

## 香川県で分離された腸管出血性大腸菌の分子疫学解析 (2017)

Molecular Epidemiological Analysis of enterohemorrhagic *Escherichia coli* Isolated in Kagawa Prefecture (2017)

関 和美                      岩下 陽子                      福田 千恵美                      内田 順子  
Kazumi SEKI              Yoko IWASHITA              Chiemi FUKUDA              Junko UCHIDA

## 要 旨

2017年1月から12月に香川県内で分離された腸管出血性大腸菌47株について分子疫学解析を行い、関連性を検討した。分離された腸管出血性大腸菌は、O157:10株、O26:22株、O111:6株、O91:2株、O146:4株、O55:2株、O6:1株であった。O157についてはパルスフィールドゲル電気泳動法 (pulsed-field gel electrophoresis : PFGE法) とIS - printing System (IS法) を実施し、O157以外についてはPFGE法を実施した。また、O157とO26、O111、O91については、国立感染症研究所 (感染研) が反復配列多型解析法 (multiple locus variable-number tandem repeat analysis : MLVA法) により解析した結果も併せて比較した。発生状況は、家族・友人内事例が8件、同一施設内事例が2件、散発事例が12件であった。

結果は、家族・友人内事例、同一施設内事例で、PFGE法、IS法、MLVA法の全ての解析結果で関連性がみられた。O111の散発2事例では、PFGEのバンドパターンが同一クラスター (類似度97.9%) に分類されたが、MLVA型は異なっていた。また、O146の散発2事例と友人内事例で、PFGEのバンドパターンが全て一致したが、聞き取り調査では散発と友人内事例間に疫学情報の共通事項がみられず、関連性は不明であった。

分子疫学解析の結果は、PFGE法の解析結果だけで関連性を特定するのは難しく、疫学情報やMLVA型も照らし合わせて、総合的に判断することが重要である。

キーワード：腸管出血性大腸菌、PFGE法、IS法、MLVA法

## I はじめに

分子疫学解析は、食中毒や感染症発生時に感染源の究明や感染拡大防止、再発防止のために重要である。腸管出血性大腸菌の分子疫学解析は、PFGE法が広く用いられている。しかし、PFGE法は分解能や汎用性に優れているが、迅速性に欠けている。近年、分解能、迅速性に優れた分子疫学解析法として、MLVA法が開発され用いられるようになってきている。

本報では、2017年1月から12月に香川県内で分離された腸管出血性大腸菌47株について、分子疫学解析を行い、関連性を検討したので報告する。

## II 方法

## 1 供試菌株

2017年1月から12月に香川県内で分離された腸管出血性大腸菌47株 (O157:10株、O26:22株、O111:6株、O91:2株、O146:4株、O55:2株、O6:1株) を対象とした。

## 2 方法

腸管出血性大腸菌のうち、O157についてはPFGE法とIS法を実施し、O157以外についてはPFGE法を実施した。また、O157とO26、O111、O91については、感染研がMLVA法により解析した結果も併せて比較した。

## (1) PFGE法

制限酵素 Xba I を用い、2004年に感染研で示された方法<sup>1)</sup> に従いPFGE法を実施した。疫学的解釈は、感染研の示した分類<sup>2)</sup> に基づき、DNA断片パターン上での異なるバンド数が0の場合は一致、2~3は密接に関係、4~6は関係する可能性がある、7以上は不一致とし、バンドパターンの相違数が3以内を同一クラスターとして分類した。

## (2) IS法

IS - printing System (東洋紡) を用いて実施した。電気泳動は3%アガロースゲルを使用した。増幅されたスタンダードDNA18バンドを高分子量側から3バンドに区切り、各区分に順に「1」「2」「4」の数字を当て、検体はスタンダードDNAのバンドと比較し、増幅された場合は

その数字を加算して12桁にコード化し解析した。

(3) MLVA法

感染研が実施した解析結果を用いた。感染研では、リピート数が1遺伝子座において異なる single locus variant (SLV) など、関連性が推測される型を complex としてまとめる様式をとっている<sup>3)</sup>。

