

感染予防対策に向けたヒト及び環境等における感染症起因菌の調査（平成26年度）

①志賀毒素産生性大腸菌の疫学解析

河合央博，大畠律子，檀上博子，中嶋 洋，井上 勝，仲 克巳

【調査研究】

感染予防対策に向けたヒト及び環境等における感染症起因菌の調査 (平成 26 年度)

①志賀毒素産生性大腸菌の疫学解析

Investigation of pathogenic bacteria in the human and the environmental samples for prevention of transmission (FY2014)

① Investigation of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*

河合央博, 大島律子, 檀上博子, 中嶋 洋, 井上 勝*, 仲 克巳** (細菌科)

* 岡山赤十字病院第一小児科, ** 暮らしき作陽大学食文化学部現代食文化学科

Hisahiro Kawai, Ritsuko Ohata, Hiroko Danjou, Hiroshi Nakajima, Masaru Inoue*, Katsumi Naka** (Bacteriology Section)

* Department of Pediatrics, Okayama Red Cross General Hospital

** The Department of Contemporary Food Culture, Kurashiki Sakuyo University

要 旨

志賀毒素産生性大腸菌 (STEC) 感染症の感染源・感染経路の究明と発生予防を目的として、平成 26 年度に県内でヒトから分離された STEC の疫学調査を行い、併せて、動物及び環境材料について検査を実施した。収集したヒト由来株 67 株のうち、O 血清群 157 が 32 株 (47.8%) で最も検出率が高かった。牛由来検体からの分離株は O 血清群型別不能が多く、ヒトから多く分離される O 血清群 157 及び 26 等は分離されなかった。

[キーワード：志賀毒素産生性大腸菌, 疫学, 血清型, 分子疫学]

[Key words : shiga toxin-producing *Escherichia coli*, epidemiology, serotype, molecular epidemiology]

1 はじめに

岡山県下で発生した志賀毒素産生性大腸菌 (以下「STEC」という。) 感染症の感染源・感染経路の究明と発生予防を目的として、疫学調査を継続して実施している。平成 26 年度は、収集したヒト由来株、動物及び堆肥から分離した菌株を用いて疫学解析を行ったので報告する。

2 材料及び方法

2.1 菌株及び検体

平成 26 年度は、県内でヒトから分離された STEC (以下「ヒト由来 STEC」という。) 67 株 (患者由来株 32 株, 無症状保菌者由来株 35 株) を収集し、牛直腸便 456 検体及び牛糞堆肥 12 検体を用いて行った。

2.2 検査法

2.2.1 生化学的性状試験

菌株は、TSI 寒天培地 (日水製薬), CLIG 寒天培地 (極

東製薬工業), LIM 培地 (日水製薬) でスクリーニング後、ID テスト EB20 (日水製薬) を用いて菌の同定を行った。

2.2.2 血清型別

血清型別は、病原性大腸菌免疫血清 (デンカ生研) を用いて実施し、O 血清群 (以下「O」という。) 及び H 血清群 (以下「H」という。) を決定した。また、市販血清のない菌株の血清型別は、国立感染症研究所 (以下「感染研」という。) に依頼して実施した。

2.2.3 毒素型別

毒素 (以下「stx」という。) 型別は、PCR 法¹⁾あるいはラテックス凝集反応による大腸菌ベロ毒素検出用キット (デンカ生研) により実施した。

2.2.4 反復配列多型解析法 (multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis 以下「MLVA 法」という。) による遺伝子型別解析²⁾

O26, O111 及び O157 株については、MLVA 法によ

る遺伝子型別(以下「MLVA 型」という。)の解析を感染研に依頼して実施した。

2.2.5 IS-printing system による遺伝子型別解析

O157 株については、IS-printing System (TOYOBO) を用いて遺伝子型別(以下「IS 型」という。)の解析を実施した。

3 結果及び考察

3.1 岡山県内で分離された STEC の疫学調査

平成 26 年度のヒト由来 STEC の月別検出状況を、表 1 に示した。

ヒト由来 STEC は、例年と同様に夏期に多く発生する傾向が見られ、特に、7 月は 46.3% と検出率が非常に高かった。しかし、9 月は検出されず、例年にはない傾向が見られた。これは、気温が 8 月～9 月にかけて平年よりも低かったこと、そして、7 月に腸管出血性大腸菌感染症注意報が、8 月には同警報が発令されたことにより注意喚起が図られたことも一つの要因ではないかと考えられた。

ヒト由来 STEC の血清型・stx 型を、表 2 に示した。

12 種類の血清型・stx 型株が検出された。このうち、O157 は 32 株(47.8%)、そして O26 は 23 株(34.3%)であった。この 2 種類の血清群は、全体の約 80% を占め、この傾向も例年と同様であった。O157 及び O26 以外では、O91、O103、O111、O121、O174、並びに O179 が検出された。

O157 株の MLVA 型及び IS 型の分類数、O26 及び O111 株の MLVA 型分類数を、表 3 に示した。

MLVA 解析により、O157 株は 21 種類、O26 株は 6 種類、O111 株は 3 種類の MLVA 型に分類された。いずれの血清群の株でも、同一家族から分離される等、疫学情報から関連性が高い株間では、おおむね同一の MLVA 型に分類された。しかし、一部の株間においては、疫学的関連性が見られるにもかかわらず、異なる MLVA 型に分類された。これらは、DNA の点変異、欠失及び挿入等の genetic event により 1～2 遺伝子座で単一配列のリピート数が異なったこと等により、別の MLVA 型に分類されたものと思われる。したがって、疫学調査においては、疫学情報や遺伝子解析結果等の総合的な判断が重要であると考えられる。

