

# 福井県における腸管出血性大腸菌 分離株のStxサブタイピング解析

【H30-R2 調査研究】 R2 終了報告

福井県衛生環境研究センター

保健衛生部 細菌・ウイルス研究グループ

○横山孝治、山本政弘、児玉佳、岩崎理美、永田暁洋、東方美保

# 腸管出血性大腸菌感染症

病原体：ベロ毒素(VT)産生性大腸菌

潜伏期間：3～8日

初発症状の数日～2週間以内（多くは5～7日後）に重症合併症を発症

臨床症状：激しい腹痛、水様性下痢、血便

溶血性尿毒症症候群（HUS）

脳症（けいれんや意識障害など）

3類感染症に指定→全数届出が必要

**腸管出血性大腸菌 (Enterohemorrhagic E.coli = EHEC)**

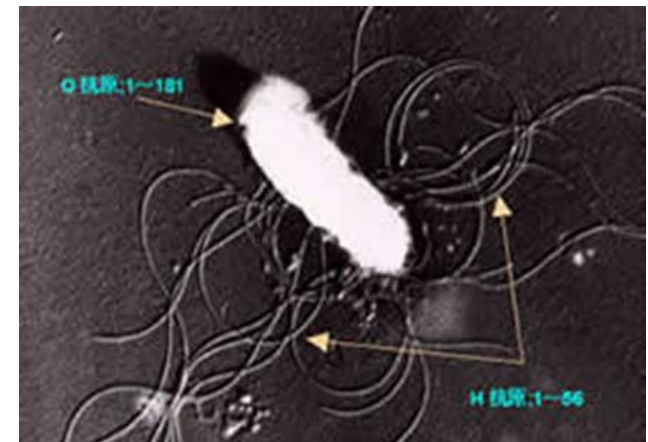
大腸菌のうち、ベロ毒素を産生するかベロ毒素遺伝子を保有する。

**溶血性尿毒症症候群(Hemolytic Uremic Syndrome = HUS)**

溶血性貧血、血小板減少、急性腎不全を主徴とする疾患。

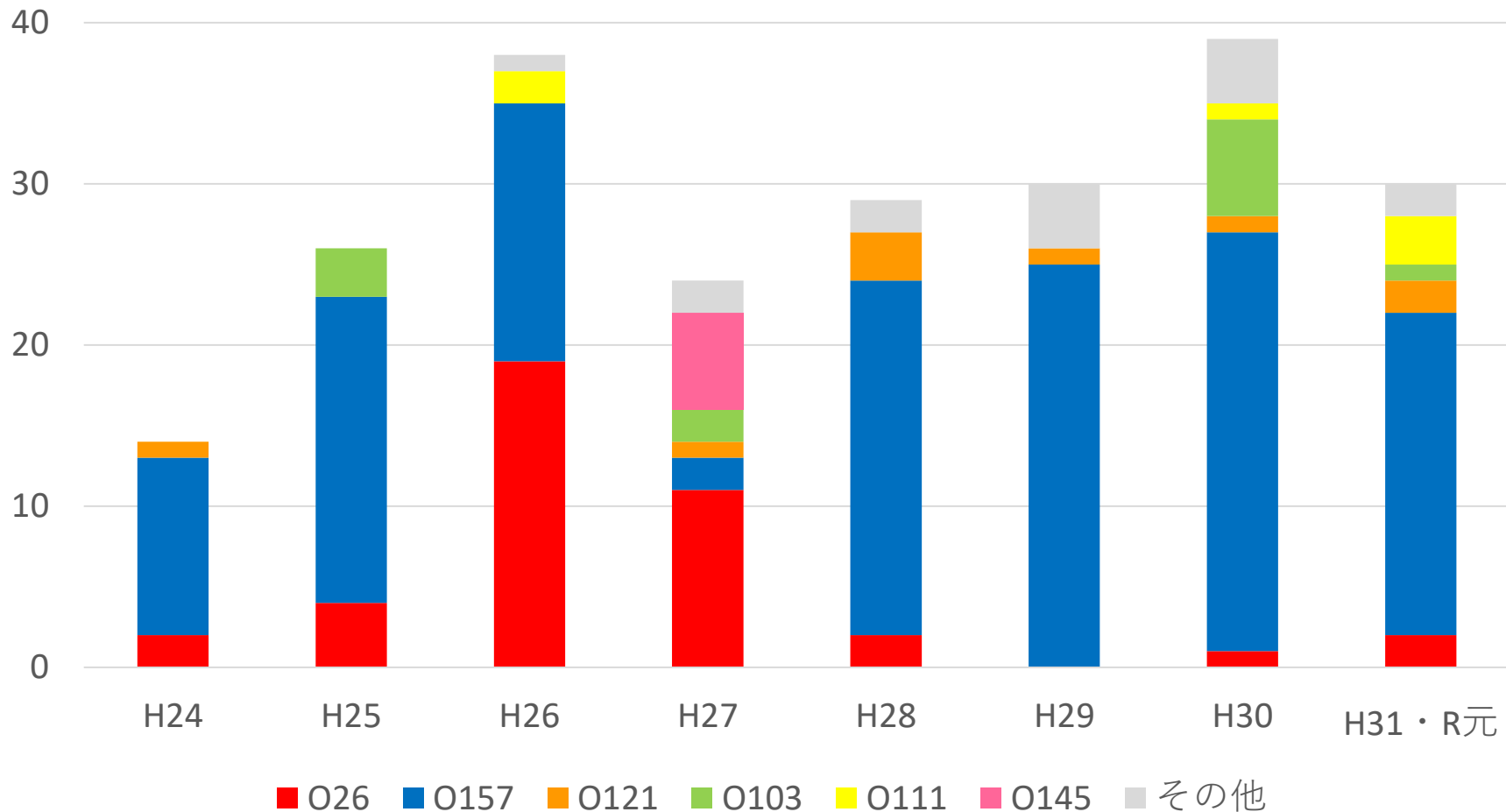
# ベロ毒素 (Verotoxin=VT Shigatoxin=Stx)