III 結果

1 O157の解析結果

事例概要を表1に示す。

(1) PFGE法の解析結果

PFGE解析結果を図1に示す。事例1～5の10株は、5つのバンドパターンに型別された。事例1～3の散発3株は、全て異なるバンドパターンであった(EH17-13、EH17-17、EH17-19)。事例4、5の家族内発生では、各事例で全ての

株が、同一のバンドパターンであった(EH17-20、21、EH17-23～27)。

(2) IS法の解析結果

IS解析結果を表1に示す。事例1～3の散発3株は、全て異なるISコードであった(EH17-13、EH17-17、EH17-19)。事例4、5の家族内発生では、各事例で全て同一のISコードであった(EH17-20、21、EH17-23～27)。

(3) MLVA法の解析結果

MLVA解析結果を表1に示す。事例1～5の10株は、6つのMLVA型に型別された。事例1～3の散発3株は、全て異なる型(17m0130、16m0085、17m0363)に型別された(EH17-13、EH17-17、EH17-19)。事例4の家族内発生2株は、同じ型(14m0369)であった(EH17-20、21)。事例5の家族内発生5株は、4株(EH17-23～25、27)は同じ型(17m0080)であったが、1株(EH17-26)は異なる型(17m0360)に型

表1 O157 事例概要、IS法とMLVA法の解析結果

事例番号	菌株番号 (EH17- )	血清型	発生日	年齢	疫学情報	毒素型	IS-printingコード		MLVA(感染研)		
							1st	2nd	MLVA型	MLVA complex	
1	13	O157:H7	8月	5～9才	患者	VT2	205457	211242	17m0130	17c013	
2	17	O157:H7	8月	60才代	患者	VT1+VT2	317577	211757	16m0085	—	
3	19	O157:H7	9月	10才代	患者	VT2	041045	302443	17m0363	—	
4	20	O157:H7	9月	0～4才	患者	家族	VT2	145047	301443	14m0369	—
	21		10月	0～4才	患者						—
5	26	O157:H7	10月	0～4才	患者	家族	VT2	315557	611653	17m0360	17c019
	23			0～4才	患者						
	24			20才代	保菌者						
	25			20才代	保菌者						
	27			0～4才	患者						

