

感染症発生動向調査における細菌検査概要(2013 年度)

右田 雄二、西村 隼人、石原 雅行、飯田 國洋*、江原 裕子*、吾郷 昌信

Summary of Epidemiological Surveillance of Bacterial Infectious Diseases in Nagasaki Prefecture (2013)

Yuji MIGITA, Hayato NISHIMURA, Masayuki ISHIHARA, Kunihiro IIDA, Yuko EHARA and
Masanobu AGOH

Key words: Infectious disease surveillance, EHEC, PFGE, IS-printing system

キーワード: サーベイランス、腸管出血性大腸菌、パルスフィールドゲル電気泳動、IS-printing 法

はじめに

厚生労働省より通知される「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」の一部が平成 18 年改正、平成 19 年 4 月 1 日施行により、コレラ、細菌性赤痢、腸チフス、及びパラチフスは腸管出血性大腸菌 (enterohemorrhagic *Escherichia coli*, EHEC) と同じ三類感染症に変更され、保健所および当センターでは感染拡大防止のため、継続した疫学調査および細菌検査を実施している。

本報告は 2013 年度に長崎県内で発生した三類感染症の概要と分子疫学解析結果を取りまとめたものである。

調査方法

三類感染症の発生状況: 長崎市および佐世保市の保健所、長崎県医療政策課 (県立保健所発生届け分) より 2013 年度に報告された三類感染症について、取りまとめた。県立保健所および佐世保市保健所から入手した EHEC については、生化学性状試験、Vero 毒素型別試験 [PCR 法 (Polymerase Chain Reaction) もしくは RPLA 法 (Reversed Passive Latex Agglutination)] および血清型を確認後、感染研に郵送した。

EHEC の分子疫学解析: 制限酵素 *Xba* 処理後のパルスフィールドゲル電気泳動 (Pulsed-field Gel Electrophoresis, PFGE) 法による制限酵素断片長多型 (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP) 解析は感染研で実施され、解析結果の情報還元を受けた。IS-printing 法 (Insertion sequences printing system, ISPS) による型別は IS-printing

system ver.2 (東洋紡績株式会社) を用いて当センターで実施した。この型別法は、大岡ら¹⁾ の O157 菌株間のゲノム構造多型に大きく関与している挿入配列の分布の違いに基づいて開発されたサブタイピング法である。O157 供試菌株の ISPS 試験結果を福岡県保健環境研究所で開発された IS-printing Analyzer O157 ver. 2.1. 解析ソフトに入力後、NJ (neighbor-joining) 法で系統樹解析 (図 1) を行い、NJplot: <http://pbil.univ-lyon1.fr/software/njplot.html> を用いて描画した。長崎市保健所管内発生分については長崎市保健環境試験所から情報を入手した。

結果および考察

2013 年度の三類感染症の発生状況: 長崎県内の三類感染症の発生状況を管轄保健所ごとにみると、長崎市 9 事例、県南 7 事例、県央 5 事例、壱岐 4 事例、佐世保市は 3 事例、県北 2 事例および西彼 1 事例の計 31 事例であった。菌種ごとでは、EHEC が 30 事例 (84 件) および *Salmonella* Typhi が 1 事例 (1 件) であった。EHEC O 血清型の内訳は、O157 が 44 件、O26 が 26 件、O103 が 3 件、O111、O145 および O146 がそれぞれ 2 件、O91、O121 および型別不可がそれぞれ 1 件であった (表 1)。今年度は、例年と比べ事例数が多く、多様な血清型が検出された。

EHEC の PFGE 法による RFLP 解析: Tenover ら²⁾ の基準では PFGE 法で 3 箇所バンドの違いまで「極めて関連あり」、6 箇所違いまで「関連の可能性

あり」と評価される。疫学調査で同一時期の感染と考えられた家族およびその接触者の同じ血清型の RFLP 型別(表1)は事例 No.2、5、8、11、19、23、26、27、28、および 30 は 3 箇所以内までのバンド違い (No.23 は 1 株のみ 4 箇所違い)で一致し、関連性が示された。一方、散発事例として扱われた No.21 は No.23 のうちの 2 株と、No.24 は No.29 とそれぞれ同じ RFLP 型を示し、これらの事例は発生時期も近かったことから、同じ菌株由来の事件である可能性が示唆された。No.8、19 および 30 の集団発生 3 事例はいずれも保育所において発生した。その中で、No.19 は、同じ保育所において同じ RFLP 型と証明されたことから O26 続発事例と考えられた事例である。即ち、10 月に発生した O26 が一旦終息した後、12 月に再発した事例³⁾であることが分離株の疫学解析により証明された。

