのクエン酸ナトリウム培地，VP 半流動培地（栄研化学），LIM 培地（日水製薬），CLIG 寒天培地（極東製薬）及びバイテック GNI+カード（シスメックス・ビオメリユール），api20E（BIOMERIEUX），ID テスト・EB20（日水製薬）等を用いて行った。また、血清型別試験は大腸菌免疫血清（デンカ生研）を用い、さらにベロ毒素遺伝子検出は PCR 法により実施した²⁾。

2 PFGE法による分子疫学的解析

平成 25 年 9 月から 11 月に福島県内の 3 箇所の保育所で O26 の集団感染事例が発生したため、保育所間の関連性を PFGE 法により解析した。菌株は一つの保育所につき 5 菌株選び、制限酵素は Xba I を使用した。

結果及び考察

1 性状確認

菌株精査の結果、113 菌株のうち O 型別による検出比率は、O26 が最も多く 78 株（69%）であり、次いで O157 が 24 株（21%）、O121 が 4 株（3.5%）、O103 が 2 株（1.8%）、その

表 1 血清型別患者及び保菌者数

血清型	患者	保菌者	総計
O26	31	47	78
O101	1		1
O103	1	1	2
O113	1		1
O121	2	2	4
O128		1	1
O156		1	1
O157	17	7	24
型別不能		1	1
計	53	60	113

表2 保健所管内別搬入数及び血清型別菌株数

保健所	O26	O101	O103	O113	O121	O128	O156	O157	型別 不能	計
県北	54					1		3		58
県中	18	1					1	3		23
県南	1							1		2
会津	1							2		3
南会津										0
相双									1	1
郡山市	4			1	4			7		16
いわき市			2					8		10

表3 患者年齢階級別及び男女別菌株数

年齢階級	男	女	総数
0～9	36	27	63
10～19	3	4	7
20～29	1	9	10
30～39	8	8	16
40～49	2	1	3
50～59	1	3	4
60～69	1	5	6
70～79	1	1	2
80～89		2	2
計	53	60	113

他5株(4.4%)であった(図1)。その他の中にはO128及びデンカ生研の大腸菌免疫血清では型別できない菌株が4菌株あった。後に国立感染症研究所での精査の結果3菌株はO101:HNM(運動性陰性)、O113:H4及びO156:H25と判明した。1株については、当所においてO119と型別した菌株であったが、国立感染症研究所でデンマーク血清学研究所のフルセットの抗血清を用いて型別したところ、2種類の血清に凝集がきたためO型別不能となった。

生化学的性状確認培地でリジン脱炭酸及びインドール陽性が大腸菌の典型的な性状である。しかし、O101:HNMの菌株はリジン脱炭酸、インドール及び運動性が陰性であった。また、バイテックの結果判定が困難となり、api20Eでは53%の確率で*Yersinia pestis*、22%の確率で*Shigella sonnei*、最後に16.7%の確率で*Escherichia coli*(以下“*E.coli*”とする)と

なった。このように、同定キットでは*E.coli*にならず、リジン脱炭酸、インドール陰性となる大腸菌は非常にまれである。

さらに、リジン脱炭酸陰性のO157:H7もみられ、バイテックの結果*Escherichia hermannii*(以下“*E.hermannii*”とする)となった。そのため、他の同定キットを試みた。結果EB20では99%の確率で*E.hermannii*となり、api20Eでは48%の確率で*E.coli*となった。このような結果になった要因は、*E.hermannii*はこのO157と同様で全てソルビトール陰性であり、リジン脱炭酸陰性であるからだと考えられる³⁾。なおかつ、*E.coli*はセロビオース分解性陰性及びメリビオース分解性陽性であるが、*E.hermannii*はセロビオース分解性陽性であり、メリビオース分解性陰性である。よって、この両方の分解性を検査項目としていないバイテックやEB20を用いた場合、*E.coli*を*E.hermannii*と判定される可能性がある。したがって、api20Eではメリビオース分解性も含まれることから、*E.coli*の確率が他の同定キットと比べて高い結果になったと考えられる。

また、O121:H19においては、近年分離数が多くさらに重症例も報告されている⁴⁻⁶⁾。

O121は、分離培地に培養すると乳糖遅分解性の性質をもち、乳糖分解と非分解の菌が混在しているように見える。ゆえに、検査をする上で注意が必要である。

2 PFGE法による分子疫学的解析

EHECの感染症は一般的には夏期を中心に届出数が増加する傾向にあり、血清型では

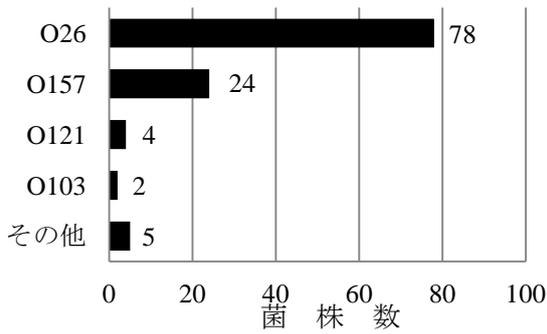


図1 血清型別菌株数

O157 が最も多く検出される⁷⁾。しかし、本県での平成 25 年度は図 2 より 9 月及び 10 月の報告が多くあったことがわかる。また、図 1 より O26 が最も多く、さらに表 3 より 10 歳未満からの検出が多いことがわかる。これは、3 箇所の保育所で集団感染があったことが起因している。事例 1 は 9 月上旬に 33 名、事例 2 は 9 月下旬に 17 名、事例 3 は 10 月下旬から 11 月上旬に 15 名の計 65 名が O26 に感染し、VT1 産生株であった。原因については、事例 1 でビニールプールの水を未消毒で使用していたことであると推定されたが、他の 2 事例については不明である。そこで、保育所間の関連性について一施設につき 5 菌株の PFGE 法解析を行った。PFGE 法解析結果は図 3 のとおりで各保育所で異なるパターンを示し、同一菌株ではないことが明らかとなり、保育所間の関連性はないことが明確になった。