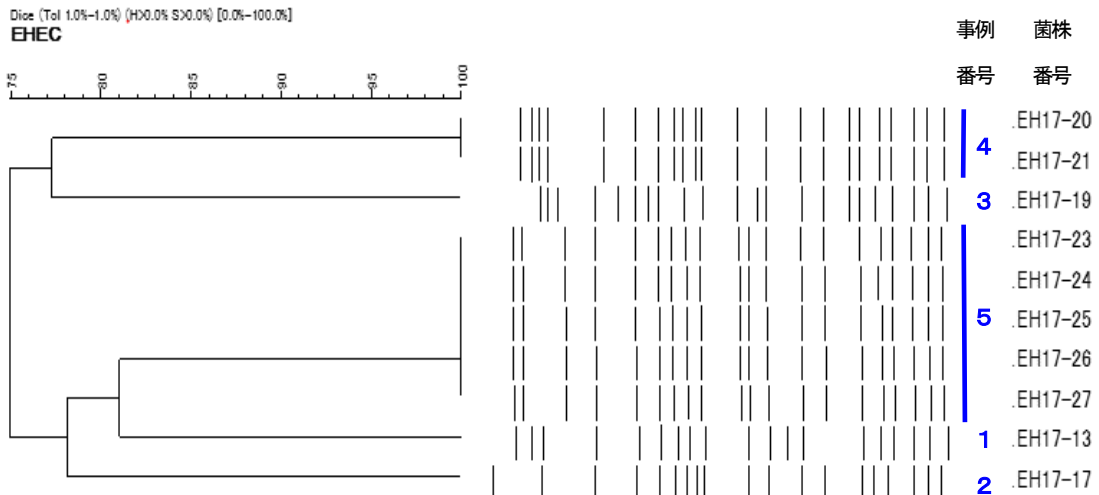


図1 O157 PFGE法の解析結果

別された。しかしこの2つの型(17m0080と17m0360)は、同一の complex (17c019) に分類された。

2 O26の解析結果

事例概要を表2に示す。

(1) PFGE法の解析結果

PFGE解析結果を図2に示す。事例6~10の22株は、7つのバンドパターンに型別された。事例6の同一施設内発生と事例8の家族内発生は、各事例で同一のバンドパターンであった(EH17-1、2、EH17-8、9)。事例10の集団発生は、16株が3つのバンドパターンに型別されたが、同一のクラスター【B】(類似度95.0%)に分類された(EH17-22、28~32、37~46)。事例7の散発は、事例8と同一のクラスター【A】(類似度97.4%)に分類された(EH17-3とEH17-

8、9)。事例9の散発は、異なるバンドパターンであった(EH17-16)。

(2) MLVA法の解析結果

MLVA解析結果を表2に示す。事例6~10の22株は、7つのMLVA型に型別された。事例6の同一施設内発生2株は同じ型(17m2024)であった(EH17-1、2)。また、事例8の家族内発生2株も同じ型(17m2005)であった(EH17-8、9)。事例10の集団発生16株は、14株(EH17-22、28~32、37~39、42~46)が同一の型(17m2161)であったが、2株(EH17-40、41)は異なった型(17m2170、17m2171)に型別された。しかし、これらの型(17m2161、17m2170、17m2171)は、全て同一の complex (17c222) に分類された。事例7、9の散発2株は、異なる型(17m2025、17m2069)に型別された(EH17-3、EH17-16)。

表2 O26 事例概要、MLVA法の解析結果

事例番号	菌株番号 (EH17- )	血清型	発生日	年齢	疫学情報		毒素型	MLVA (感染研)	
								MLVA型	MLVA complex
6	1	O26:H11	4月	50才代	保菌者	同一施設	VT1	17m2024	—
	2		5月	30才代					
7	3	O26:H11	6月	0~4才	患者(8と同一)		VT1	17m2025	—
8	8	O26:H11	6月	0~4才	患者(3と同一)	家族	VT1	17m2005	17c201
	9		7月	20才代	保菌者				
9	16	O26:H11	8月	0~4才	患者		VT1	17m2069	17c212
10	22	O26:H11	9月	0~4才	患者	同一施設	VT1	17m2161	17c222
	30			0~4才	保菌者				
	37			0~4才	保菌者				
	44			0~4才	保菌者				
	45			0~4才	保菌者				
	46			0~4才	保菌者				
	40			0~4才	保菌者				
	10月		28	60才代	保菌者	30の家族			
			29	30才代	保菌者				
			31	5~9才	患者				
			32	10才代	患者				
			38	80才代	保菌者				
			39	10才代	保菌者				
			41	20才代	保菌者			40の家族	
42	80才代	保菌者							
43	80才代	保菌者							