O157 株については、IS-Printing system による遺伝子型別解析を行ったが、IS 型は 17 種類に分類された。同一家族由来株等、疫学的関連性が強い株間では、同一の IS 型に分類された。一方、IS 型は同一であるが MLVA 型の異なる株が確認され、これらの株間には、疫学的な関連性が確認できないものがあった。IS-printing system による遺伝子型別は、同一家族から分離される等、疫学的関連性が見られる場合には同一の結果を示し、なおかつ、手技が非常に簡便であり迅速に行えることから、迅速スクリーニング法として有用であると考えられる。しかし、疫学的関連性が確認できない、あるいは不明な場合は、結果を慎重に取り扱う必要があると

表 1 ヒト由来 STEC 月別検出状況

月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	1月	2月	3月	計
患者由来株	3	3	6	11	4	0	2	0	2	1	0	0	32
無症状保菌者由来株	0	1	1	20	6	0	6	0	0	1	0	0	35
計	3	4	7	31	10	0	8	0	2	2	0	0	67
%	4.5	6.0	10.4	46.3	14.9	0	11.9	0	3.0	3.0	0	0	

表 2 ヒト由来 STEC の血清型・stx 型

血清型	stx 型	株数	%
O26:H11	1	22	32.8
O26:H-	1	1	1.5
O91:H14	1	1	1.5
O103:H2	1	4	6.0
O111:H-	1	4	6.0
O121:H19	2	1	1.5
O157:H7	1,2	23	34.3
	2	5	7.5
O157:H-	1,2	3	4.5
	2	1	1.5
O174:H21	2	1	1.5
O179:H8	2	1	1.5
計		67	

表 3 ヒト由来 STEC O157 株の MLVA 型及び IS 型の分類数及び O26、O111 株の MLVA 型の分類数

血清型	stx 型	株数	MLVA 型数	IS 型数
O157:H7	2	5	5	5
	1,2	23	14	10
O157:H-	1,2	3	1	1
	2	1	1	1
O26:H11	1	22	5	
O26:H-	1	1	1	
O111:H-	1	4	3	

思われた。

STEC 株は、厚生労働省通知（「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）等）に基づき感染研へ送付しており，感染研で実施した遺伝子型別解析等の結果を還元されている。遺伝子型別解析結果の還元は，昨年度まではパルスフィールドゲル電気泳動法（pulsed-field gel electrophoresis，以下「PFGE 法」という。）によるものであったが，広域発生事例をより一層迅速に把握するため，平成 26 年度より O26，O111 及び O157 株について，MLVA 法を用いることとなった。MLVA 法は，データをコード化して型別できることから，菌株間の関連性の比較が容易であり，また，PFGE 法とほぼ同等の結果がより迅速に得られることが利点として挙げられる。

今後は，MLVA 法を導入し，感染源や感染経路究明のため，行政機関等へ遺伝子型別解析結果を迅速に提供する必要があると考える。

牛直腸便及び牛糞堆肥から検出された STEC の血清型・stx 型を，表 4 に示した。

牛直腸便 456 検体中 55 検体（12.1%），牛糞堆肥 12 検体中 3 検体（25.0%）から STEC が検出された。27 種類の血清型・stx 型に分類されたが，その多くは O 血清群型別不能（OUT）であり，ヒトから多く分離される O157，O26 等は分離されなかった。この結果は，過去の調査結果と同様の傾向を示していたが，毎年ヒトから平均 100 株前後分離されている株は O157 及び O26 等であり，より広範囲の検体について STEC 汚染調査や動物の保菌調査を継続して実施する必要があると思われた。

表 4 牛直腸便等由来 STEC の血清型・stx 型

検体名	血清型	stx型	陽性検体数	検出率(%)
牛直腸便	O6:HUT	2	1	0.2
	O8:H19	2	1	0.2
	O8:H19	1,2	2	0.4
	O8:H28	2	1	0.2
	O8:HUT	1,2	1	0.2
	O28ac:HUT	2	1	0.2
	O91:H21	2	1	0.2
	O119:H-	2	2	0.4
	O153:HUT	2	1	0.2
	O153:HUT	1,2	1	0.2
	OUT:H2	2	3	0.7
	OUT:H2	1,2	1	0.2
	OUT:H7	1,2	1	0.2
	OUT:H9	1	2	0.4
	OUT:H11	2	4	0.9
	OUT:H19	2	7	1.5
	OUT:H19	1,2	3	0.7
	OUT:H21	2	2	0.4
	OUT:H21	1,2	2	0.4
	OUT:H28	2	1	0.2
OUT:HUT	1	1	0.2	
OUT:HUT	2	4	0.9	
OUT:HUT	1,2	6	1.3	
OUT:H-	2	6	1.3	
	計		55	12.1
牛糞堆肥	O15:H28	2	1	8.3
	O28ac:HUT	1,2	1	8.3
	O119:H-	1	1	8.3
	計		3	25.0

謝 辞

本調査の実施に際して，MLVA 型別等をお願いしました国立感染症研究所の泉谷 秀昌先生，並びに菌株の分与や検体採取にご協力いただきました関係機関の先生方に深謝いたします。

文 献

- 1) 小林一寛：腸管出血性大腸菌の同定法 2. PCR 法，臨床検査，36，1334～1338，1992
- 2) Izumiya H, et al., Microbiol Immunol 54:569-577, 2010