- 抗原性の違い
  - *stx1* – *stx1a*, *stx1c*, *stx1d*  
(3種類)
  - *stx2* – *stx2a*, *stx2b*, *stx2c*, *stx2d*, *stx2e*, *stx2f*, *stx2g*  
(7種類)
- 病原性
  - *stx2* > *stx1*
  - *stx2a*, *stx2c* → 重症例からよく分離される



# 福井県のEHEC届出数(H24~H31・R元年)

(株)



# 研究目的

- **StxサブタイピングPCR法を確立する**  
EHEC検査・診断マニュアル（国立感染症研究所筆）  
記載の方法
- 福井県で分離されたEHEC株について、サブタイプを決定し、動向を把握する



- 福井県内における**Stxサブタイプ**の動向が明らかとなる
- 福井県での**Stxサブタイプ**と菌株性状等との関連性が見出せる可能性がある

# 研究内容

平成30年度

- StxサブタイピングPCR法の確立（EHEC検査・診断マニュアル記載の方法）

平成31年度

令和元年度

- 当センターに保管されている福井県内で分離されたEHEC株※について、PCR法により、Stxサブタイプ（*stx1a, stx1c, stx1d, stx2a, stx2b, stx2c, stx2d, stx2e, stx2f, stx2g*）を決定する。