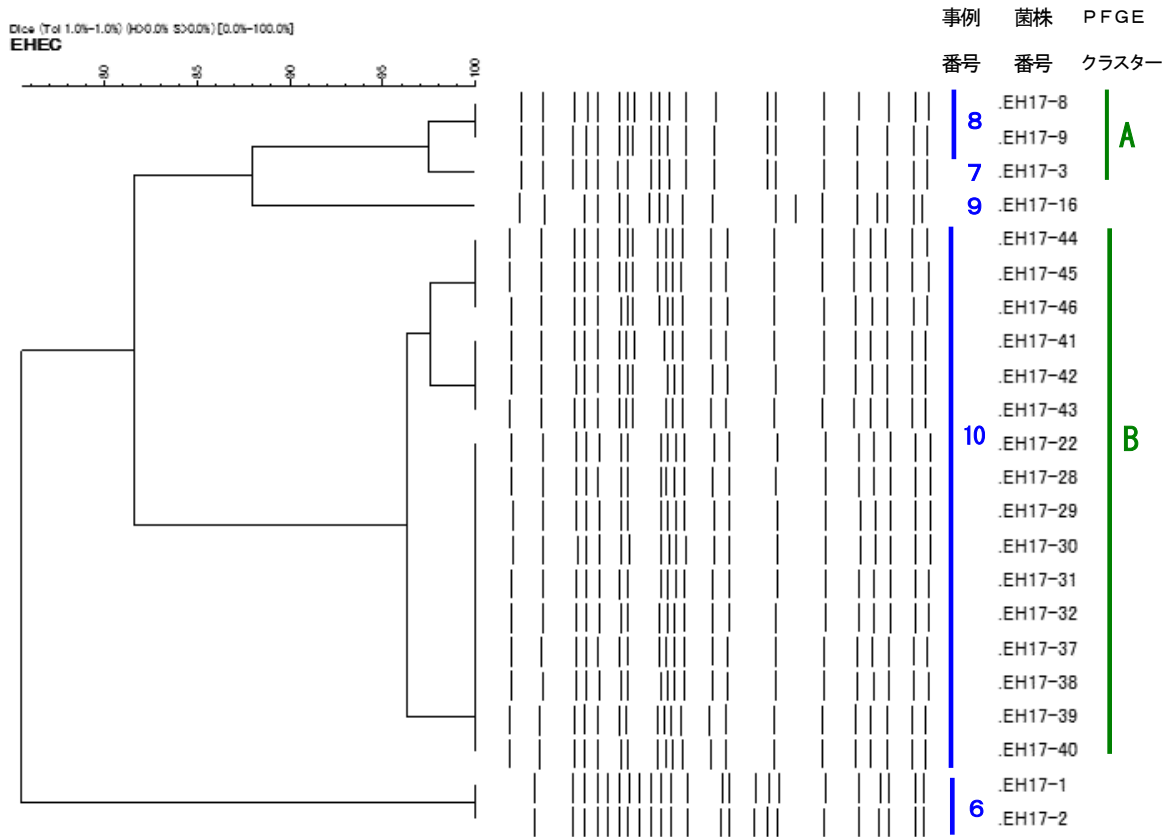


図2 O26 PFGE法の解析結果

3 O111の解析結果

事例概要を表3に示す。

(1) PFGE法の解析結果

PFGE解析結果を図3に示す。事例11~13の6株は、3つのバンドパターンに型別された。事例11の友人・家族内発生4株は、同一のバンドパターンであった(EH17-4~7)。事例12、13は散発だったが、同一のクラスタ【C】(類似度97.9%)に分類された(EH17-12、EH17-18)。

(2) MLVA法の解析結果

MLVA解析結果を表3に示す。事例11~13の6株は、3つのMLVA型に型別された。事例11の友人・家族内発生4株は、同じ型(16m3009)であった(EH17-4~7)。事例12、13の散発2株は、異なる型(17m3010、17m3022)に型別された(EH17-12、EH17-18)。

4 O91の解析結果

事例概要を表4に示す。

(1) PFGE法の解析結果

PFGE解析結果を図4に示す。事例14、15の散発2株は、異なるバンドパターンであった(EH17-36、EH17-47)。

(2) MLVA法の解析結果

MLVA解析結果を表4に示す。事例14、15の散発2株は、異なる型(17m8021、17m8024)に型別された(EH17-36、EH17-47)。

5 O146の解析結果

事例概要を表5、PFGE解析結果を図5に示す。事例16~18の散発、友人内発生4株は、全て同一のバンドパターンに型別された(EH17-10、EH17-11、EH17-14、15)。

6 O55の解析結果

事例概要を表6、PFGE解析結果を図6に示す。事例19の家族内発生2株は、同一のバンドパターンに型別された(EH17-33、34)。

7 O6の解析結果

事例概要を表7示す。PFGE解析結果は、比較するものがないためデータを蓄積した。

表3 O111 事例概要、MLVA法の解析結果

事例番号	菌株番号 (EH17- )	血清型	発生月	年齢	疫学情報		毒素型	MLVA (感染研)	
								MLVA型	MLVA complex
11	4	O111:H-	6月	5~9才	患者	友人・家族	VT1	16m3009	17c302
	5			0~4才	患者				
	6			0~4才	保菌者				
	7			0~4才	患者				
12	12	O111:H-	7月	20才代	患者	VT1	17m3010	—	
13	18	O111:H-	9月	0~4才	患者	VT1	17m3022	—	

