

群馬県において分離された腸管出血性大腸菌

黒澤 肇 安中秀幸* 坂野智恵子 横田陽子 小畑 敏

Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Isolated in Gunma Prefecture

Hajime KUROSAWA, Hideyuki ANNAKA, Chieko SAKANO, Yoko YOKOTA, Satoshi KOBATAKE

1. はじめに

1999年4月に施行された「感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律」(以下感染症法)の三類感染症である腸管出血性大腸菌(enterohemorrhagic *Escherichia coli*:EHEC)感染症は、診断した医師による全数届出が義務付けられている。国内でのEHEC感染症の届出数は年間約4千件前後で推移しているが、学校給食などを原因とした集団例は激減したものの、飲食店等での発生は後を絶たない¹⁾。例年夏期に流行のピークがあり、冬期に減少する特徴がある。血清型(O群)ではO26、O111、O157(以下主要血清型)が高頻度に分離されているが、近年はminor serotype(主要血清型以外)と言われる血清型が漸増している²⁾。今回は感染症法施行後、2000年4月から2010年3月迄の10年間に群馬県で届出されたEHEC感染症において、感染症法第15条(感染症の発生状況、動向及び原因の調査)の規定により、本県の感染症発生動向調査に基づき患者と無症状病原体保有者の同意を得て収集されたEHECを用いて、血清型別試験、ベロ毒素(VT)型別試験、薬剤感受性試験を実施したので、その概要を報告する。

2. 対象と方法

2.1. 供試株

感染症法(三類感染症)により届出となった患者および無症状病原体保有者から分離され、届出先の保健所により医療機関、衛生検査所等から当所へ搬入されたEHEC 681株を使用した。

2.2. 血清型別試験

血清型別試験(O群型別)は、供試株を普通寒

* 現 西部保健福祉事務所

天培地に好氣的条件下、37℃で18時間培養し、100℃で60分間加熱処理し、遠心分離したものを試料として、病原大腸菌免疫血清「生研」(デンカ生研)を用いて凝集の有無を確認し判定した。O群型別が不能であった供試株はOUT(O- untypable)と表記した。

2.3. 毒素産生性試験と遺伝子の検出

VT産生性試験とVT型別はVTEC-RPLA「生研」(デンカ生研)を用いて行った。PCR法によるVT遺伝子(*vt1*, *vt2*)の検出は、VT産生に關与するバクテリオファージの塩基配列をもとに設計し、受託合成したオリゴDNA標品を使用した。

2.4. 薬剤感受性試験

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)の実施基準に準拠し、Kirby-Bauer法にて市販の感受性試験用ディスクを用いて行った。薬剤はアンピシリン(ABPC)、ピペラシリン(PIPC)、セフメタゾール(CMZ)、ストレプトマイシン(SM)、カナマイシン(KM)、ゲンタマイシン(GM)、テトラサイクリン(TC)、クロラムフェニコール(CP)、ホスホマイシン(FOM)、ナリジクス酸(NA)、オフロキサシン(OFLX)、スルファメトキサゾール・トリメトプリム(ST)の12種類を使用した。

3. 結果

3.1. 分離状況

供試株の年度別の血清型およびVT型を表1に示した。血清型はOUT、O15、O26、O103、O121、O111、O145、O157の8種で681株が分離された。内訳は、OUTが1株(0.1%)、O15が1株(0.1%)、O26が161株(23.6%)、

O103 が 3 株(0.4 %)、O121 が 2 株(0.3 %)、O111 が 51 株(7.5 %)、O145 が 4 株(0.6 %)、O157 が 458 株(67.3 %)であった。主要血清型が全体の 98.4(670/ 681) %を占めていた。2006 年度は保育園の集団例で O26 の数は増加したが、EHEC 全体の分離数は年度により増減していた。血清型と VT 型との組合せでは、O26 VT1 産生が 139 株(20.4 %)、O157 VT2 産生が 129 株(18.9 %)、O157 VT1-2 産生が 326 株(47.9 %)で全体の 87.2(594/ 681) %を占め、EHEC で高頻度に分離されるタイプであった。主要血清型の中でも O111 VT2 産生株は分離されず、O26 VT2 産生株、O157 VT1 産生株は分離数が極めて低かった。minor serotype EHEC は 2005 年に O145 が分離され、2007 年以降は OUT、O15、O103、O121、O145 の 5 種類が分離された。

