広島県立総合技術研究所保健環境センター研究報告，No. 16，p11－15，2008

資　料

広島県内で分離された腸管出血性大腸菌の疫学的検討（1999 ～ 2007 年）

大原 祥子，竹田 義弘，桑山 勝，妹尾 正登

Epidemiologic Analysis of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* Isolates in Hiroshima Prefecture from 1999 to 2007

SACHIKO OOHARA, YOSHIHIRO TAKEDA, MASARU KUWAYAMA and MASATO SENO

(Received Dec. 10, 2008)

1999 年から 2007 年までに，広島県内（広島市を除く）で届出のあった腸管出血性大腸菌感染者 895 人の発生状況を調査した．また，そのうち菌株収集された 637 株の血清型およびベロ毒素型について検査し疫学的検討を行った．

その結果，届出報告数は O26：H11 による集団食中毒事例が発生した 1999 年が最も多く，その後減少したが，再び増加傾向にあった．患者の発生は，毎年，夏季にピークが見られた．しかし，近年においては 11 月または 12 月にも患者の発生ピークが見られた．血清型は 10 種類が検出され，累積検出数としては，O157：H7（49.3%），O26：H11（37.4%），O111：H－（4.2%）の順に多く検出された．また，ベロ毒素型の累積検出率は，VT1 型が 43.6%と最も多く，次いで VT1 および VT2 型が 35.0%，VT2 単独型は 21.4%であった．いずれの年も血清型 O157 では，VT1 および VT2 の両毒素型が主体であり，VT1 単独型はほとんど検出されなかった．

腸管出血性大腸菌感染症の発生状況の現状把握や，遺伝子学的手法による感染源や感染経路の推察に必要な菌株の収集を今後も継続し，疫学的解析を加えていくことが重要であると考えられた．

キーワード：腸管出血性大腸菌（EHEC），血清型，ベロ毒素（VT），疫学的検討

はじめに

腸管出血性大腸菌（Enterohemorrhagic *E. coli*；EHEC）は，1982 年に米国で発生したハンバーガーが原因の食中毒事件で，大腸菌 O157：H7 がその原因菌として初めて分離され注目された[1][2]．わが国では，水溶性血性下痢を発症した男児の保存検体の再調査により，*E. coli* O157：H7 が分離され，最初の症例として 1985 年に報告された[3]．その後，1990 年に埼玉県浦和市の幼稚園で O157：H7 に汚染された井戸水を感染源とした集団下痢症の感染事例が発生し，溶血性尿毒症症候群（HUS）により 2 人の園児が死亡したことから[4]，改めて EHEC 感染症が注目された．また，1996 年には大阪府堺市の小学校において，これまでにない大規模な O157 集団感染事例が発生し[5]，さらに全国的にも集団または散発事例が相次いで報告され，大きな社会問題となった．本県においても，1996 年 6 月に比婆郡東城町（現：庄原市東城町）の小学校で 185 人の EHEC O157 集団感染事例が発生した[6]．その後も EHEC による集団および散発感染事例が毎年発生しており，その感染防止対策を一歩推し進めるためには EHEC 感染症の発生状況の特徴を明らかにする必要がある．

今回，1999 年から 2007 年までの県内における患者の発生状況および分離菌株の性状について疫学的検討を加えたので報告する．

対象および方法

1　対象

1999 年から 2007 年に広島県内（広島市を除く）において「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」（感染症法）に基づいて届出のあった EHEC 感染者 895 人の発生状況を調査した．そのうち，菌株収集された EHEC 637 株を各種検査に供試した．なお，比較を行うための全国感染者数のデータは，国立感染症研究所感染症情報センターのデータを用いた[7][8]．

2　大腸菌の同定試験

供試菌株は，DHL 寒天培地で再分離した後，定法に従って大腸菌を同定した．

3　血清型別

O 抗原型および H 抗原型試験は，病原大腸菌免疫血

清「生研」（デンカ生研）を用いて，実施した．

４　ベロ毒素試験

ベロ毒素（Vero toxin；VT）産生性試験と VT 遺伝子の検出を行った．VT 産生性試験については，VTEC-RPLA「生研」（デンカ生研）を用いて，逆受身ラテックス凝集反応を実施し，VT 遺伝子の検出については，PCR 法を実施した．VT1，VT2 遺伝子の検出にはそれぞれ，EVT-1/2，EVS-1/2（TaKaRa）のプライマーを用いた．なお，PCR 反応条件については，使用説明書に従った．

