

富山県内の腸管出血性大腸菌感染症発生状況(2023年)

木全 恵子 金谷 潤一 齋藤 和輝 池田 佳歩
前西 絵美 磯部 順子 百石祐一朗¹ 大石 和徳

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Infectious Diseases Detected in Toyama Prefecture in 2023

Keiko KIMATA, Jun-ichi KANATANI, Kazuki SAITO, Kaho IKEDA,
Emi MAENISHI, Junko ISOBE, Yuichiro HYAKKOKU, and Kazunori OISHI

目的：腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症は、下痢、腹痛、血便などの症状のほか、時として溶血性尿毒症症候群（HUS）や脳症などの重篤症状を発症する疾患である。また、EHECは感染力が強く、大規模な食中毒や分散型広域食中毒（diffuse outbreak）、集団感染事例を引き起こす。このため、EHECの発生状況や広域流行株の把握は重要である。EHEC感染症は感染症法では三類感染症に位置づけられ、国内でのEHEC感染症の発生状況の迅速な把握が行われている。

当所では県内で発生したEHEC感染症について分離株の収集・解析を行っている。2023年1月

から12月までに富山県において発生したEHEC感染事例は25件、感染者は28名であった。以下に2023年の富山県におけるEHEC感染症の発生状況について、概要、疫学的解析結果を報告する。

材料と方法：2023年1月から12月までに富山県で発生したEHEC感染事例25件の届出について、感染者の年齢層、性別および症状の有無の3つの項目について集計した。

また、分離株の細菌学的解析は、菌株を入手できなかった県外発生事例（表1、事例No.8）1件を除いた24件について行った。

分離株のO血清群およびH血清型は市販抗血清（デンカ）を用いて型別した。市販抗血清で型別できない場合は既報の遺伝子型別を行った[1,2]。遺伝子型別により決定したO血清群およびH血清型はそれぞれOg、Hgと記載した。

薬剤感受性試験は、13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合剤、テトラサイクリン、ストレプトマイシン、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）について行った。CLSIのプロトコルに準拠し、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。また、阻害剤を用いたβ-ラクタマーゼ産生性の確認およびβ-ラクタマーゼ遺伝子のPCRによる検出は既報に従い行った[3,4]。CIT型AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子の同定は既報[5]に従い行った。

各事例の分離株について接着因子遺伝子 *eae*、ペロ毒素遺伝子 *stx1*、*stx2* および凝集付着性大腸

表1. 富山県腸管出血性大腸菌感染症発生状況 (2023)

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}	ペロ毒素遺伝子型
1	2023.5	1	散発	O157:H7	<i>stx2</i>
2	2023.5	1	散発	O157:H7	<i>stx2</i>
3	2023.6	1	散発	O111:Hg8	<i>stx1</i>
4	2023.6	1	散発	O157:Hg7	<i>stx1stx2</i>
5	2023.7	1	散発	O157:H7	<i>stx2</i>
6	2023.7	1	散発	O103:H2	<i>stx1</i>
7	2023.7	1	散発	O103:H2	<i>stx1</i>
8	2023.7	1	散発	O157:HNT	<i>stx2</i>
9	2023.8	1	散発	O157:H7	<i>stx1stx2</i>
10	2023.8	1	散発	O157:Hg7	<i>stx1stx2</i>
11	2023.8	1	散発	O157:H7	<i>stx1stx2</i>
12	2023.8	2	集団	O157:Hg7	<i>stx1stx2</i>
13	2023.8	2	集団	O103:H2	<i>stx1</i>
14	2023.8	1	散発	O157:H7	<i>stx2</i>
15	2023.9	2	集団	O157:H7	<i>stx2</i>
16	2023.9	1	散発	O157:H7	<i>stx1stx2</i>
17	2023.10	1	散発	O103:H2	<i>stx1</i>
18	2023.10	1	散発	O91:Hg14	<i>stx1</i>
19	2023.10	1	散発	Og105:Hg7	<i>stx2</i>
20	2023.10	1	散発	O157:H7	<i>stx1stx2</i>
21	2023.11	1	散発	O157:Hg7	<i>stx2</i>
22	2023.11	1	散発	O26:H11	<i>stx1</i>
23	2023.11	1	散発	Og76:Hg7	<i>stx1</i>
24	2023.12	1	散発	Og5:Hg9	<i>stx1</i>
25	2023.12	1	散発	Og76:Hg19	<i>stx1</i>