※MLVAやPFGE等の結果および疫学的情報（家族や集団事例など）を参考を選定した株（直近3年間分）

⇒平成24年～31年・令和元年（8年間分）

令和2年度

- Stxサブタイプと菌株性状（薬剤耐性等）や疫学情報（臨床症状の重症度「血便、HUSの発症」）に関連性がみられないか解析する。

# 材料・方法

## 材料

福井県内で分離された菌株  
(平成24年～31年・令和元年)  
計143検体

※MLVA法やPFGE法の結果および疫学的情報（家族や集団事例など）を参考に選定

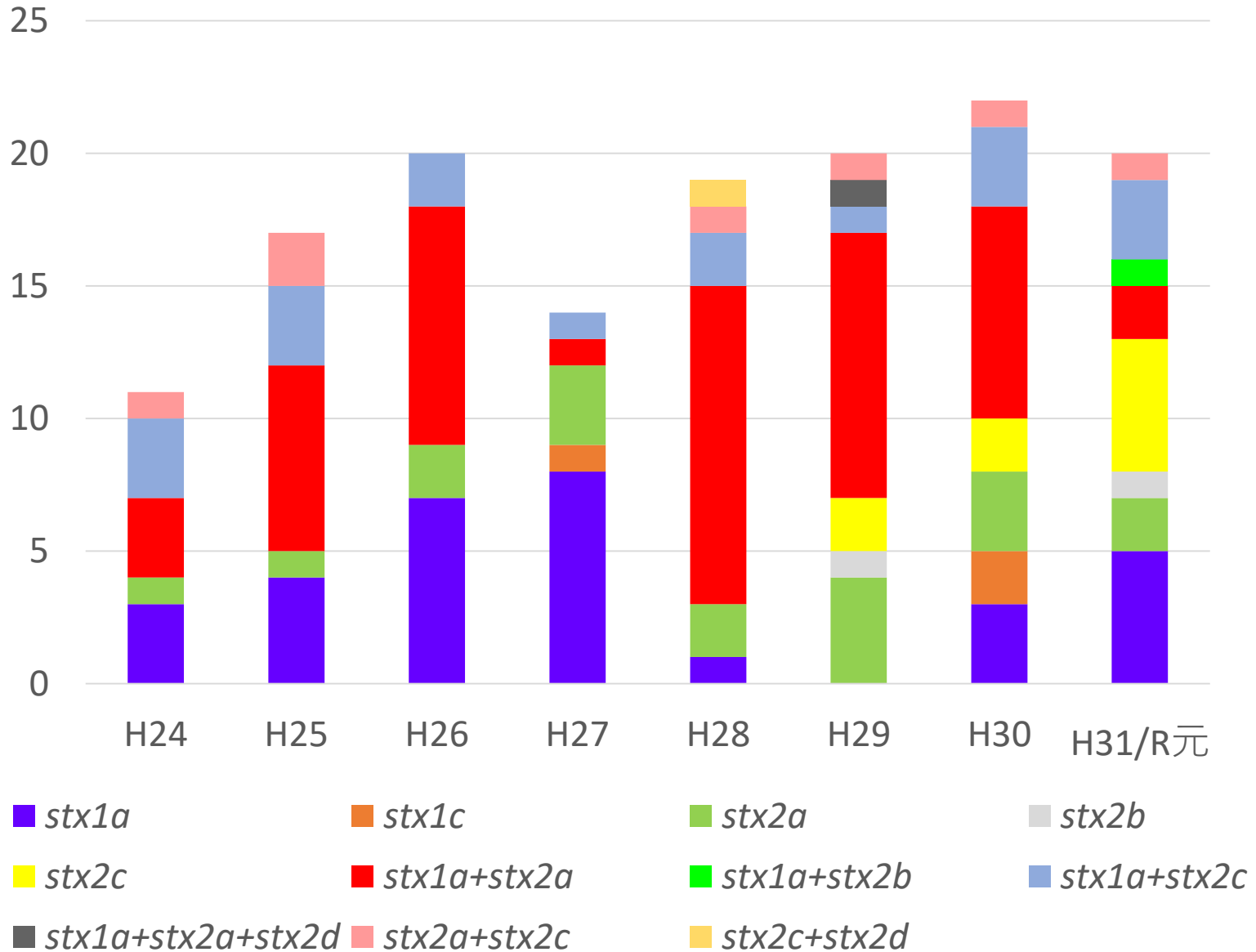
分離年（年）	株数（株）
平成24年	11
平成25年	17
平成26年	20
平成27年	14
平成28年	19
平成29年	20
平成30年	22
平成31年・令和元年	20

## 方法

- ・ Stxサブタイプの検出  
遺伝子検査（マルチプレックスPCR法）
- ・ 薬剤感受性試験  
ディスク法（11剤：SM,CP,CPFX,ABPC,FOM,GM,CTX,KM,NA,ST,TC）
- ・ 病原遺伝子の検出  
遺伝子検査（マルチプレックスPCR法）