結　　果

１　EHEC 感染者の年次推移

県内と全国の EHEC 感染者数（EHEC 感染症患者および無症状病原体保有者を含む．）を年次別に図１に示した．

県内の最も感染者数が多かった年は 1999 年で，182 人の届出があった．その後，感染者数は 2003 年の 52 人まで減少したが，2004 年から再び増加傾向が見られた．

２　月別発生状況

EHEC 感染者の月別の発生状況を表１に示した．感染者数は，毎年，５月頃から増加し８月にかけて発生のピークが見られた．一方，2006 年の 12 月と 2007 年の 11 月には，夏季の流行と同様の発生がみられた．

３　血清型の年次推移

供試菌株の主要血清型別比率の年次推移を図２に示した．最も多く検出された血清型は，O157：H7（314 株：49.3％）であった．次いで O26：H11（238 株：37.4%），

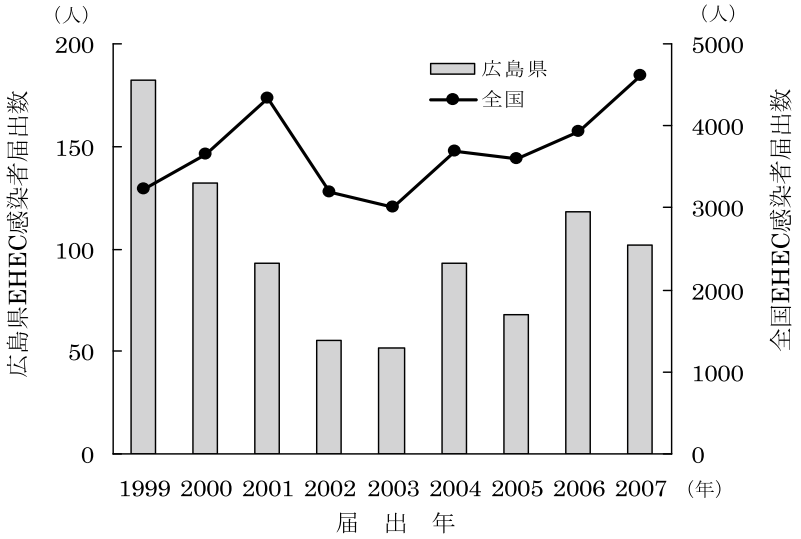

図１　EHEC 感染者の年別届出数

表１　EHEC 感染者の月別届出状況

年	届出月												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	合計
1999	0※	0	0	1	4	40	23	12	9	7	16	1	182
2000	0	0	1	1	9	20	23	38	12	12	5	11	132
2001	6	2	6	2	8	10	15	26	8	5	0	5	93
2002	1	1	0	6	5	9	7	9	5	5	2	5	55
2003	0	0	1	0	3	1	10	9	3	20	3	2	52
2004	0	0	1	3	14	7	9	33	10	12	2	2	93
2005	0	0	0	0	8	5	14	14	10	12	0	5	68
2006	0	4	1	1	13	10	14	22	18	11	2	22	118
2007	3	14	1	1	5	9	12	18	7	6	24	2	102
平均	1	2	1	2	8	20	14	20	9	10	6	6	99

※：届出患者数

O111：H－（27株：4.2%）が多かった．その他の血清型では，O145：H－（25株：3.9%），O157：H－（18株：2.8%），O26：H－（9株：1.4%），O103：H2（3株），O119：H－（1株），O121：H19（1株），O124：H19（1株）が認められた．年別では，O157：H7は，2001年と2003年から2007年にかけて50%以上を占めた．O26：H11は1999年と2002年に最も多く検出され，特に1999年には85.2%を占めた．また2000年にはO 111：H－（26.4%）が，2007年には，O145：H－（28.4%）が高い割合を占めた．

4　ベロ毒素型の年次推移

供試菌株のベロ毒素型の年次推移を図3に示した．1999年，2000年および2002年は，VT1単独産生型（VT1型）がそれぞれ78.4%，47.3%，60.5%と最も高い割合を占めた．VT2単独産生型（VT2型）は2007年に42.0%と最も高い検出率を示した．その他の年では，VT1およびVT2両毒素産生型（VT1＋VT2型）が多く検出された（37.5%～55.6%）．ベロ毒素型別による累積株数は，VT1型が278株（43.6%），VT1＋VT2型は223株（35.0%），VT2型は136株（21.4%）の順であった．