O157 14件(16名)、O103 4件(5名)、Og76 2件(2名)、O111 1件(1名)、O26 1件(1名)、Og5 1件(1名)、O91 1件(1名)、Og105 1件(1名) 計25件(28名)

^{*1} 遺伝子型別により決定したO血清群、H血清型はそれぞれOg、Hgと表記した。

菌耐熱性毒素遺伝子 *astA* のPCR による検出を行った。

O157, O26, O111 の multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA) は当所で、O103 および O91 の MLVA は国立感染症研究所で行った[6]。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。得られたMLVAの各標的遺伝子座の反復配列数情報に基づいて国立感染症研究所で付与されたMLVA型(MLVA type)を示した。また、1遺伝子座の反復配列数のみ異なるMLVA型は遺伝的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、コンプレックス型(MLVA comp)として標記した(表3)。また、互いに2つの遺伝子座の反復配列数が異なるMLVA型は関連する可能性を示し、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判定した[7]。

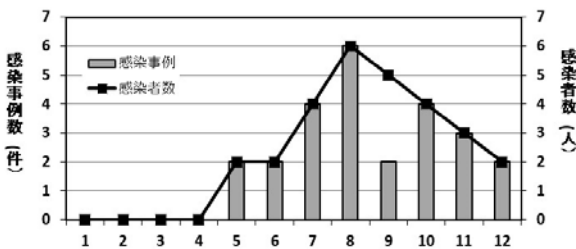


図1. 富山県における腸管出血性大腸菌感染症月別発生動向(2023)

結果：

2023年におけるEHEC感染症発生状況：2023年の富山県におけるEHEC感染事例は散发事例が22件、集団事例が3件であった。これらの内訳は、EHEC O157感染事例が14件、16名、EHEC O103感染事例が4件、5名、O76感染事例が2件、2名、EHEC O111, O26, Og5, O91, Og105感染事例がそれぞれ1件、1名であった(表1)。このうち健康診断で探知された感染事例は散发事例8件(表1, 事例No. 7, 14, 17, 18, 19, 20, 23および25)および集団事例1件(表1, 事例No.13)であった。事例数、感染者数はそれぞれ前年比1.67, 1.27(15件, 22名)で、事例数が増加した(表1)。事例数及び感染者数の月別動向を図1に示した。2023年は7月から11月にかけて事例数の76%(19件/25件)とEHEC感染症が多

く発生した。感染者に対する有症者の割合は67.9%(19名/28名)であった。年代別の割合は20歳代が、35.7%(10名/28名)を占めていた(図2)。男女比は男性35.7%, 女性64.3%で女性がやや多い傾向がみられた。

また、HUSを発症した患者が1名報告された(表1, 事例12)。この患者からEHECは分離することができなかったが、血清からのO抗原凝集抗体の検出によりEHEC感染が診断された。

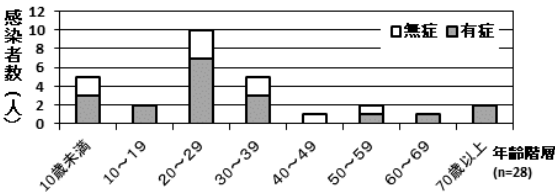


図2. 年齢別腸管出血性大腸菌感染症発生状況

分離株の薬剤感受性：表1の事例No.8をのぞく各事例の代表24株について、薬剤感受性試験を行った。供試菌株の45.8%(11株/24株)が、上述の13薬剤のいずれかに耐性を示した(表2)。このうち3剤(SXT合剤、クロラムフェニコール、テトラサイクリン)耐性株が16.7%(4株/24株)、4剤(SXT合剤、クロラムフェニコール、ストレプトマイシン、テトラサイクリン)耐性株が12.5%(3株/24株)と、複数株検出された。複数の感染事例で同一薬剤耐性パターンを示した分離株が検出されたが、これらの事例間の関連性は不明であった。

表2. 分離株の薬剤感受性

事例No.	分離株の血清型およびベロ毒素遺伝子型	耐性を示した抗菌剤*
1	O157 (<i>stx2</i>)	ABPC ST CP SM TC
2	O157 (<i>stx2</i>)	ST CP SM TC
5	O157 (<i>stx2</i>)	ST CP SM TC
10	O157 (<i>stx1stx2</i>)	CP SM TC
11	O157 (<i>stx1stx2</i>)	CP SM TC
12	O157 (<i>stx1stx2</i>)	CP SM TC
14	O157 (<i>stx2</i>)	KM CP SM
17	O103 (<i>stx1</i>)	ABPC SM
18	O91 (<i>stx1</i>)	CP SM TC
21	O157 (<i>stx2</i>)	ST CP SM TC
24	Og5 (<i>stx1</i>)	ABPC CTX NA CAZ CP SM TC CEZ

