

201318034A

厚生労働科学研究費補助金  
新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業  
重症の腸管出血性大腸菌感染症の病原性因子及び  
診療の標準化に関する研究  
(H24-新興-一般-012)

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大西 真

平成 26 年 (2014 年) 3 月

## もくじ

重症の腸管出血性大腸菌感染症の病原性因子及び診療の標準化に関する研究 総括報告書 大西 真 国立感染症研究所細菌第一部 . . . . .	1
国内で分離される重症者由来の非典型的な腸管出血性大腸菌に関する研究 伊豫田 淳 国立感染症研究所細菌第一部 . . . . .	9
非典型的 EHEC のプロファイリングに関する研究 甲斐 明美 東京都健康安全研究センター微生物部 . . . . .	14
大腸菌 O 血清群の核酸検出法に関する研究 井口 純 宮崎大学・I R 推進機構 . . . . .	19
抗大腸菌抗体検出系の開発に関する研究 勢戸 和子 大阪府立公衆衛生研究所 . . . . .	26
non-O157 EHEC のゲノム配列決定 林 哲也 宮崎大学 . . . . .	34
重症の腸管出血性大腸菌感染症の病原性因子及び診療の標準化に関する研究 — Stx ファージの多様性についての解析 — 綿引 正則 富山県衛生研究所 . . . . .	42
O111 ゲノム構造解析 黒田 誠 国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター . . . . .	48
Non-O157 STEC の産生する新規毒素 SubAB に関する研究 八尋 錦之助 千葉大学病原細菌制御学 . . . . .	53
幼若無菌 BALBc/A マウスを用いた腸管出血性大腸菌の病原性の評価法 に関する研究 桑原 知己 香川大学医学部 . . . . .	55

溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドラインの作成 五十嵐 隆 国立成育医療研究センター	57
腸管出血性大腸菌感染症に対する治療ガイドライン作成 齋藤 昭彦 新潟大学医歯学総合研究科小児科学分野	228
溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドラインの作成 伊藤 秀一 国立成育医療研究センター腎臓・リウマチ・膠原病科	230
溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドラインの作成 幡谷 浩史 東京都立小児総合医療センター腎臓内科	232
腸管出血性大腸菌感染症に併発する脳症の研究 水口 雅 京大学大学院医学系研究科・発達医科学	233
研究成果の刊行に関する一覧表	235
研究成果の刊行物・別刷	

厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）  
総括研究報告書

研究課題名（課題番号）：重症の腸管出血性大腸菌感染症の病原性因子及び診療の標準化に関する研究（H24-新興-一般-012）

研究代表者 大西 真 （国立感染症研究所・細菌第一部・部長）

### 研究要旨

腸管出血性大腸菌 (EHEC) は、経口接種され腸管に到達し、定着・増殖、志賀毒素産生により急性の下痢症を惹起する。激しい腹痛、血性下痢を伴う出血性腸炎を引き起こすことを特徴とし、溶血性尿毒症症候群、脳症等の重篤な病態を引き起こす。わが国では血清群 O157 EHEC の分離頻度が最大であるが、多様な大腸菌が血清群 O157 EHEC 同様の腸管細胞へ接着する能力、志賀毒素を産生する能力を共有している。時に、非典型的な EHEC（血清型、病原因子型等）による重症化例が存在し、その細菌学的検査診断を困難にし、診療に関しても困難な症例が存在する。本研究班では、内外の最新のエビデンスレベルの高い研究報告に基づき、わが国の医療状況に合致した EHEC 感染症ならびに HUS とその合併症に対する以下の特色を満たすガイドラインを作成した。加えて、EHEC 感染症およびそれに関連する、HUS、脳症に関する研究が実施され、知見が蓄積された。また国内で分離される EHEC の細菌学的基盤情報を集積した。重症化に寄与する新規病原因子の検索、新しい診断ツールの開発、ゲノム情報の取得、動物モデルによる病原性評価系の開発に関する研究を行った。