5　O157ベロ毒素型年次推移

供試菌株のうちO157 332株のベロ毒素型を年次別に図4に示した．

2007年は，VT2型が最も多く検出され，その検出率

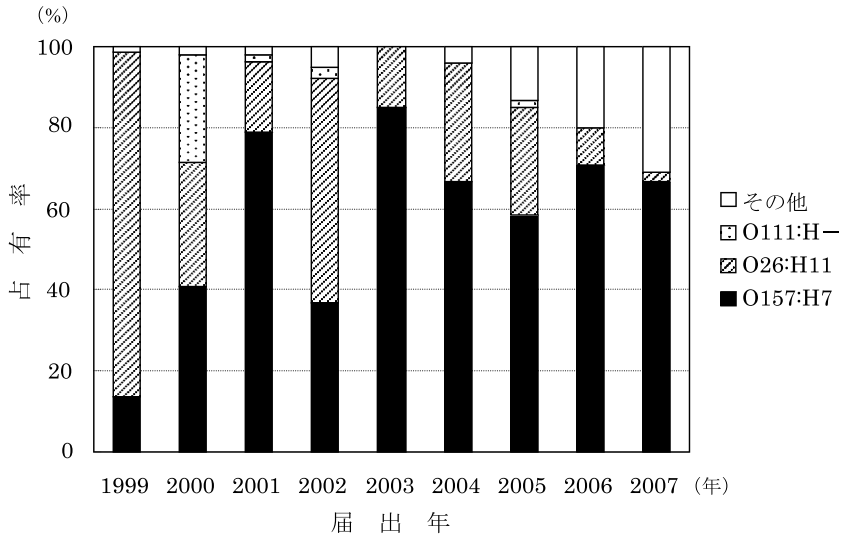

図2　EHEC血清型の年別検出状況

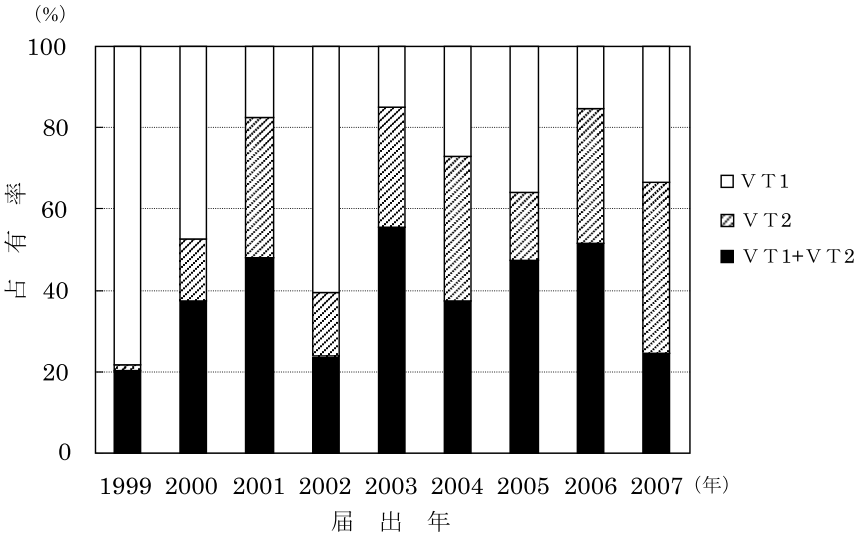

図3　EHEC毒素型の年別検出状況

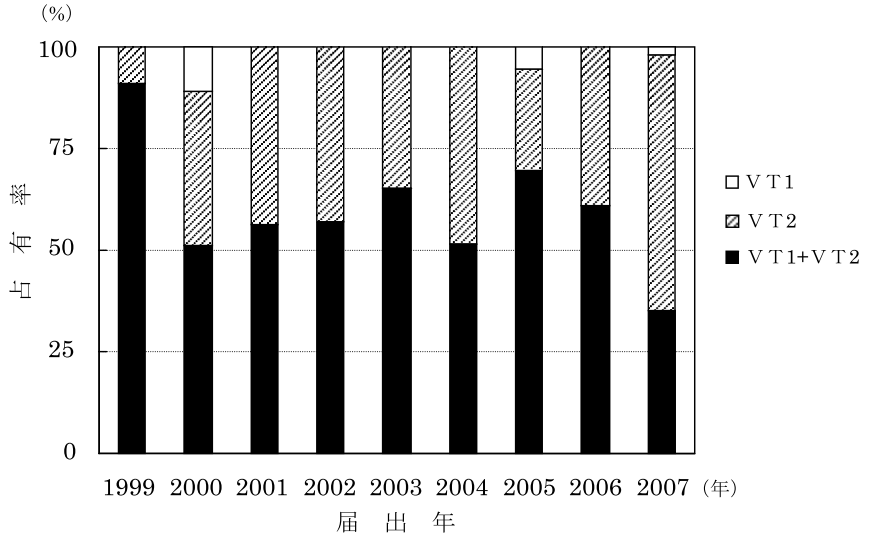

図４　O157 毒素型の年別検出状況

は 63.0%であった．その他の年は，VT1＋VT2 型が最も多く検出された（51.4%～ 91.0%）．VT1 型は，2000 年（10.8%），2005 年（5.6%）および 2007 年（1.9%）の検体からのみ検出された．

考　　察

EHEC 感染症は，腹痛，下痢，出血性大腸炎を引き起こし，人から人への感染を起こすことがある．また，時として溶血性尿毒症症候群（HUS）を発症し重症になることがある[9]．そのため，1999 年 4 月に施行された感染症法では，全数把握の 3 類感染症として位置付けられ，全国の EHEC 感染者が報告されている[7][8]．それによると，全国では，2001 年に関東地方を中心とした，EHEC O157 による集団食中毒事例が発生したことから[10][11]，EHEC 感染者数が 4,000 人を上回ったものの，その後は 3,000 ～ 4,000 人で推移している．しかし，近年若干の増加傾向が見られている（図１）．

本県では，1999 年に福山市の保育所の園児，職員，およびそれらの家族において EHEC O26：H11 の大規模な集団発生が起こり[12]，同年の感染者数は最多の 182 人が報告された．その後は 2003 年に約 50 人まで減少したが，翌年の 2004 年からは全国と同様に再び増加傾向がみられ，2006 年以降は 100 人台まで増加しており，今後の EHEC 感染症の発生に留意しておく必要がある．

EHEC 感染の好発時期は，1999 年 6 月に発生した EHEC O26 による集団事例を除いて，ほぼ毎年気温の高い 8 月が多く，全国の傾向と同様であった[8]．しかし，2006 年 12 月と 2007 年 11 月には夏季と同様の発生ピークがみられたことから，今後は気温の下がる季節においても発生動向に注意が必要でことが示唆された．

EHEC 株の血清型は，米国などにおいて O157 が主座を占める傾向にあるが[13][14]，国内調査でも O157：H7 が最も多く，次いで O26：H11，O111：H －が多く検出されている[8]．本県でも，O26：H11 による集団発生事例のあった 1999 年と 2002 年を除き O157：H7 が最も多い傾向を示した（図２）．