3.2. 薬剤感受性試験

各血清型における薬剤感受性試験の結果を表 2- 5 に示した。供試した 681 株のうち、251 株(36.9 %)が 12 剤の何れかに耐性であった。NA 耐性は O111 で 1 株分離されたが、フルオロキノロンの OFLX 耐性株は、何れの血清型でも分離されなかった。O26 では 161 株中 119 株(73.9 %)が 1 剤以上の薬剤に耐性を示した。O26 の薬剤耐性パターンでは、ABPC 単剤に耐性が 29 株(24.4 %)、SM 単剤に耐性が 16 株(13.4 %)、ABPC、SM に耐性が 22 株(18.5 %)、SM、TC に耐性が 33 株(27.7 %)で、耐性全体の 84.0 %を占めた。2006 年度に ABPC、FOM 耐性株、2009 年度に FOM 単剤耐性株が各 1 株分離された。O111 では 51 株中 17 株(33.3 %)が 1 剤以上の薬剤に耐性を示した。O111 の薬剤耐性パターンでは、ABPC 単剤に耐性が 2 株(11.8 %)、他は ABPC を含む 3~5 剤耐性が 15 株分離された。O157 では 458 株中 109 株(23.8 %)が 1 剤以上の薬剤に耐性を示した。O157 の薬剤耐性パターンでは、ABPC 単剤に耐性が 33 株(30.3 %)、SM、TC に耐性が 12 株(11.0 %)、ABPC、SM、TC の 3 剤に耐性が 22 株(20.2 %)で耐性全体の 61.5 %を占めた。minor serotype EHEC の薬剤耐性パターンでは、O103 で ABPC 単剤耐性が 1(1/3)株、ABPC、SM、TC 耐性が 1(1/3)株、O15 で SM、TC、

FOM 耐性が 1(1/1)株、O145 で ABPC、SM、KM、TC 耐性が 2(2/4)株、OUT で ABPC、SM、TC、ST が 1(1/1)株であった。O121 の 2 株は使用した 12 剤に感受性であった。

4. 考察

EHEC 感染症はヒト→ヒト感染や食品・食材等の媒介により、散发例や集団例が発生している。2009 年に地方衛生研究所から国立感染症研究所感染症情報センター(IDSC)に報告された EHEC 感染症の血清型は、O157 が全報告数の 64.4%、O26 が同 23.2%で全体の 87.6 を占め、本県における 10 年間の同血清型の分離頻度(90.9%)と概ね一致していた。近年は市販される病原大腸菌免疫血清混合 9 の単身血清(O74、O91、O103、O121、O145、O161、O165)等の血清型である minor serotype EHEC が漸増傾向にある。EHEC は大腸菌へのバクテリオファージの溶原化によって VT 産生性が獲得されるので、血清型別不能である OUT や minor serotype では、VT 産生と VT 遺伝子の確認が不可欠と思われる。本県では 2005 年に O145、2007 年に O103、O121、2008 年に OUT、O15、O103、2009 年には O103、O145 と徐々に散見されているが、何れも散发例で国内での関連は不明であった。薬剤感受性試験での耐性率(1 剤以上)は、O157 は 23.8 % (109/458)であったが、O26 は 73.9 % (119/161)と極めて高かった。O26 は O157 に比べ耐性化の強いことが示唆される。薬剤別では ABPC、SM、TC における耐性が顕著であった。KM 耐性株は O157 では一株も見られなかったが、O26、O111、minor serotype には複数存在した。興味あることに、EHEC 感染症の治療に汎用される FOM に耐性を示す株が 2006 年と 2009 年に O26 から 2 株(2 件)、2008 年に O15(1 件)から分離された。疫学調査の治療歴では、2 件は診断時に FOM が処方されたが、後に他の抗菌剤へ変更されていた。第一選択薬への耐性化は、治療が長引くばかりでなく、重篤な合併症を引き起こすので、動向に注視する必要がある³⁾。以上のことから、感染症発生動向調査において、EHEC の分析データを集積することは、長期的な感染症対策に有用であると考えられる。

謝 辞

本調査にご協力頂いた県内の各医療機関ならびに保健福祉事務所の関係職員に深謝致します。

文 献

- 1) 国立感染症研究所、厚生労働省健康局結核感染症課：腸管出血性大腸菌感染症 2010年 5 月現在、病原微生物検出情報、31、152-154、2010.