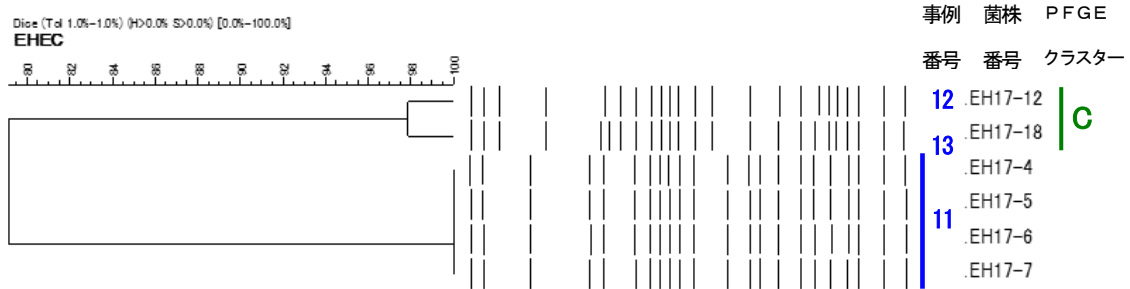


図3 O111 PFGE法の解析結果

表4 O91 事例概要、MLVA法の解析結果

事例番号	菌株番号 (EH17- )	血清型	発生月	年齢	疫学情報		毒素型	MLVA (感染研)	
								MLVA型	MLVA complex
14	36	O91:H-	10月	20才代	保菌者	VT1	17m8021	—	
15	47	O91:H-	11月	50才代	保菌者	VT1	17m8024	—	

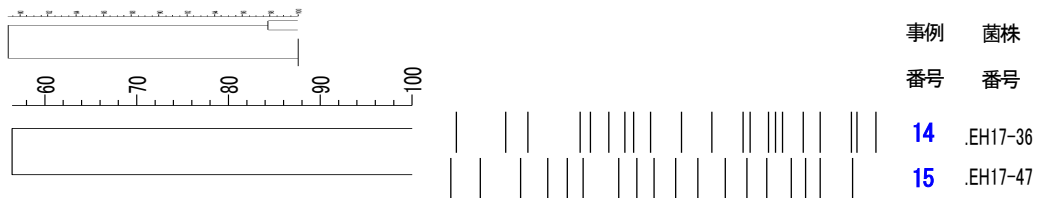


図4 O91 PFGE法の解析結果

表5 O146 事例概要

事例番号	菌株番号 (EH17- )	血清型	発生日	年齢	疫学情報		毒素型
16	10	O146:H21	7月	20才代	保菌者		VT1
17	11	O146:H21	7月	50才代	保菌者		VT1
18	14	O146:H21	8月	20才代	患者	友人	VT1
	15			20才代	保菌者		

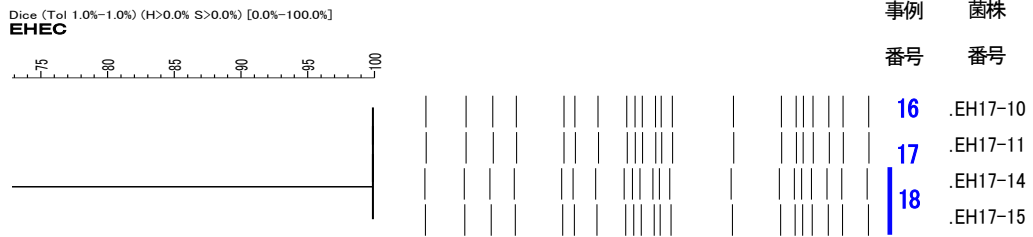


図5 O146 PFGE法の解析結果

表6 O55 事例概要

事例番号	菌株番号 (EH17- )	血清型	発生日	年齢	疫学情報		毒素型
19	33	O55:H12	10月	40才代	保菌者	家族	VT1
	34			5~9才	保菌者		