EHEC 株のベロ毒素型は，VT1 型が最も多く，次いで VT1＋VT2 型，VT2 型の順であった（図３）．しかし，EHEC 全体の過半数を占める O157 のみのベロ毒素型をみると VT1+VT2 型が優位に検出され，VT1 型のみの検出はいずれの年においても極めて少ないことが特徴として注目された（図 4）．このことは，全国的な調査においても同様な傾向が見られている[8]．また，VT2 型は 2007 年に，多数を占め増加傾向を示した．国によっては VT2 型が多いことが示されており[15]，今後のベロ毒素型の検出動向が注目される．

今回の調査で県内の EHEC 感染症は，10 種類の血清型の EHEC によることが判明した．全国ではさらに多様な血清型が検出されており，その中に現在の市販抗血清では型別できない血清型があることが指摘されている[16]．そのため，分離株の血清型が型別できない場合においても，EHEC 感染が疑われるときには，分離株のベロ毒素産生性を確認することが極めて重要である．

また，集団感染事例や diffuse outbreak が疑われる散発感染事例の感染源や感染経路を推察するためには，速やかにパルスフィールドゲル電気泳動法による分子疫学的解析を実施する必要がある[17]．さらに，近年，薬剤耐性 EHEC の出現が懸念されていること[18][19]を併せ考えると，詳細な疫学的検討を加えるために今後とも

EHEC 分離株の収集を継続する必要があると考えられる．

文　　献

［1］Riley, L. W., Remis, R. S., Helgerson, S. D., McGee, H. B., Wells, J. G., Davis, B. R., *et al.*（1983）：Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. N. Engl. J. Med., 308, 681-685.

［2］Wells, J. G., Davis, B. R., Wachsmuth, I. K., Riley, L. W., Remis, R. S., Sokolow, R., *et al.*（1983）：Laboratory investigation of Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype. J. Clin. Microbiol., 18, 512-520.