* ABPC: アンピシリン, ST: SXT合剤, CP: クロラムフェニコール, SM: ストレプトマイシン, TC: テトラサイクリン, KM: カナマイシン, CTX: セフトキシム, NA: ナリジクス酸, CAZ: セフトジウム, CEZ: セファゾリン

分離株の病原因子：各事例の代表24株のベロ毒素遺伝子型は、*stx1 stx2*保有型が7株、*stx2*保有型が7株、*stx1*保有型が10株であった。事例No. 18および事例25の分離株O91 (*stx1*)、Og76 (*stx1*)

は *eae* を保有していなかった。

O157, O26, O111 の MLVA による遺伝子型別：表3に2023年に県内で分離されたO157, O26および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、MLVA型(表3, MLVA type)およびコンプレックス型(表3, MLVA comp)を示した。また、遺伝子座で2種類の反復配列数が検出された場合は、表3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種類の反復配列数が検出されたためであると考えられた。また、EHEC O103(事例No.6, 7, 13および17)とEHEC O91(事例No.18)は国立感染症研究所で型別された。

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No.10, 11および12(表3, MLVA型23m0273, MLVAコンプレックス23c041)であった。これらの事例は2023年8月に発生した感染事例であったが、事例間の関連性は不明であった。

国立感染症研究所のMLVAによる分子疫学サーベイランスの結果、2023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型またはMLVAコンプレックスは、46種類であった[8]。このうち、本県で検出された広域流行株のMLVA型および、MLVAコンプレックスは事例No.21の23c026(表3)であった。MLVAコンプレックス23c026は9県で7月から11月にかけて検出された。

2023年に本県で検出されたMLVA型は、O157が11タイプ、O103が5タイプ、O26・O111・O91がそれぞれ1タイプであった。他県のEHEC感染事例と同じMLVA型またはMLVAコンプレックスは、O157で6種類(表1, 事例No. 2, 9, 10, 11, 12, 14, 15および21)、O103が2種類(表1, 事例No. 6および7)、O111が1種類(表1, 事例No. 3)が検出された(表3)。しかし、これらの事例について、他県の同じMLVA型または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：2023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2つのEHEC Og76感染事例：2023年11月および12月に市販の大腸菌O血清群

抗血清に凝集せず、OUTと報告された感染事例がそれぞれ1件報告された(表1, 事例No.23, 25)。この事例の分離株のO血清群およびH血清型について、PCRによる遺伝子型別[1,2]を実施したところ、それぞれOg76:Hg7およびOg76:Hg19であった。これら2事例を含め、EHEC O76による感染事例は2023年に全国で3件発生しているが、有症事例は本県で発生した感染事例(表1, 事例No. 25)のみであった。

AmpC β-ラクタマーゼ産生性EHECが分離された感染事例：2023年12月にO血清群不明のEHECによる散発感染が1件報告された(表1, 事例No. 24)。当所でO血清群不明のEHECのO血清群遺伝子型別[1]を行った結果、Og5であった。この事例の分離株について、薬剤感受性試験を行った結果、β-ラクタマーゼ産生株であることが推測された(表2)。このため、β-ラクタマーゼ遺伝子およびβ-ラクタマーゼ産生性の解析を行った[3-5]。その結果、本菌がCIT型AmpC β-ラクタマーゼを保有しており、その遺伝子型は、*bla*_{CMY-2}であることが判明した。本県でのAmpC β-ラクタマーゼ産生性EHECによる感染事例は2015年(2事例)につづき3事例目であった。

考察：2023年のEHEC感染事例数およびEHEC感染者数は、25件、28名であり、新型コロナウイルス感染症流行前の2012年から2019年の本県の感染事例数および感染者数の平均値(19.1件、36.6名)の131%、76.5%であった。2021年・2022年のEHEC感染事例数は新型コロナウイルス感染症流行前の平均値に対して約80%前後(83.8%、78.5%)であったのに対し、2023年は増加傾向がみられた。これは、2023年に新型コロナウイルス感染症が5類感染症に指定され、感染症対策が緩和されたことなどの影響が考えられたが、原因は明確ではない。このため、今後もEHEC感染症の発生状況の変化を注視する必要がある。