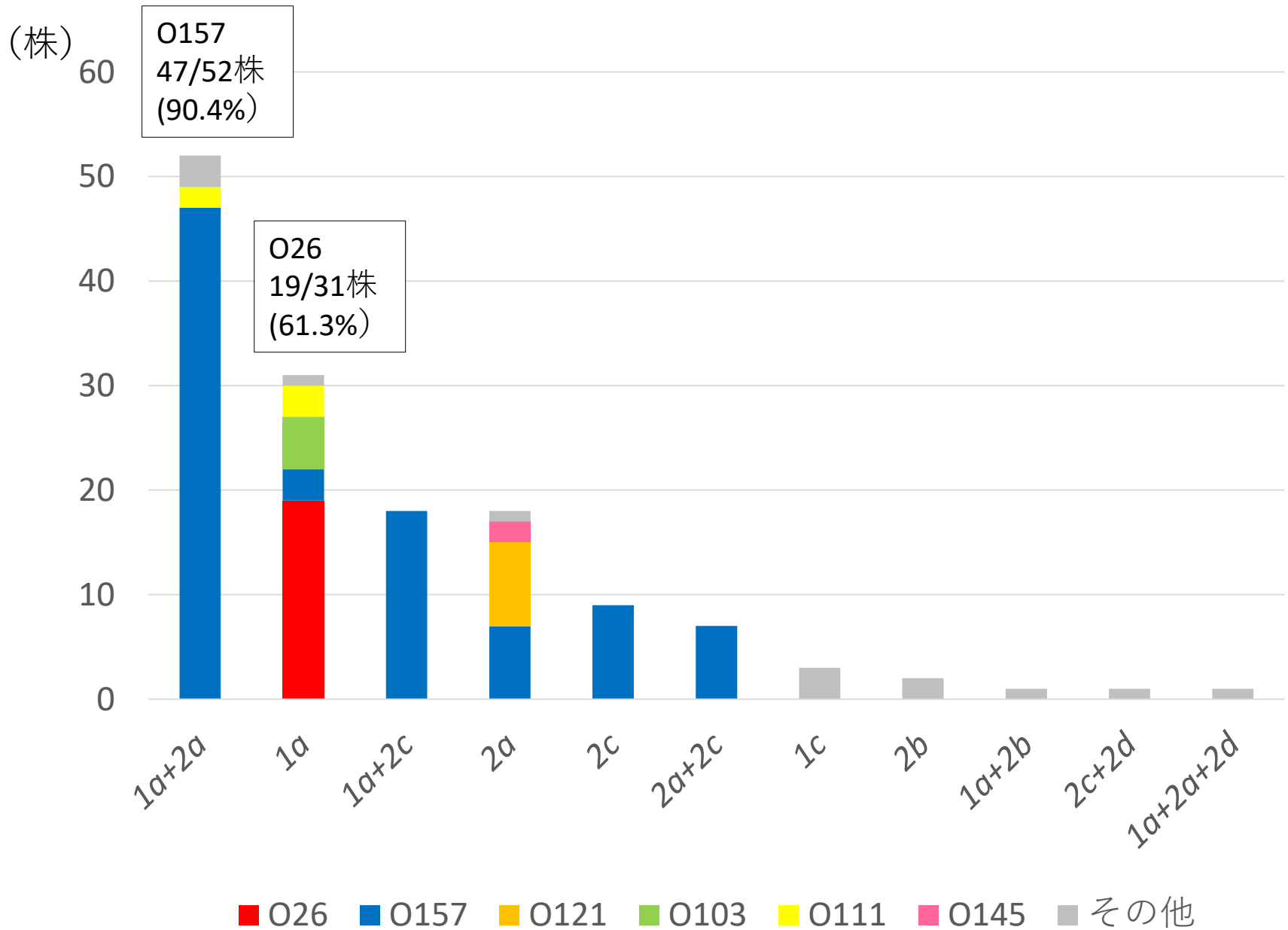
# 年次別にみたStxサブタイプ

(株)





# Stxサブタイプ別に見たO血清群



# Stxサブタイプ別にみた血便発症率

Stxサブタイプ				血便有 (株)	総数 (株)	血便発症 率 (%)
<i>stx1a</i>	<i>stx2a</i>			39	52	75.0
<i>stx1a</i>				11	31	35.5
<i>stx1a</i>		<i>stx2c</i>		10	18	55.6
	<i>stx2a</i>			9	18	50.0
		<i>stx2c</i>		2	9	22.2
	<i>stx2a</i>	<i>stx2c</i>		6	7	85.7
<i>stx1a</i>	<i>stx2a</i>		<i>stx2d</i>	1	1	100.0