- 2) Karama M., R. P. Johnson, R. Holtlander, C. L. Gyles, 2008: Phenotypic and Genotypic Characterization of Verotoxin-producing *Escherichia coli* O103: H2 Isolates from Cattle and Humans, J. clin. Microbiol., **46**, 3569- 3575.
- 3) Toshinobu H., Taku K., Kumiko S., Keigo S., Michio O., 1999: Emergence of Fosfomycin-Resistant Isolates of Shiga- Like Toxin-Producing *Escherichia coli* O26, J. Antimicrob. Chemother., **43**, 789- 793.

表 1 EHEC の血清型とベロ毒素型

血清型	毒素型	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	小計
OUT	VT1									1		1
O15	VT2									1		1
	VT1	2	28	9	8	6	4	56	3	11	12	139
O26	VT2	5						1				6
	VT1-2			12			2			1	1	16
O103	VT1								1	1	1	3
O121	VT2										1	1
	VT1-2								1			1
O111	VT1		2		1	1	5	7	1	4		21
	VT1-2	1	5			17	3	1		3		30
O145	VT2						3				1	4
	VT1	1					2					3
O157	VT2	6	9	9	14	18	4	23	18	16	12	129
	VT1-2	13	42	19	10	48	33	37	48	43	33	326
合計		28	86	49	33	90	56	125	72	81	61	681

表 2 EHEC O26 の薬剤耐性パターン

耐性パターン				2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	小計
ABPC						3		3	13		4	6	29
SM					12				3			1	16
FOM												1	1
ABPC	SM			21					1				22
SM	KM				1								1
SM	TC								31		1	1	33
ABPC	FOM								1				1
ABPC	PIPC	SM		5									5
ABPC	SM	KM	TC						1				1
ABPC	SM	TC	ST				1				4		5
ABPC	GM	TC	ST				1						1
ABPC	TC	CP	ST									3	3
ABPC	SM	KM	TC	CP				1					1
合計					26	13	3	2	4	50	0	9	119

表3 EHEC O111 の薬剤耐性パターン

耐性パターン					2000	2001	2003	2004	2005	2006	2008	小計
ABPC							1				1	2
ABPC	SM	TC							2		3	5
ABPC	CMZ	SM	TC						1			1
ABPC	SM	KM	TC			1	2			1		4
ABPC	PIPC	SM	KM	TC		4						4
ABPC	SM	KM	TC	NA	1							1
合計					1	5	1	2	3	1	4	17

表4 EHEC O157 の薬剤耐性パターン

耐性パターン					2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	小計
ABPC							4	15			6	4	3	1	33
SM							2		1	1	2				6
TC					1		1				1	1	2	3	9
CP													2	3	5
ABPC	SM						1	1				1		3	6
ABPC	TC												2		2
SM	TC				2	3	1		3		2		1		12
TC	CP									1					1
CP	ST													1	1
ABPC	PIPC	SM						1							1
ABPC	SM	TC				1	1	1	2	1	1	3	5	7	22
ABPC	SM	ST											1	1	2
SM	TC	ST					1								1
ABPC	PIPC	SM	TC			1	1	2					1		5
ABPC	PIPC	SM	ST					1							1
ABPC	SM	TC	CP											1	1
ABPC	SM	TC	ST										1		1
合計					3	5	12	21	6	3	12	9	18	20	109

表5 minor serotype EHEC の薬剤耐性パターン

耐性パターン					2005	2007	2008	2009	小計
O103	ABPC					1			1
O103	ABPC	SM	ST					1	1
O15	SM	TC	FOM				1		1
O145	ABPC	SM	KM	TC	2				2
OUT	ABPC	SM	TC	ST			1		1