### A. 研究目的

腸管出血性大腸菌 (*Enterohemorrhagic Escherichia coli*, EHEC) の病原性発揮には、腸管細胞付着能と志賀毒素産生能が最低限必要であると考えられている。国内において EHEC 感染症は、血清群 O157 に属する菌株を原因とする症例が多数を占める。EHEC O157 は 2 つの志賀毒素遺伝子 *stx1*, *stx2* のいずれか、あるいは両方を有し、細胞接着能力は LEF 領域と呼ばれる III 型タンパク質分泌機構に依存していると考えられている。しかしながら、異なる血清型に属する多様な EHEC が存在することが知られていることに加え細胞付着に関する病原因子にも多様性があることが知られている。

細胞付着因子の多様性に関しては、血清型 O104:H4 大腸菌によるドイツを中心とした広域食中毒事例の発生を機に注目を集めている。細胞付着因子および血清群の多様性の視点から、いわゆる「O157」感染症とは異なる非典型的な EHEC 感染症に関する基盤情報の蓄積と整理が必要である。

我が国において EHEC 感染症は年間 3000-4000 例発生している。重篤な合併症 (HUS、脳症) を発症し、

さらに死亡例も毎年報告されている。急性脳症発症例では、回復しても重篤な中枢神経障害を残すことが問題である。先に述べたドイツでの事例において多数の HUS 患者が発生し、死者も 50 名を超える事態となった。診断に加えて、治療法の体系的な評価と、提言の必要性が高まった。

本研究の目的は、大別して以下の 2 点である。

(1) 診断・治療法に関して最新の情報を基盤に再検討を加える。「腸管出血性大腸菌感染に伴う HUS の診断・治療のガイドライン」(日本小児腎臓病学会) は、作成から既に 15 年が経過した。内外の最新のエビデンスレベルの高い研究報告に基づき、わが国の医療状況に合致した EHEC 感染症ならびに HUS とその合併症に対する以下の特色を満たすガイドラインを早急に作成する。

(2) 非典型的な EHEC 感染症に対応可能な検査系を確立することである。非典型的 EHEC 株の基盤情報を収集することを出発点として、情報のとりまとめを行なう。非典型的な EHEC の全ゲノム配列を決定し他の大腸菌との比較解析を行い、さらに、非典型 EHEC が産生する新規毒素・接着因子の機能解析を進める。O 血清群の核酸検出による同定補

助法、新規病原因子を標的とした検査法、菌株検出法、HUSの病原診断のための検査法の開発を目指す。

H25年度においては、各研究分担者において以下のテーマで研究を実施した。

- ・ 溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドラインの作成（統括：五十嵐、齋藤、伊藤、幡谷、水口、森島、大西健児、川村、北山、芦田、要、種市、佐古、J Tang）
- ・ 腸管出血性大腸菌感染に対する治療ガイドライン作成（齋藤）
- ・ 溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドラインの作成（伊藤）
- ・ HUS脳症におけるRisk Factorの検討（森島）
- ・ HUSの診断・治療に関する研究（幡谷）
- ・ 腸管出血性大腸菌感染症に併発する脳症の研究（水口）
- ・ 国内で分離される重症者由来の非典型的な腸管出血性大腸菌に関する研究（伊豫田）
- ・ 非典型的EHECのプロファイリングに関する研究（甲斐）
- ・ 抗大腸菌抗体検出系の開発に関する研究（勢戸）
- ・ 大腸菌O血清群の核酸検出法に関する研究（井口）
- ・ non-O157 EHECのゲノム配列決定（林）
- ・ O111ゲノム構造解析（黒田）
- ・ Stxファージの多様性についての解析（綿引）
- ・ 幼若無菌BALBc/Aマウスを用いた腸管出血性大腸菌の病原性の評価法に関する研究（桑原）
- ・ Non-O157 STECの産生する新規毒素SubABに関する研究（八尋）

これらの詳細は分担研究報告書に記載しているが、ここでは、それらの概要と相互の関連性についてまとめる。さらに、研究代表として取得したデータのとりまとめと併せて報告する（研究協力：石原朋子 国立感染症研究所 細菌第一部 主任研究官）。

