

## 資料

## 人及び牛から分離された志賀毒素産生性大腸菌の志賀毒素遺伝子型

金子紀子, 青木敏也, 大谷勝実

Shiga Toxin Type of Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Isolate from Human and Cattle

by Akiko KANEKO, Toshiya AOKI and Katsumi OOTANI

平成8年から17年に県内でSTEC感染者から分離されたSTEC及び全国6ヶ所の食肉検査所で牛から分離されたSTECについて、*stx*型及び*stx2*についてはバリエーションの保有状況を調査した。人STEC感染229事例由来株はO157が138株(60.3%)、O26が59株(25.8%)、non-O157、O26が32株(14.0%)であった。O157では*stx1*保有株が2株、*stx2*保有株が41株(29.7%)、*stx1,2*保有株が95株(68.8%)であった。O26では*stx1*保有株が57株(96.6%)、*stx1,2*保有株が2株であった。non-O157、O26では*stx1*保有株が22株(68.8%)、*stx2*保有株及び*stx1,2*保有株が共に5株(15.6%)であり、血清型の内訳は、O103(5株)、O111(4株)、O45(3株)、O55、O91、O145、O165(各2株)等があった。*stx2*保有148株の*stx2*バリエーション保有状況は、*stx2c*保有が37株(25.0%)認められ、全てO157であった。*stx2d*保有が3株(2.0%)認められ、O157が1株、O128が2株であった。*stx2e*及び*stx2f*を保有する株は認められなかった。128株の牛由来STECは全てO157であった。*stx*型は、*stx2*が75株(58.6%)、*stx1,2*が53株(41.4%)であった。*stx2*バリエーションは、*stx2c*保有が69株(53.9%)、*stx2d*保有が1株(0.8%)認められた。*stx2e*及び*stx2f*を保有する株は認められなかった。人と牛由来株で*stx*型、バリエーション保有状況に差が認められた。

Key Words : 志賀毒素産生性大腸菌(STEC), 志賀毒素遺伝子(*stx*), *stx2c*, *stx2d*, *stx2e*, *stx2f*

## I はじめに

志賀毒素産生性大腸菌(STEC)の最も重要な病原因子は志賀毒素(STX)である。志賀毒素遺伝子は*stx1*と*stx2*に区別されるが、*stx2*にはいくつかのバリエーションが存在し、*stx2c*, *2d*, *2e*, *2f*に大別されている。これらのバリエーションを保有するSTEC感染者は、HUSや血性下痢となる頻度が低いとの報告<sup>1)</sup>があり、病態との関連も注目されている。人由来のSTECには*stx2c*や*stx2d*を保有するものが存在し、*stx2e*を保有するSTECは豚の浮腫病と関連するもので人からはほとんど分離されない。また、*stx2f*を保有するSTECは2000年に鳩から分離された株での報告<sup>2)</sup>で、人や牛由来株での存在は不明である。

今回、山形県内でSTEC感染者から分離されたSTECについて、*stx*型別をするとともに、*stx2*バリエーション保有状況を知る目的で本調査を行った。併せて、感染源として注目されている牛由来株の状況を知るため、全国6ヶ所の食肉衛生検査所で牛から分離されたSTECについても*stx*型別をするとともに、*stx2*バリエーション保有状況を調査した。

## II 材料および方法

1. 山形県における腸管出血性大腸菌感染症発生状況  
感染者発生時、保健所に届出が必要となった平成8年から17年までに発生届があった感染者数と分離されたSTECの血清型、*stx*の保有状況を調べた。血清型別は病原大腸菌免疫血清「生研」1号及び2号セット(デンカ生研)で行った。*stx*保有はプライマーセットKS7、KS8を用い*stx1*を、プライマーセットLP43、LP44を用い*stx2*をPCRにより検出した。
2. 山形県内のSTEC感染者から分離されたSTECの*stx2*バリエーション保有状況  
平成8年から17年に県内で確認されたSTECの感染者383人(229事例)から分離されたSTECのうち、*stx2*を保有する148事例由来株について、Friedrichらの報告<sup>1)</sup>に準じPCRとRFLPの組み合わせにより*stx2*バリエーション保有状況を調査した。すなわち、プライマーセットLP43、LP44によるPCRで検出された株について、プライマーセットGK3、GK4でPCRを行い、検出された場合産物をHae III(タカラバイオ)で消化、切断されない場合*stx2*、切断された場合*stx2c*とした。プライマーセットGK3、GK4でPCRを行い検出されない場合は、プライ

マーセットVT2-cm, VT2-fでPCRを行い検出された場合 *stx2d*, プライマーセットFK1, FK2でPCRを行い検出された場合 *stx2e* とした. さらに, プライマーセットGK3, GK4でPCRを行い検出されなかった場合は, プライマーセット128-1, 128-2でPCRを行い検出されたものを *stx2f* とした.

