

富山県内の腸管出血性大腸菌感染症発生状況(2019)

木全 恵子 内田 薫 金谷 潤一 加藤 智子
前西 絵美 綿引 正則 磯部 順子 宮寺 志保¹
頼成 明奈² 大石 和徳

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Infectious Diseases Detected in Toyama Prefecture, 2019

Keiko KIMATA, Kaoru UCHIDA, Jun-ichi KANATANI, Tomoko KATO, Emi MAENISHI, Masanori WATAHIKI, Junko ISOBE, Shiho MIYADERA¹, Akina RAIJOU², and Kazunori OISHI

2019年1月から12月までに富山県において発生した腸管出血性大腸菌（EHEC）感染事例は25件、感染者は31名であった。これらの内訳は、EHEC O157感染事例が14件、17名、EHEC O26感染事例が7件、9名、EHEC Og8, Og91, Og182感染事例がそれぞれ1件、1名、2種類のO血清群のEHECが分離されたEHEC Og78・Og87感染事例が1件、2名であった（表1）。なお遺伝子型別により決定したO血清群をOgと表記した。以下にこれらの感染事例についてその概要、疫学的解析結果を報告する。

表1. 富山県腸管出血性大腸菌感染症発生状況 (2019)

事例No	発生時期	感染者数 (名)	発生形態 (散発・集団)	大腸菌 血清型 ^{*1}	毒素遺伝子型
1	2019.1	1	散発	Og182:H25	stx1
2	2019.3	1	散発	O157:HNM	stx1stx2
3	2019.4	1	散発	O26:H11	stx1
4	2019.4	1	散発	O26:H11	stx1
5	2019.4	1	散発	O157:HNM	stx1stx2
6	2019.4	1	散発	O26:H11	stx1
7	2019.5	2	集団	O26:H11	stx1
8	2019.5	1	散発	O26:H11	stx2
9	2019.6	1	散発	O157:HNM	stx1stx2
10	2019.7	1	散発	O157:H7	stx1stx2
11	2019.7	4	集団	O157:H7	stx1stx2
12	2019.8	1	散発	O157:H7	stx2
13 ^{*2}	2019.8	2	集団	Og78:Hg19 Og87:Hg16	stx1stx2 stx2
14	2019.9	1	散発	O157:HNM	stx1stx2
15	2019.9	1	散発	O26:H11	stx1
16	2019.9	2	集団	O26:H11	stx1
17	2019.10	1	散発	O157:H7	stx1stx2
18	2019.10	1	散発	O157:H7	stx1stx2
19	2019.10	1	散発	O157:H7	stx1stx2
20	2019.10	1	散発	O157:H7	stx1stx2
21	2019.10	1	散発	O157:H7	stx2
22	2019.10	1	散発	Og91:HNM	stx1stx2
23	2019.10	1	散発	Og8:H19	stx2
24	2019.11	1	散発	O157:H7	stx1stx2
25	2019.11	1	散発	O157:H7	stx2
O157 14件(17名), O26 7件(9名), Og182 1件(1名), Og91 1件(1名), Og8 1件(1名), Og78・Og87 1件*(2名) 計25件(31名)					

^{*1} 遺伝子型別により決定したO血清群、H血清群はそれぞれOe、Heと表記した

^{*2} 同一集団内で2種類のO血清群のEHECが分離された

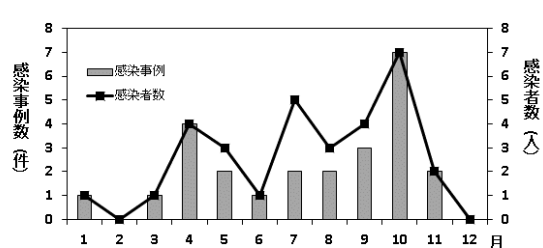


図1. 富山県における腸管出血性大腸菌感染症月別発生傾向 (2019)

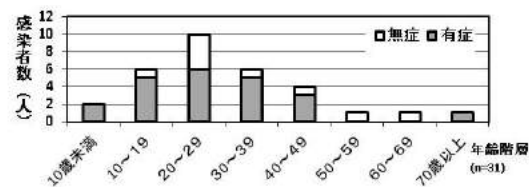


図2. 年齢別腸管出血性大腸菌感染症発生状況

2019年におけるEHEC感染症発生状況：2019年の富山県におけるEHEC感染症の事例数、感染者数はそれぞれ前年（19件、26名）比1.3、1.19で、事例数、感染者数ともに増加していた。発生形態は、集団感染（家族内感染を含む）4件、散発21件で、前年に比べ、集団感染は0.8倍、散発は1.5倍であった（表1）。事例13は2名の感染者からそれぞれ異なるO血清群のEHECが分離された。また、事例18および事例19は血清中のO157抗原凝集抗体の検出によって腸管出血性大腸菌感染症と診断された事例であった。