O157 の ISPS 法による解析: O157 供試菌株の ISPS 試験結果を福岡県保健環境研究所の方法により図 1 に描画し、RFLP 型別の事例番号を併記した。PFGE 法において RFLP 型が完全一致した事例のうち、ISPS パターンが完全一致した事例は 3 事例 (No.2、5 および 30)、1~3 箇所違いが 3 事例 (No.11、27 および 28)であった。また、No.23 のうち 1 株は PFGE 法で 4 箇所異なっていたが、本法では他の 2 株および No.21 と完全に一致し、同じ由来の可能性のある株と考えられた。一方、散発 2 事例 (No.4 および 16) では、PFGE 法で 6 箇所違いであったことと発生地域および発症時期も離れていたことから Diffuse outbreak と判断するには至らなかったが、同じ ISPS パターンを示していたことから関連性が示唆された。保育園で発生した O26 続発事例 (No.19) で同時検出された O157 については、RFLP 型で 3 箇所違い、ISPS 法では locus 16 (Sp 13 prophage) に欠失を認めたと、系統樹解析では同じクラスターに属し、関連株と推察された。

これらの結果から、ISPS 法は PFGE 法による RFLP 解析より解像度はやや劣るが、遜色ない菌株識別能を有していることが示された。今後も食中毒および感染症の効率の良い原因究明対策に ISPS 法も活用していく予定である。

謝 辞

本稿を草するにあたり情報を提供いただいた長崎市、佐世保市、長崎県立各保健所および長崎市保

健環境試験所の担当者、並びに長崎県医療政策課感染症対策班の関係各位に感謝する。また、腸管出血性大腸菌の PFGE 解析結果の記載を了承いただいた国立感染症研究所 細菌第一部 泉谷秀昌 博士に深謝する。

参 考 文 献

- 1) Ooka T., *et al*: Development of a multiplex PCR-based rapid typing method for enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 strains., *J. Clin. Microbiol.*, **47**, 2888-2894 (2009)
- 2) Tenover F. C., *et al*: Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing, *J. Clin. Microbiol.*, **33**, 2233-2239 (1995)
- 3) 石原ら: 病原体解析手法の高度化による効率的な食品由来感染症探知システムの構築に関する研究 泉谷秀昌, 平成 25 年度総括・分担研究報告書, 182-183 (2014)
- 4) 堀川ら: 広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究 寺嶋淳, 平成 20 年度総括・分担研究報告書, 167-177 (2009)