3. 牛から分離されたSTECの血清型及び *stx2* バリエントを含む *stx* 型保有状況

平成16年及び17年に全国6ヶ所の食肉衛生検査所で牛から分離されたSTEC 128株について血清型別及び *stx2* バリエントを含む *stx* 型の保有状況を同様に調査した.

III 結 果

1. 山形県における腸管出血性大腸菌感染症発生状況

平成8年から17年までに発生届があった感染者数は383人(229事例)で, 年間20事例前後, 感染者数約40人の発生状況にあった. また, 血清型別では, O157が229事例中138事例(60.3%)と最も多く, O26が59事例(25.8%), O157, O26以外の血清型(non-O157, O26)が32事例(14.0%)であった. 患者数では, O157が383人中242人(63.2%)と最も多く, O26が89人(23.2%), non-O157, O26が52人(13.6%)であった.

各事例から分離されたSTECの血清型と *stx* 型は同一であったので, 表1に代表株の血清型と *stx* 型を示した.

O157が分離された138事例由来株中 *stx1* 単独保有株が2株, *stx2* 単独保有株が41株(29.7%), *stx1,2* 保有株が95株(68.8%)であった. O26が分離された59事例由来株中 *stx1* 単独保有株が57株(96.6%), *stx1,2* 保有株が2株であった. non-O157, O26が分離された32事例由来株中 *stx1* 単独保有株が22株(68.8%), *stx2* 単独保有株及び *stx1,2* 保有株が共に5株ずつ(15.6%)確認された. 複数検出された事例は, O103(5事例), O111(4事例), O45(3事例), O55, O91, O145, O165(各2事例)であった.

2. 山形県内のSTEC感染者から分離されたSTECの *stx2* バリエント保有状況

各事例(229事例)から分離されたSTECの血清型と *stx* 型(*stx2* バリエントを含む)を表2に示した. *stx2* を保有する148事例由来株の *stx2* バリエント保有状況は, *stx2c* を保有するものが148株中37株(25.0%)で認められ, 37株は全て血清型がO157であった. O157 でみると138株中37株(26.8%)が *stx2c* を保有していた. *stx2d* を保有するものが148株中3株(2.0%)認められ, 血清型はO157が1株, O128が2株であった. *stx2e* 及び *stx2f* を保有する株は認められなかった.

3. 牛から分離されたSTECの *stx2* バリエント保有状況

128株の牛由来STECは全てO157であった. *stx* 型は, *stx2* が128株中75株(58.6%), *stx1,2* が128株中53株(41.4%)であった(表3). *stx2* バリエントは, *stx2c* を保有するものが128株中69株(53.9%), *stx2d* を保有するものが128株中1株(0.7%)で認められた(表3). *stx2e* 及び *stx2f* を保有する株は認められなかった.

表1 STEC感染者から分離されたSTECの血清型と *stx* 型(事例代表株)

O血清型	H血清型	<i>stx1</i>	<i>stx2</i>	<i>stx1,2</i>	計
O157	H7	2	36	93	131
	H-		4	2	6
	H?		1		1
O157計		2	41	95	138
(%)		(1.5)	(27.9)	(68.8)	
O26	H11	39			39
	H1	2			2
	H21	1			1
	H-	12		2	14
	HNT	2			2
	H?	1			1
O26計		57		2	59
(%)		(96.6)		(3.4)	
O28	H25		1		1
O45	H2	3			3
O55	H-	1	1		2
O74	H20		1		1
O84	H-	1			1
O86	H-	1			1
O91	H-	2			2
O103	H2	5			5
O106	H25			1	1
O111	H-	2		2	4
O121	H19	1			1
O128	H2			1	1
	H-			1	1
O145	H-	2			2
O165	H-		2		2
OUT	H2	1			1
	H18	1			1
	H21	1			1
	H-	1			1
その他計		22	5	5	32
(%)		(68.8)	(15.6)	(15.6)	
合計		81	46	102	229

表2 事例代表株の血清型と *stx* 型 (*stx2* バリエントを含む)

<i>stx</i> 型	O157	O26	その他	計	(%)
<i>stx1</i>	2	57	22	81	35.4
<i>stx2</i>	19		5	24	10.5
<i>stx1+2</i>	79	2	3	84	36.7
<i>stx1+2+2c</i>	2			2	0.9
<i>stx1+2c</i>	12			12	
<i>stx2+2c</i>	11			11	
<i>stx2c</i>	12			12	5.2
<i>stx1+2d</i>			2	2	0.9
<i>stx2d</i>	1			1	
計	138	59	32	229	100.0

表3 牛由来STEC O157のstx型 (stx2バリエントを含む)

stx型	株数	(%)
stx2	29	22.7
stx1+2	29	22.7
stx1+2c	24	18.8
stx2+2c	4	3.1
stx2c	41	32.0
stx2d	1	0.7
計	128	100.0