EHEC感染症の事例数及び感染者数の月別動向を図1に示した。2019年は、4月に4件、感染者4名、7月に2件、感染者5名、10月に7件、感染者7名であった。夏季にEHEC感染症が多発した前年と異なり、本年は春季、秋季にもEHEC

感染症が多発した。

感染者 31 名における有症者の割合は71.0% (22 名)であった。年代ごとの感染者数は20 歳 代が32.3%(10 名)と全体の3 割近くを占めていた (図2)。また、男女比は男性 35.5%, 女性 64.5%で、6 割が女性であった。

分離株の薬剤感受性：表1の各事例の代表株 25 株 (事例 13 のOg78 とOg87 を含む) について、薬剤感受性試験を行った。対象とした薬剤は12 薬剤 (ノルフロキサシン, ナリジクス酸, カナマイシン, ゲンタマイシン, ホスホマイシン, アンピシリン, SXT, テトラサイクリン, セファゾリン, クロラムフェニコール, セフトジジム, セフォタキシム) で, CLSI のプロトコールに準拠し, Kirby- Bauer 法に基づいたディスク法 (センシ・ディスク, 日本ベクトン・ディッキンソン) を用いた。

供試菌株は全て, 上記 12 薬剤に感受性であった。

分離株の病原因子：各事例の分離株について (表1), 接着因子遺伝子 *eae*, ペロ毒素遺伝子 *stx1*, *stx2*, 凝集付着性大腸菌耐熱性毒素遺伝子 *astA* のPCR による検出を行った。

ペロ毒素遺伝子型は表1のとおりであり, *stx1* *stx2* 保有型が12 株, *stx2* 保有型が6 株, *stx1* 保有型が7 株であった。事例 13, 事例 22, 事例 23

の分離株は *eae* を保有していなかった。また, *astA* は事例 1, 事例 9 の分離株から検出された。

O157, O26, O111 の MLVA による遺伝子型別：2018 年から当所においてO157, O26, O111 の multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) による遺伝子型別を実施している。MLVA はゲノム上の17 の標的遺伝子座における繰り返し配列数 (以降, 反復配列数) の違いにより遺伝子型別を行う方法である [1]。この解析では, 1 遺伝子座の反復配列数のみ異なる MLVA 型は遺伝子関連性があると判定し, これらの1 遺伝子座のみ異なる複数の MLVA 型をひとつの関連性のある一群, 「コンプレックス」として標記している。また, 互いに3 つ以上の遺伝子座の反復配列数が異なる MLVA 型は遺伝的関連性がないと考えられる [2]。

表2にO157, O26, O111 の各事例分離株について, 当所で取得した MLVA の各標的遺伝子座の反復配列数と, 国立感染症研究所により付与された MLVA の遺伝子型 (表2, MLVA type) およびコンプレックス型 (表2, MLVA comp) を示した。

事例 3, 事例 4, 事例 6 よび事例 9 について標的遺伝子座 O157-37 またはO157-9 で2 種類の反復配列数が検出されたため, 表2に「/」をつけて該当する配列数を併記した。これは, 標的遺伝子座が複数コピーあること等が原因となり, 2 種