表1 長崎県内の三類感染症発生状況および分離菌の性状〔2013(H25)年度〕

事例 No.	管轄 HC	発生地	発症年月日	診断年月日	患者		菌種	血清型	毒素型等	菌株No.	国立感染症研究所 PFGE, ファージ型		
					年齢	性別					解析コメント ()内は菌株No.	O157 型No.	O26 型No.
1	県南	島原市	2013/4/25	2013/5/7	1	M	EHEC	O111:H-	VT1	914			
2	長崎市	長崎市	-	2013/5/16	47	M	EHEC	O157:H7	VT2	25-1	same as 810 (25-1)	i33	i33
				2013/5/17	23	M		O157:H7		25-2			
3	県南	島原市	2013/5/24	2013/6/3	17	F	EHEC	O121:H19	VT2	915			
4	西彼	西彼杵郡	2013/5/30	2013/6/4	69	M	EHEC	O157:H-	VT1+2	916	same as 111186		d594
5	壱岐	壱岐市	2013/6/25	2013/6/28	54	F	EHEC	O157:H7	VT1+2	917	same as 1701 (917) same as 1701 (917)	i276	i276
			2013/6/25	2013/7/2	53	M				918			
			-	2013/7/2	24	F				919			
6	長崎市	長崎市	2013/7/5	2013/7/10	15	M	EHEC	O157:H7	VT2	25-8			i406
7	県央	諫早市	2013/7/3	2013/7/8	2	F	EHEC	O26:H?		-			i87
			2013/7/8	2013/7/11	1	F		O26:HUT		920			
8	壱岐	壱岐市	2013/7/24	2013/7/27	2	M	EHEC	O26:H11	VT1	921	one band differ. from 1706 (921) same as 1706 (921) same as 1706 (921) same as 1707 (923) same as 1706 (921) two bands differ. from 1706 (921)	i88	i89
			2013/7/23	2013/7/30	2	M		O26:H11	922				
			2013/7/21	2013/7/30	2	M		O26:H11	923				
			-	2013/7/30	2	F		O26:H11	924				
			-	2013/7/30	2	F		O26:H11	925				
			-	2013/7/30	80	M		O26:H11	926				
			2013/7/24	2013/8/2	1	F		O26:H11	927				
2013/7/31	2013/8/2	2	M	O26:H11	928								
9	県南	島原市	2013/7/26	2013/8/1	8	F	EHEC	O157:H7	VT2	922			i299
10	県央	大村市	2013/8/6	2013/8/11	28	M	EHEC	O145:H-	VT2	935			
11	佐世保市	佐世保市	2013/8/12	2013/8/14	23	F	EHEC	O157:H7	VT1+2	958	three bands differ. from 61 (958)	d483	i675
			2013/8/16	2013/8/21	19	F		O157:H7	VT1+2	959			
12	長崎市	長崎市	2013/8/13	2013/8/16	17	F	EHEC	O145:H-	VT1+2	25-10			
13	県央	大村市	-	2013/8/30	27	F	EHEC	O91:H?	VT1	-			
14	長崎市	長崎市	2013/8/28	2013/9/4	22	M	S.typhi	O9[V]:d:-		25-20	ファージ型 D2		
15	長崎市	長崎市	2013/9/10	2013/9/30	28	M	EHEC	O157:H-	VT2	25-21			h498
16	県南	島原市	2013/9/25	2013/10/2	5	F	EHEC	O157:H-	VT1+2	936	six bands differ. from 833 (916)		d761
17	県南	島原市	2013/10/6	2013/10/11	11	F	EHEC	O157:H7	VT1+2	937			i678
18	佐世保市	佐世保市	2013/10/10	2013/10/15	8	F	EHEC	O157:H?	VT1+2	-			i677
			2013/10/11	2013/10/16	87	F		O157:H7	VT1+2	961			
19	県南	南島原市	-	2013/10/26	4	F	EHEC	O26:H11	VT1	938	same as 46 (938) same as 46 (938) same as 46 (938) same as 46 (938) same as 46 (938) same as 46 (938) same as 46 (938) same as 46 (938) same as 46 (938) three bands differ. from 55 (954)	i222	i222
			-	2013/10/26	4	M		O26:H11	939				
			-	2013/10/26	3	M		O26:H11	940				
			2013/10/14	2013/10/21	2	F		O26:H11	941				
			2013/12/1	2013/12/5	2	F		O26:H11	942				
			-	2013/12/9	4	M		O26:H11	943				
			-	2013/12/9	1	M		O26:H11	944				
			-	2013/12/9	2	M		O26:H11	945				
			-	2013/12/14	27	F		O26:H11	946				
			-	2013/12/9	4	M		O157:H-	947				
			-	2013/12/14	40	M		O157:H-	948				
20	県北	松浦市	2013/10/16	2013/10/23	2	M	EHEC	O103:H2	VT1	942			
21	長崎市	長崎市	2013/10/26	2013/10/29	25	F	EHEC	O157:H7	VT2	25-26			i632
22	県央	諫早市	2013/10/30	2013/11/5	2	F	EHEC	O26:H11	VT1	943			i223
23	長崎市	長崎市	2013/10/28	2013/11/1	8	M	EHEC	O157:H7	VT2	25-27	same as 30 (25-26) four bands differ. from 31 (25-27) same as 30 (25-26)	i632	i631
			2013/11/3	2013/11/5	6	M		O157:H7	VT2	25-28			
			-	2013/11/7	43	M		O157:H7	VT2	25-29			
24	県央	諫早市	2013/11/11	2013/11/18	18	M	EHEC	O103:H11	VT1	957			
25	長崎市	長崎市	2013/11/17	2013/11/22	44	F	EHEC	O26:H11	VT1	25-30			i220
26	壱岐	壱岐市	2013/11/13	2013/11/18	1	M	EHEC	O111:H-	VT1+2	946	one band differ. from 41 (948)		i221
			2013/11/13	2013/11/18	1	M		O26:H11	947				
			-	2013/11/22	3	M		O146:H-	948				
			-	2013/11/25	32	F		O146:H-	949				
			-	2013/11/25	59	F		O169:H-	950				
27	県北	平戸市	2013/11/6	2017/11/14	2	M	EHEC	O157:H7	VT1+2	944	one bands differ. from 59 (944)	i676	d240
			2013/11/7	2017/11/14	5	M		O157:H7	VT1+2	945			
28	佐世保市	佐世保市	2013/11/9	2013/11/18	3	M	EHEC	O157:H7	VT2	962	same as 64 (962) same as 64 (962) two bands differ. from 64 (962) same as 64 (962) same as 64 (962) same as 64 (962)	f29	f29
			2013/11/25	2013/11/29	2	F		O157:H7	VT2	963			
			2013/11/27	2013/12/2	1	F		O157:H7	VT2	964			
			2013/11/17	2013/12/4	3	F		O157:H7	VT2	965			
			-	2013/12/9	3	M		O157:H7	VT2	971			
			2013/12/5	2013/12/9	4	M		O157:H7	VT2	972			
-	2013/12/13	29	F	O157:H7	VT2	973							
29	長崎市	長崎市	2013/11/21	2013/11/25	76	F	EHEC	O103:H11	VT1	25-32	same as 40 (957)		
30	壱岐	壱岐市	2013/12/17	2013/12/25	3	F	EHEC	O157:H7	VT1+2	974	same as 229 (974) same as 229 (974) same as 229 (974) same as 229 (974) same as 229 (974) same as 229 (974) same as 229 (974)	i682	i682
			-	2013/12/28	37	F		O157:H7	VT1+2	975			
			2013/12/19	2013/12/28	12	F		O157:H7	VT1+2	976			
			-	2013/12/28	10	F		O157:H7	VT1+2	977			
			-	2013/12/28	8	F		O157:H7	VT1+2	978			
			-	2013/12/28	2	M		O157:H7	VT1+2	979			
			2013/12/24	2013/12/28	64	F		O157:H7	VT1+2	980			
31	県南	南島原市	2014/1/12	2014/1/22	47	M	EHEC	OUT:H2	VT1	981			