［3］小林一寛, 原田七寛, 中務光人, 神野逸郎, 石井経康, 下辻常介，他（1985）：*Escherichia coli* O157：H7 による出血性大腸炎の“さかのぼり”調査，感染症誌，59，1056-1060.

［4］Hamano S., Nakanishi Y., Nara T., Seki T., Ohtani T., Oishi T., *et al.*（1993）：Neurological manifestations of Hemorrhagic colitis in the outbreak of *Escherichia coli* O157：H7 infection in Japan. Acta Paediatr., 82, 454-458.

［5］Michino H., Araki K., Minami S., Takaya S., Sakai N., Miyazaki M., *et al.*（1999）：Massive outbreak of *Escherichia coli* O157：H7 infection in schoolchildren in Sakai City, Japan, associated with consumption of white radish sprouts. Am. J. Epidemiol., 150, 787-796.

［6］国立感染症研究所感染症情報センター（1996）：速報 腸管出血性大腸菌 O157：H7 の集団発生 1996. 病原微生物検出情報，17，180-181.

［7］国立感染症研究所感染症情報センター（2000）：特集 腸管出血性大腸菌感染症 2008 年 3 月現在．病原微生物検出情報，21，92-93.

［8］国立感染症研究所感染症情報センター（2008）：特集 腸管出血性大腸菌感染症 2008 年 4 月現在．病原微生物検出情報，29，117-118.

［9］Veweyen, H. M., Karch, H., Brandis, M., Zimmerhackl, L. B.（2000）：Enterohemorrhagic *Escherichia coli* infections：following transmission routes. Pediatr. Nephrol., 14（1）, 73-83.

［10］Yamamoto, J., Ishikawa, A., Miyamoto, M., Nomura. T., Uchimura, M., Koiwai, K.（2001）：Outbreak of Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157 Mass Infection Caused by“Whole Roasted Cow”. Jpn. J. Infect. Dis., 54, 14-15.

［11］尾関由姫恵，倉園貴至，斎藤章暢，岸本剛，山口正則（2003）：市販和風キムチに起因する腸管出血性大腸菌 O157：H7 Diffuse Outbreak 事例．感染症誌，77，493-498.

［12］高口仁弘，有田美知子，山本耕一郎，吉井健哲，井上幸生（2001）：福山市における腸管出血性大腸菌 O26 による集団事例の分子遺伝学的解析．日細会誌，56，325.

［13］Manning, S. D., Madera, R. T., Schneider, W., Dietrich, S. E., Khalife, W., Brown, W., Whittam, T. S., Somsel, P., Rudrik, J. T.（2007）：Surveillance for Shiga toxin-producing *Escherichia coli*, Michigan, 2001-2005. Emerg. Infect. Dis., 13(2), 318-321.

［14］Leotta, G. A., Miliwebsky, E. S., Chinen, I., Espinosa, E. M., Azzopardi K., Tennant, S. M., Robins-Browne, R. M., Rivas, M.（2008）：Characterisation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157 strains isolated from humans in Argentina, Australia and New Zealand. BMC Microbiol., 8, 46.

［15］Rivas, M., Sosa-Estani, S., Rangel, J., Caletti, M. G., Vallés, P., Roldán, C. D., Balbi, L., Marsano, de Mollar, M. C., Amoedo, D., Miliwebsky E., Chinen, I., Hoekstra, R. M., Mead, P., Griffin, P. M.（2008）：Risk factors for sporadic Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infections in children, Argentina. Emerg. Infect. Dis., 14(5), 763-771.

［16］伊豫田 淳，田村和満，渡辺治雄（2004）：市販血清では同定できない腸管出血性大腸菌の分離状況（2000 年～ 2003 年）．病原微生物検出情報，25，141-143.

［17］Izumiya, H., Terajima, J., Wada, A., Inagaki, Y., Itoh, K. I., Tamura, K., Watanabe, H.（1997）：Molecular typing of enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157：H7 isolates in Japan by using pulsed-field gel electrophoresis. J. Clin. Microbiol., 1675-1680.

［18］Ahmed, A. M., Kawamoto, H., Inouye, K., Hashiwata, Y., Sakaki, M., Seno, M., Shimamoto, T.（2005）：Genomic analysis of a multidrug-resistant strain of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* O157：H7 causing a family outbreak in Japan. J. Med. Microbiol., 54, 867-872.

［19］Ram, S., Vajpayee, P., Shanker, R.（2008）：Contamination of Potable Water Distribution Systems by Multiantimicrobial-Resistant Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. Environ. Health Perspect., 116(4), 448-452.