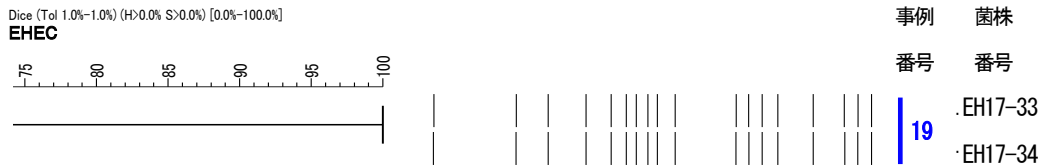


図6 O55 PFGE法の解析結果

表7 O6 事例概要

事例番号	菌株番号 (EH17- )	血清型	発生日	年齢	疫学情報	毒素型
20	35	O6:H34	10月	60才代	保菌者	VT2

## IV 考察

### 1 O157

事例4については、家族内発生でありPFGEのバンドパターン、ISコード、MLVA型が全て一致していることから、同一感染源の家族間で感染したものと推定される。事例5も家族内発生であり、PFGEのバンドパターンとISコードが一致し、同一のMLVA complexに分類されているため、同一感染源の家族間で感染したものと推定される。

2017年8月に、関東地方を中心にO157 (VT2) による食中毒が多発した<sup>4)</sup>。MLVA法による分子疫学解析の結果、ほとんどの株が同一MLVA型 (17m0121) 又は同一MLVA complex (17c013) に分類された<sup>3)</sup>。感染研では、2014年シーズンからO157、O26およびO111についてMLVA法による分子疫学サーベイランスを行っているが、17c013は2014年以後で最大の complexであった。

事例1は、この complex (17c013) に分類された。発生日も8月で同時期であるので、関連性を確認するため聞き取り調査を行った。しかし、疫学情報に共通事項はみられず、関連性は不明であった。

MLVA法は、分解能、迅速性に優れている。また、結果を各部位のリポート数として表すことが可能であるので、他の機関との比較がしやすいという利点がある。事例間の関連性や広域性の有無などを迅速に把握するためにも、有用な解析法である。

### 2 O26

事例6については、2名とも無症状で、定期検診で発見された。同一施設であり、PFGEのバンドパターンとMLVA型が一致していることから、同一感染源により、施設内で感染したものと推定される。また、事例8についても、家族内発生でありPFGEのバンドパターンとMLVA型が一致していることから、同一感染源と推定され、家族間で感染したものと考えられる。事例7のEH17-3と事例8のEH17-8は同一人物である。一度治癒し陰性になったが、再度感染している。PFGEのバンドパターンが同一クラスターに分類されているので、同一感染源と考えられたが、MLVA型が異なっており、同一の complexにも分類されていないため、別の感染源の可能性も考えられる。現時点では、感染源の特定には至っていない。

事例10の集団発生については、PFGEのバンドパターンが3つに型別されたが、全て同一のクラスターに分類されている。またMLVA型も3つに型別されたが、同一の

MLVA complexに分類されている。これより、密接に係っていると解釈でき、同一感染源と推定される。この事例は、施設内(保育所)で感染したあと、家族間で感染したものと考えられる。全国でも、保育所での集団発生は毎年発生している<sup>5, 6, 7, 8, 9)</sup>。乳幼児は免疫力が弱いいため感染しやすく、また、集団生活により感染を起こしやすい状況にある。施設内感染を起こし、そして家族に感染が拡大し、集団発生に繋がってゆく。まず施設内での感染を防止するため、十分な衛生管理等について啓発が必要である。

### 3 O111

事例11については、友人・家族内発生でありPFGEのバンドパターンとMLVA型が全て一致していることから、同一感染源で感染したものと推定される。事例12、13の散発は、PFGEのバンドパターンが同一のクラスターに分類されている。しかし、MLVA型が異なっており、同一の complexにも分類されていないため、感染源が同じとは考えにくい。

### 4 O146

事例16～18で、PFGEのバンドパターンが全て一致している。事例18については、友人内発生であり、同一感染源で感染したものと推定される。しかし、事例16と17は散発である。2名とも無症状で、定期検診で発見されている。聞き取り調査では、疫学情報に共通事項が見られず、関連性は不明であった。