本表は、長崎市、佐世保市および長崎県立保健所管内で発生した三類感染症の記者発表資料から作成した。
事例No.28は、分離株12株(962-973)のうち7株を感染研に送付した。

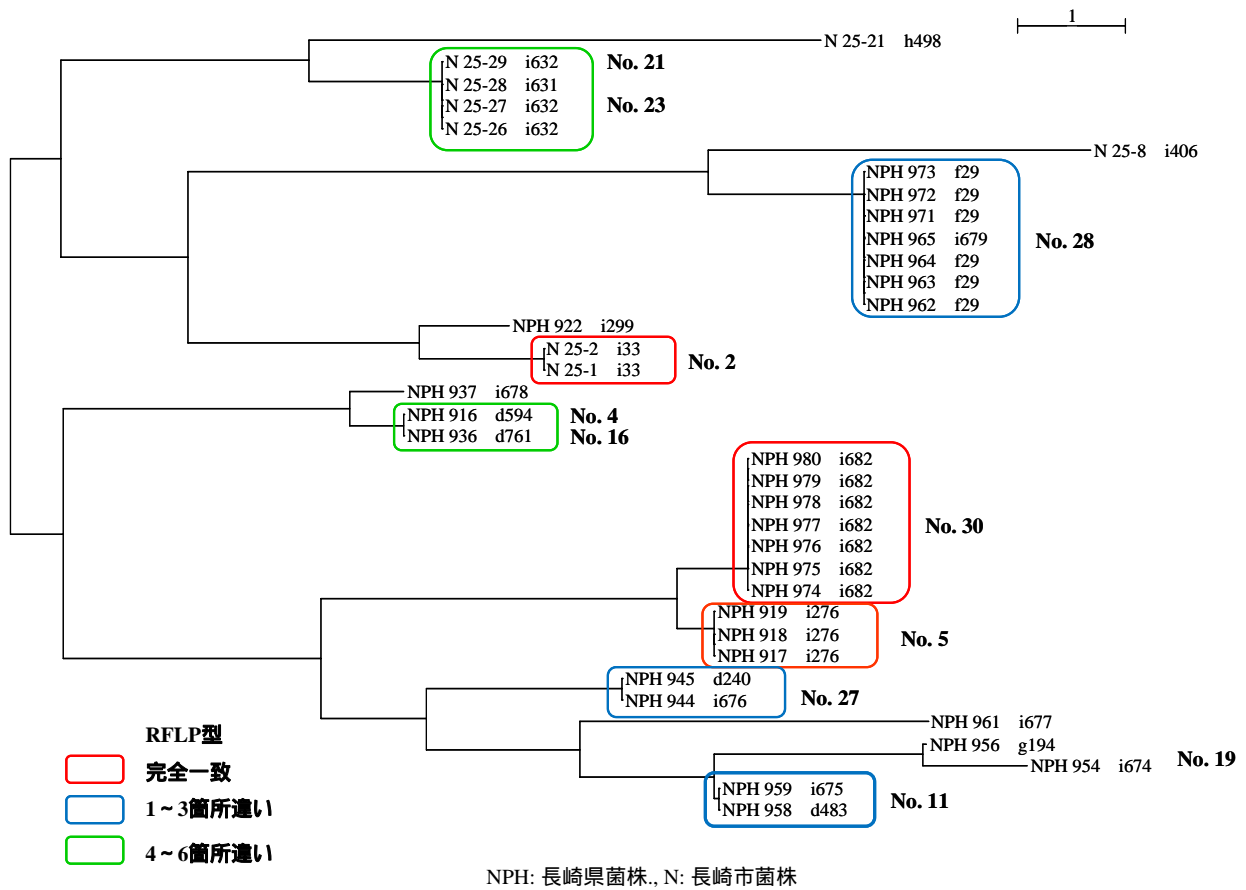


図2 長崎県内で分離された O157 の IS printing system による系統解析 (2013 (H25) 年度)