表2. MLVA における各標的遺伝子座反復配列数

O157

事例 No.	血清型	EH111-11	EH111-14	EH111-8	EH157-12	EH26-7	EHC-1	EHC-2	EHC-5	EHC-6	O157-3	O157-34	O157-9	O157-25	O157-17	O157-19	O157-36	O157-37	MLVA type	MLVA comp
2	O157	2	-2	1	4	-2	6	6	-2	-2	-2	9	18	4	12	6	6	3	19m0033	
5	O157	2	-2	1	4	-2	4	5	-2	-2	-2	9	11	3	5	6	6	3	18m0541	
9	O157	2	-2	1	4	-2	8	6	-2	-2	12	9	10/13	2	5	6	5	6	19m0089	19c022
10	O157	2	-2	1	4	-2	6	4	12	-2	9	12	8	4	7	5	6	6	18m0576	
11-1 ^{*1}	O157	2	-2	1	4	-2	7	4	10	-2	12	12	7	6	6	6	6	7	19m0230	19c029
11-2 ^{*1}	O157	2	-2	1	4	-2	7	4	10	-2	13	12	7	6	6	6	6	7	19m0231	19c029
12	O157	2	-2	1	6	-2	3	4	-2	-2	17	9	-2	3	5	7	-2	8	18m0468	
14	O157	2	-2	1	4	-2	10	6	-2	-2	16	9	13	3	5	6	4	5	19m0322	
17	O157	2	-2	1	3	-2	6	4	2	-2	9	12	11	6	8	6	6	6	17m0341	19c047
19	O157	2	-2	1	3	-2	6	4	2	-2	9	12	11	6	8	6	6	6	17m0341	19c047
20	O157	2	-2	1	4	-2	5	4	-2	-2	8	12	12	8	7	6	3	7	18m0448	
21	O157	2	-2	1	4	-2	12	6	-2	-2	4	9	-2	3	5	7	6	5	19m0489	
24	O157	2	-2	1	4	-2	5	4	-2	-2	9	12	12	8	7	6	3	6	16m0039	19c026
25	O157	2	-2	1	3	-2	10	5	-2	-2	4	9	-2	4	5	8	6	5	18m0585	

*1 事例11では同一感染事例で2種類のMLVA型が検出された。

O26

事例 No.	血清型	EH111-11	EH111-14	EH111-8	EH157-12	EH26-7	EHC-1	EHC-2	EHC-5	EHC-6	O157-3	O157-34	O157-9	O157-25	O157-17	O157-19	O157-36	O157-37	MLVA type	MLVA comp
3	O26	2	1	1	2	5	8	11	-2	14	-2	1	9	2	-2	1	-2	2/10	19m2015	
4	O26	2	1	1	2	5	8	11	-2	14	-2	1	9	2	-2	1	-2	2/10	19m2015	
6	O26	2	1	1	2	5	8	11	-2	14	-2	1	9	2	-2	1	-2	2/10	19m2015	
7-1 ^{*2}	O26	2	1	1	2	3	8	17	2	-2	-2	1	11	2	-2	1	-2	-2	17m2180	
7-2 ^{*2}	O26	2	1	1	2	3	8	22	-2	-2	-2	1	9	2	-2	1	-2	-2	13m2154	
8	O26	2	1	1	2	3	12	16	11	-2	-2	1	7	2	-2	1	-2	-2	19m2030	
15	O26	2	1	1	2	3	6	14	-2	-2	-2	1	10	2	-2	1	-2	-2	19m2116	
16	O26	2	1	1	2	3	15	14	-2	-2	-2	1	9	2	-2	1	-2	-2	19m2117	

*2 事例7では同一感染事例で2種類のMLVA型が検出された。

PCRの増幅により反復配列を検出できなかった場合は「-2」と表記した。/ で表記された数値はその遺伝子座で2種類の反復配列数が検出されたことを示す。

類の反復配列数が検出されたためであると考えられた。

事例11の集団感染事例（感染者4名）で分離されたEHEC O157のMLVA型は、感染者1名から、他の3名の感染者とは遺伝子座O157-3の反復配列数が1異なるMLVA型が検出された（表2, 事例No. 11-1, 11-2）。上述のMLVA型の判定基準により、これらは遺伝的関連性のあるMLVAコンプレックス19c029と判定された。

事例7では感染者2名から3つの遺伝子座の反復配列数が異なる2種類のMLVA型が検出された（表2, 事例No. 7-1, 7-2）。上述のMLVA型の判定基準によりこれら2つのMLVA型には遺伝的関連性はないと考えられた。従って、事例7では接触者調査により偶発的に由来の異なるEHEC O26の感染者を採知したと考えられた。

複数の感染事例で同一のMLVA型もしくはMLVAコンプレックスが検出された事例は、事例17と事例19（表2, MLVA型17m0341, MLVAコンプレックス19c047）、事例3, 事例4および事例6（表2, MLVA型19m2015）であった。事例17と事例19は2019年10月、事例3, 事例4および事例5は2019年4月に発生した感染事例であった。以上からこの時期に県内で同一MLVA型のEHECが流行したと考えられたが、感染源は明らかになっていない。

全国におけるEHEC感染症発生状況との比較：2019年の全国におけるEHEC感染者数は3,744名で、昨年の0.97倍とほぼ横ばいであり、過去5年における年間感染者数は3番目に少なかった[3]。