また、2023年は、AmpC β-ラクタマーゼ産生性EHECによる感染事例が報告された。AmpC β-ラクタマーゼ産生菌はAmpC β-ラクタマーゼの過剰発現により、β-ラクタム系抗菌薬に耐性を示す薬剤耐性菌である。また、AmpC β-ラクタマーゼは染色体性とプラスミド性のものが存在しており、プラスミド性AmpC β-ラクタマーゼは菌株や菌種間で伝播する。今回検出されたEHECはプラスミド性であるCIT型AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子 *bla*_{CMY-2} を保有していた。こ

表 3. MLVA における各標的遺伝子座の反復配列数

O157				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
事例No.	血清型	MLVAtype	MLVAcomp																	
1	O157	23m0099		2	-2	1	6	-2	12	5	-2	9	12	9	11	5	5	7	-2	2/7
2	O157	22m0275		2	-2	1	6	-2	7	6	-2	-2	8	9	16	5	4	7	9	5
4	O157	18m0098		2	-2	1	4	-2	5	4	-2	-2	9	12	13	8	7	6	3	6
5	O157	21m0355		2	-2	1	7	-2	9	5	-2	-2	9	9	7	5	4	7	11	7
9	O157	23m0385	23c047	2	-2	1	4	-2	5	4	2/11	-2	8	12	13	11	7	6	3	7
10	O157	23m0273	23c041	2	-2	1	4	-2	6	5	12	-2	9	11	13	5	7	6	6	6
11	O157	23m0273	23c041	2	-2	1	4	-2	6	5	12	-2	9	11	13	5	7	6	6	6
12	O157	23m0273	23c041	2	-2	1	4	-2	6	5	12	-2	9	11	13	5	7	6	6	6
14	O157	19m0299		2	-2	1	1	-2	7	5	-2	-2	7	8	8	3	3	5	7	6
15	O157	23m0378		2	-2	1	3	-2	9	4	-2	-2	8	9	-2	4	3	6	4	9
16	O157	23m0393		2	-2	1	1	-2	7	6	3	-2	-2	9	11/12	5	3	5	5	9
20	O157	23m0672		2	-2	1	4	-2	5	4	6	-2	10	12	13	8	8	6	3	5
21	O157	23m0212	23c026	2	-2	1	8	-2	9	6	-2	-2	6	9	7	5	4	7	11	8

O26-O111				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
事例No.	血清型	MLVAtype	MLVAcomp																	
3	O111	23m3005		4	1	5	2	-2	14	9	-2	3	-2	3	10	2	-2	1	-2	11
22	O26	23m2098		2	1	1	2	2	9	13	-2	-2	-2	1	10	2	-2	1	-2	-2

O103-O91			
事例No.	血清型	MLVAtype	MLVAcomp
6	O103	17m4017	
7	O103	18m4024	
13	O103	16m4003	
17	O103	16m4013	
18	O91	23m8027	

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。

のことから、本菌株も他の菌から *bla*_{CMY-2} をコードするプラスミドを獲得し、 β -ラクタム系抗菌薬に耐性を獲得したと考えられる（表 2）。

このように、EHEC においても薬剤耐性を獲得する株が検出されていることから、今後も EHEC における薬剤耐性について監視する必要があると考える。

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、感染症対策課、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. Iguchi A, Iyoda S, Seto K, et al. (2015). J Clin Microbiol, 53, 2427-2432

2. Iguchi A, Nishii H, Seto K, et al. (2020). J Clin Microbiol, 58, e01493-20

3. 国立感染症研究所 病原体検出マニュアル 薬剤耐性菌, 39-42
<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/AMR20240321.pdf>

4. Watahiki M, Kawahara R, Suzuki M, et al. (2020) Jpn J Infect Dis., 7, 166-172

5. Pérez-Pérez FJ, Hanson ND. (2002) J Clin Microbiol., 40, 2153-2162

6. Pei Y, Terajima J, Saito Y, et al. (2008). Jpn J Infect Dis, 61, 58-64

7. 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

8. 泉谷秀昌, 李 謙一, 伊豫田淳, 他. (2024) 病原微生物検出情報, 45, 80-82