O146は2013年以降、全国的に分離株の増加が認められ、PFGEの解析結果から近縁と推測される株が、近年広域で流行していることが示唆されるという報告がある<sup>10)</sup>。香川県でも、動向を注視する必要がある。

### 5 O55

事例19は、家族内発生でありPFGEのバンドパターンが一致しているため、同一感染源で感染したものと推定される。

## V まとめ

1 O157の家族内発生において、PFGEのバンドパターンとISコードが全て一致し、同一MLVA型又は同一MLVA complexに分類されたため、同一感染源と推定された。

2 O26、O111の同一施設、家族・友人内発生において、PFGEのバンドパターンが一致、又は同一クラスターに分類されたこと、同一MLVA型、又は同一MLVA

complexに分類されたことにより、同一感染源と推定された。

- 3 O146、O55の家族・友人内発生において、PFGEのバンドパターンが一致したため、同一感染源と推定された。
- 4 今回の分子疫学解析の結果では、PFGE法で関連性が疑われても、MLVA法で関連性が見られない事例があった。また、疫学情報に共通事項が見られない事例もあった。関連性を特定する時は、分子疫学解析の結果や聞き取り調査などの疫学情報も照らし合わせて、総合的に判断することが重要である。

## 文献

- 1) 国立感染症研究所細菌第一部 主任研究者 寺嶋淳：食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に関する研究 平成17年度総括・分担研究報告書及び平成15～17年度総括・総合研究報告書, 168 - 185, 2005
- 2) 国立感染症研究所細菌第一部 石原朋子, 泉谷秀昌 伊豫田淳, 大西真：腸管出血性大腸菌の分子型別, 病原微生物検出情報, **35**(5), 129-130, 2014
- 3) 国立感染症研究所細菌第一部 泉谷秀昌, 李謙一, 伊豫田淳, 大西真：2017年に分離された腸管出血性大腸菌のMLVA法による解析, 病原微生物検出情報, **39**(5), 81-82, 2018
- 4) 厚生労働省医薬・生活衛生局 食品監視安全課食中毒被害情報管理室 岡崎隆之：2017（平成29）年に関東地方を中心に広域的に発生した、同一遺伝子型

の腸管出血性大腸菌感染症・食中毒事案のとりまとめおよび課題に対する具体的な対応, 病原微生物検出情報, **39**(5), 74-77, 2018

- 5) 長野県諏訪保健福祉事務所 白井祐二, 国立感染症研究所 神谷元 他：保育園で発生した腸管出血性大腸菌O26とO157の集団感染事例—長野県, 病原微生物検出情報, **39**(5), 78-79, 2018
- 6) 神奈川県平塚保健福祉事務所秦野センター 三橋康之, 神奈川県衛生研究所 片山丘 他：保育施設における腸管出血性大腸菌O26:H11による集団感染事例—神奈川県, 病原微生物検出情報, **39**(5), 79-81, 2018
- 7) 長崎県県南保健所 市川ひとみ, 長崎県医療政策課 竹野大志 他：保育施設における腸管出血性大腸菌O26の集団感染事例—長崎県, 病原微生物検出情報, **38**(5), 99-100, 2017
- 8) 大阪府寝屋川保健所 坂上和弘, 大阪府茨木保健所 検査課 地村由美, 大阪府公衆衛生研究所 勢戸和子 他：保育園における腸管出血性大腸菌O26:H11の集団感染事例—大阪府, 病原微生物検出情報, **37**(5), 92-93, 2016
- 9) 大津市保健所 清本三紀 他：同一保育園における腸管出血性大腸菌O145の2度の集団感染事例—大津市, 病原微生物検出情報, **36**(5), 81-83, 2015
- 10) 国立感染症研究所細菌第一部 石原朋子, 伊豫田淳, 泉谷秀昌, 大西真：PFGEによるO157, O26, O111以外の腸管出血性大腸菌における広域感染事例の解析, 病原微生物検出情報, **37**(5), 95-97, 2016