国立感染症研究所では全国で発生したEHEC感染事例について菌株の収集・解析を行い、EHEC O157, O26, O111, O103, O121, O145, O165, O91についてMLVAによる分子疫学サーベイランスを行っている。このサーベイランスの結果、2019年に全国5機関以上の地衛研等から検出された広域流行株のMLVA遺伝子型またはMLVAコンプレックス33種類であった[4]。このうち、本県で検出された広域流行株の事例No., MLVA遺伝子型/またはMLVAコンプレックス, 検出された都道府県数は、事例5（MLVA遺伝子型18m0541, 1都1府5県）、事例24（MLVAコンプレックス19c026, 1都9県）であった。2019年に本県で検出されたMLVA遺伝子型は、O157が13タイプ、O26が6タイプであり、他のMLVA遺伝子型と関連性があると認められた

MLVAコンプレックスが、O157で4種類検出された（図3）。事例5, 事例24ともに他県の同じMLVAコンプレックスが検出された感染事例との関連性は不明であった。

特記すべき事例の報告：2019年の感染事例のうち、上述の広域流行株以外の事例について以下に詳細を報告する。

県内で発生したEHEC Og76・Og87感染事例：8月に発生した事例13（表1）では感染者1名とその接触者からそれぞれEHEC (*stx1 stx2*), EHEC (*stx2*) が検出された。これらの分離株は市販の大腸菌O血清群抗血清に凝集せず、OUTと報告された。当所でPCRによるO血清群遺伝子型別[5]を実施したところ、これらの分離株の血清型はそれぞれOg76, Og87であることが判明した。本事例は前述の事例7と同様に、接触者調査により異なる由来もしくは異なる血清型のEHEC保菌者が偶発的に採知されたと考えられた。これらのEHECは*eae*を保有していないEHECであった。全国における本血清型のEHEC分離状況を病原微生物検出情報の腸管出血性大腸菌検出例の血清別統計から調査したところ、EHEC O76は2016年から2019年に各年2～3株の分離が報告されていたが、O87の分離は本事例が初めてであった。

O157抗原凝集抗体の検出によるEHEC O157感染診断とEHEC O157の分離：自家調整したO157抗原凝集抗体を用い、事例18, 事例19の患者血清のO157抗原凝集抗体の検出を行った。事例18・事例19ともにO157抗原凝集のみられた血清の最終希釈倍率は抗体価陽性域であり、EHEC O157抗体陽性と判定した。その後、事例19は患者便よりEHEC O157を分離した。この分離株はセフィキシム・亜テルル酸カリウム（CT）が添加された培地ではコロニーの生育がほとんどなく、CT感受性であった。EHEC O157はCTに対して耐性という特徴があるため、本菌の分離培地にはCTを添加した選択培地が用いられる。しかし、既報[6]に本菌には一部CTに感受性の株が報告されている。このようなCT感受性のEHECを分離するためにはCT非添加の分離培地の併用が必要である。

考察：2019年度は複数のEHEC感染者が検出された事例について、同一事例内でMLVA型が異なる事例が2件（事例7, 事例13）、血清型が異なるEHECがそれぞれ感染者から分離された事例

が1件(事例13)、探知された。これらはMLVAによる遺伝子型別、または遺伝子型別によるO血清群の決定により遺伝的関連性が明らかとなった事例であり、これらの遺伝子型別が迅速な分子疫学的解析に有用であることが示されたと考えられる。

謝 辞

本稿を終えるにあたり、ご協力頂きました県内の医療機関、厚生センター、富山市保健所、健康課、生活衛生課の関係各位ならびに国立感染症研究所 伊豫田淳先生、泉谷秀昌先生に深く感謝致します。

文 献

1. Pei Y, Terajima J, Saito Y, et al. (2008) . Jpn J Infect Dis, 61, 58 – 64
2. 石原朋子, 泉谷秀昌, 伊豫田淳, 他. (2014) . 病原微生物検出情報, 35, 129 – 130
3. 国立感染症研究所, 厚生労働省健康局結核感染症課. (2020). 病原微生物検出情報, 41, 65 – 68
4. 泉谷秀昌, 李 謙一, 伊豫田淳, 他. (2020) . 病原微生物検出情報, 41, 71 – 72
5. Iguchi A, Iyoda S, Seto K, et al. (2017) . J Clin Microbiol, 53, 2427 – 2432
6. 北川恵美子, 浅田征彦, 山岸善信, 他. (2011). 石川保環研報, 48, 31 – 34