#### IV 考 察

2005年の全国の腸管出血性大腸菌感染症届出数は、3,577例報告された<sup>4)</sup>。しかし、全国の地方衛生研究所・保健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STEC検出数は、1,574であり、腸管出血性大腸菌感染症届出数と開きがあった。これは、分離菌株の一部が地研に届いていないものもあるためと思われた。山形県においても、調査期間中11人(2.9%)のSTEC感染者から分離された株は収集することができなかった。菌の精査や分子疫学的解析を行うには分離菌の収集が必要であり、今後も医療機関等への働きかけが必要である。

人から分離されたSTECの血清型は感染者数でみるとO157が63.2%、O26が23.2%、non-O157、O26が13.6%であった。全国の2003年、2004年の統計<sup>3)</sup>をみると、O157が65.7%、O26が21.7%、non-O157、O26が12.6%で本県の実態と差は認められなかった。同様にstx型をO157でみても、stx2単独保有が29.7%、stx1,2保有が68.2%であるのに対し、前出の全国統計ではstx2単独保有が32.8%、stx1,2保有が65.2%とほとんど差は認められない<sup>3)</sup>。これらのことから、本県の人から分離されるSTECは本県特有のものというより、全国の一断面とみて良いように思われる。一方、牛由来STEC O157(128株)のstx型は、stx2単独保有が128株中75株(58.6%)、stx1,2保有が128株中53株(41.4%)であり、人由来のそれと比較すると、牛由来ではstx2単独保有株が多く、stx1,2保有株が少なかった。一概には言えないが、stx2単独保有のものは感染源として牛である確率が高いとも言え、疫学調査を行ううえで留意する必要がある。

stx2のバリエント保有状況を調べた結果、人由来のstx2を保有するSTEC 148株中stx2cを保有するものが37株(25.0%)、stx2dを保有するものが3株(2.0%)であった。塚本らの報告<sup>5)</sup>では、stx2を保有するSTEC 72株中stx2cを保有するものが19株(26.4%)、stx2dを保有するものが2株(2.8%)で、今回の結果と同様な保有率であった。一方、ヨーロッパの報告<sup>1)</sup>ではstx2を保有するSTEC 460株中stx2cを保有するものが148株(32.2%)、

stx2dを保有するものが62株(13.5%)、stx2eを保有するものが16株(3.5%)で、今回の結果に比べバリエント保有率が高い傾向にあった。これは、non-O157、O26が対象株の45%を占めていることや地域的な差が要因の一つと考えられる。この報告で、stx2dとstx1を同時に保有するSTECは血清型O128が多いと述べている。本調査でも、stx2dを保有する3株中2株がstx2dとstx1を同時に保有する血清型O128であった。このことは、ヨーロッパとの疫学的関連性を伺わせるものと思われる。また、stx2eを保有するSTECは検出されなかったが、県内においても豚浮腫病の発生があり、stx2eを保有する病原体として存在することから、人のSTEC感染症の原因菌として入ってきていないか監視していく必要がある。

一方、牛由来のO157ではstx2cを保有するものが128株中69株(53.9%)あり、人由来のO157のstx2cを保有率27.2%に比べ明らかに高い保有率であった。塚本の報告<sup>5)</sup>でも牛由来のstx2を保有するO157 25株中12株(48.0%)がstx2cを保有しており、高い保有率であった。stx型と同様に、人と牛でバリエントの保有率に明らかな差が認められたことから、stx2cを保有する株が人から検出された場合、牛との関連性をより留意することが必要と考えられる。また、STEC感染症の感染源として牛との関連を示す報告が多いが<sup>6),7)</sup>、人と牛でstx型及びバリエントの保有率に明らかな差のあることから、牛から直接感染する割合は比較的小さいのかも知れない。あるいは、stx2cはstx2に比べて人への感染性が低い可能性も考えられるが今後の検討課題としたい。

最後に貴重な分離菌株を提供頂いた県内の医療機関、各保健所検査課の皆様へ感謝致します。

#### 文 献

- 1) Friedrich et al.: J.Infect.Dis.,185,74-84,2002
- 2) 大谷勝実 他: 山形衛研報(36),71-76,2003
- 3) 国立感染症研究所感染症情報センター: 病原微生物検出情報26,137-138,2005
- 4) 国立感染症研究所感染症情報センター: 病原微生物検出情報27,1-10,2006
- 5) 塚本定三 他: 感染症学雑誌,76,167-172,2002
- 6) Borczyk et al.: Lancet, Jan,10,1,(8524),98,1987
- 7) Karmali M.A.: Clin.Microniol.Rev.,2,15-38,1989
- 8) Schmidt et al.: Appl Environ Microbiol.,66, 1205-1208,2000