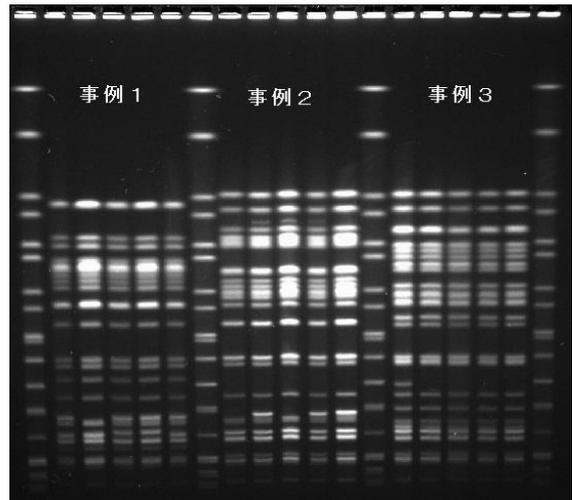


図3 3 保育所のPFGE法解析結果

まとめ

平成 25 年度の EHEC は過去で最も多くの届出があった。また非典型的な株や型別不能株が分離された。よって、このような菌株もあることを理解して検査を行う必要がある。さらに、*E.coli* に限らず非典型的な菌株が分離された場合は簡易同定キットの結果のみならず、他の生化学的性状や遺伝子検査等の結果から総合的に判断する必要があると考える。また、同定結果が治療に影響を与えることもあり、溶血性尿毒症症候群 (HUS) や脳症等の重症化する場合もある。さらに集団感染を探知する意味でも正確で迅速な型別は必要不可欠である⁸⁾。

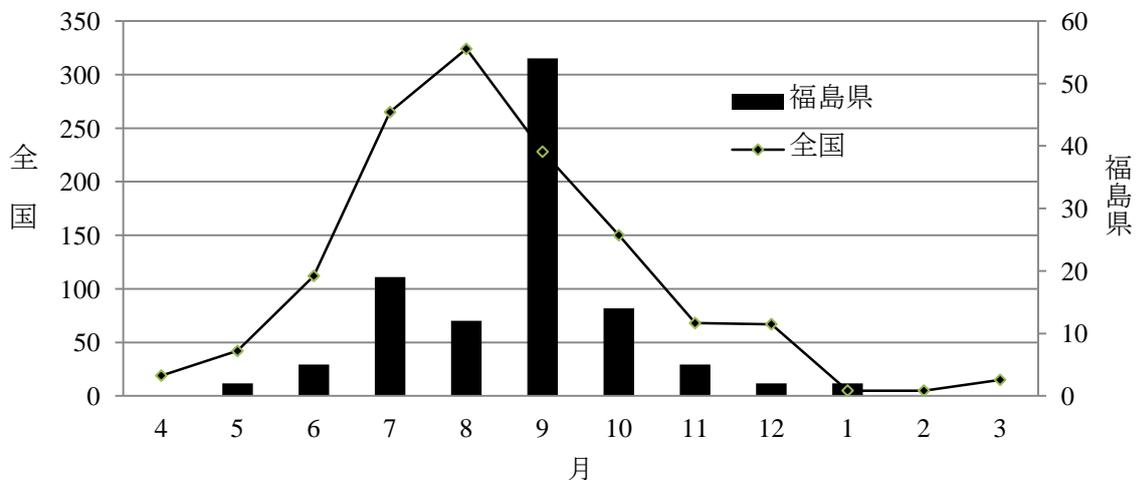


図2 腸管出血性大腸菌感染症月別報告数

謝 辞

患者疫学情報等を提供いただきました管轄保健所の職員の方々へ深謝いたします。

引用文献

- 1) 福島県感染症発生動向調査事業報告書.
- 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.
- 3) 江成博. 第 1 回微生物検査研究班研修会 (2008 年 4 月 19 日) 好気性グラム陰性桿菌の鑑別・同定と確認培地-数値同定とあわせて. http://www.chiringi.or.jp/k_library/biseibutu_hp/080202/baichi.pdf#search
- 4) 熊谷奈々子, 須釜久美子, 平澤恭子他. 腸管出血性大腸菌 O121 感染事例からの考察. 福島県衛生研究所年報 2005 ; 39-42.
- 5) 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局, 結核感染症課. <国内情報>飼育牛が感染源と特定された小学校における腸管出血性大腸菌 O121 集団感染事例—千葉県. 病原微生物検出情報 2004 ; 11 : 302-303.
- 6) 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局, 結核感染症課. <特集関連情報>保育園で発生した腸管出血性大腸菌 O121 の集団感染事例—埼玉県. 病原微生物検出情報 2011 ; 5 : 131-132.
- 7) 国立感染症研究所. 病原微生物検出情報, 腸管出血性大腸菌 (VTEC). <http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr/510-surveillance/iasr/graphs/1524-iasrgb.html> 2014/02/04
- 8) 西川禎一, 谷本佳彦, 浅野桃子. 腸管出血性大腸菌の疫学. モダンメディア 58 巻 4 号 2012 ; 103-112.