# $\chi^2$ 検定

菌株数 (株)		血便の発症		合計
		有	無	
<i>stx1a</i>	含む	61	42	103
	含まない	17	23	40
合計		78	65	143

菌株数 (株)		血便の発症		合計
		有	無	
<i>stx2a</i>	含む	55	23	78
	含まない	23	42	65
合計		78	65	143

菌株数 (株)		血便の発症		合計
		有	無	
<i>stx2c</i>	含む	18	17	35
	含まない	60	48	108
合計		78	65	143

$$\chi^2(1a) = 3.25$$
$$p(1a) = 0.071 > 0.05$$

$$\chi^2(2a) = 17.6$$
$$p(2a) < 0.0001$$

$$\chi^2(2c) = 0.182$$
$$p(2c) = 0.670 > 0.05$$



Stx2aについて  
有意差が認められた

# 薬剤別に見た耐性率

	TC	SM	ABPC	CP	KM	ST	NA	GM	CTX	FOM	CPFX
耐性数	26	22	16	10	7	5	3	2	2	1	0
割合 (%)	18.2	15.4	11.2	7.0	4.9	3.5	2.1	1.4	1.4	0.7	0

20代 男性

O111 : HNM

*Stx1a*

腹痛、水溶性下痢、血便

- TC、SM、ABPCで特に耐性の割合が高い
- 治療薬とされるFOMで耐性菌が1株確認された

# Stxサブタイプ別にみた薬剤耐性数

Stxサブタイプ		菌株数	耐性薬剤数						
			0	1	2	3	4	5	6
<i>stx1a</i>	<i>stx2a</i>	52	33	10	4	4	1		
<i>stx1a</i>		31	22	4	3	1			1
<i>stx1a</i>	<i>stx2c</i>	18	12	1	3		1	1	
	<i>stx2a</i>	18	11	5			1	1	
	<i>stx2c</i>	9	6		2	1			
	<i>stx2a</i>	<i>stx2c</i>	7	5	2				
<i>stx1c</i>		3	2			1			
	<i>stx2b</i>	2	2						
<i>stx1a</i>	<i>stx2b</i>	1	1						
	<i>stx2c</i>	<i>stx2d</i>	1	1					
<i>stx1a</i>	<i>stx2a</i>	<i>stx2d</i>	1			1			
合計		143	95	22	12	8	3	2	1

# 病原遺伝子保有状況

Stxサブタイプ		菌株数	病原遺伝子保有数							
			<i>eae</i>	<i>astA</i>	<i>aggR</i>	<i>elt</i>	<i>estA1</i>	<i>estA2</i>	<i>invE</i>	<i>afaD</i>
<i>stx1a</i>	<i>stx2a</i>	52	51							
<i>stx1a</i>		31	30	2						
<i>stx1a</i>	<i>stx2c</i>	18	18							
	<i>stx2a</i>	18	17							
	<i>stx2c</i>	9	9							
	<i>stx2a</i>	<i>stx2c</i>	7	7						
<i>stx1c</i>		3								
	<i>stx2b</i>	2								
<i>stx1a</i>	<i>stx2b</i>	1								
	<i>stx2c</i>	<i>stx2d</i>	1							
<i>stx1a</i>	<i>stx2a</i>	<i>stx2d</i>	1							
		合計	143	132	2					

高い陽性率 (92.3%)

# まとめ

- 143株のうち*stx1a+stx2a*が52株（36.4%）と多く、次に*stx1a*が31株（21.7%）検出され、僅かであったが*stx2b*、*stx2d*のサブタイプも検出された。
- 薬剤感受性試験では、FOM耐性株が確認された。サブタイプ別では明らかな差はみられなかった。
- 病原遺伝子別では*eae*が132株（92.3%）と高い陽性率であった。
- Stxサブタイプと血便発症との関係について、 $\chi^2$ 検定の結果より*stx 2a*について有意な関係が認められた。このことから、血便の発症に*stx2a*が関与していることが示唆された。*stx2a*保有患者の臨床症状には注意を払う必要がある。