## B. 研究方法

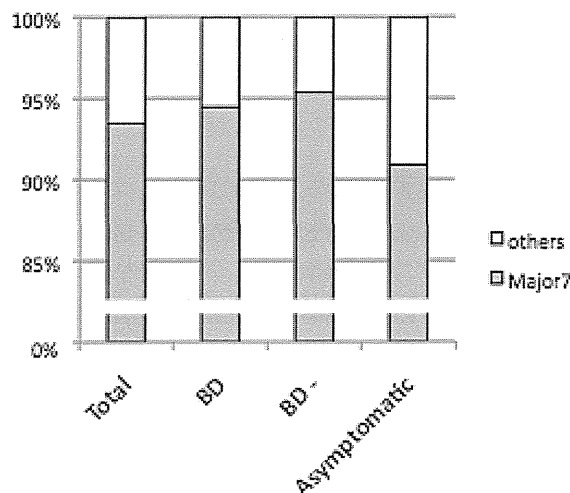
菌株は地方衛生研究所から国立感染症研究所へ分与された腸管出血性大腸菌、健常者検便から分離された志賀毒素産生菌を用いた。解析の詳細については、伊豫田分担報告書を参照。倫理面への配慮 は各報告書に記載した

## C. 研究結果

### 腸管出血性大腸菌の多様性解析

わが国における腸管出血性大腸菌感染症の93%程度は、7つの血清群(O157, O26, O111, O121, O103, O145, O165)によるものである(図1)。血性下痢(BD)の有無にかかわらず有症状者の約95%程度はこの7つの血清群に属するEHECに依るものである。

2013 発生動向調査に基づいた主要血清群の占める割合



血清群毎、年齢階層別の人口10万人あたりの罹患率を図2に示した。EHEC O26は5歳未満では2012年、2013年ともにEHEC O157と比較して罹患率が高かった。他の年齢群においては低い罹患率を示した。その他の血清群に関しては2009-2013年の平均罹患率を示した(図3)。EHEC O165を除く全ての血清群において5歳未満の層で罹患率が最も高いことが示された。主要血清群全てにおいて年齢が上昇するに従って罹患率は減少する傾向が認められ、一方で10-20歳代に罹患率が上昇する傾向が認められた。EHEC O165に関しては、血性下痢を呈する症例の占める割合が高い。しかしながら、報告数が他の血清群に比較して少ないことから、今後の知見の蓄積が必要である。

2007-2011年に分離された菌株のPFGE型の類似度を比較解析した(図4)。EHEC O157と比較して、EHEC O26, EHEC O111およびEHEC O121菌株は比較的均一なPFGE型を示す集団であることが示唆された。EHEC O157菌株はゲノム配列の多様性から、さらに幾つかのグループ(クレード)に分類される。中でもクレード6およびクレード8に属する菌株はHUSから分離される頻度が他のクレードより高いことが示唆されている。O157以外の血清群に属する菌株間の病原性の相違について更に検討する必要がある。

勢戸らによってウシ糞便からのEHEC分離が試みられた。今後さらに菌株の分離・同定を行い全体像の把握に努める。また、昨年度得られた調理

従事者の検便から分離される EHEC 株との関連性について検証する必要がある。

同一 O 血清群であっても臨床由来株と環境・食品由来株とは異なる H 型を保有している場合がある。病原因子および H 型別を考慮にいれてリスク評価を行なう必要があることが甲斐らの調査により示唆された。再度、臨床分離株の血清型（オおよび H）検証し、H 型別法のための簡便なツールの開発の必要性を検討する。

### 非典型的な血清群に属する大腸菌の検出系開発に関する研究

2011 年のドイツの O104 集団事例のように非典型的な O 血清群による大規模事例が発生した際には、現状の検査体制では対応が困難な可能性がある。少なくとも既知の大腸菌血清群に関しては型別可能な状況にしておく必要がある。国内で容易に入手可能な型別用血清では、型別不能な血清群（例えば O104）が存在する。そのため、本研究班において大腸菌の O 血清群を PCR 法にて推測する方法（O-genotyping）を確立した。-詳細は井口分担報告書-

この網羅的 O-genotyping 法に加えて、主要血清群に特化し、汎用されることが期待されるマルチプレックス PCR 検出系（EHEC One-shot PCR 法）、ならびに O157 およびその他の主要血清群に属する抗体価測定系の系を利用して菌不分離症例に関する利用法の検討を行った。EHEC One-shot PCR 法は 7 つの主要血清群（O157, O26, O111, O121, O103, O145, O165）の O 抗原合成遺伝子群をそれぞれ特異的に増幅する PCR プライマーセットと 3 種の病原因子（*stx1*, *stx2*, *eae*）を特異的に増幅する PCR プライマーセットを用いて 10 遺伝子を一度に増幅出来るマルチプレックス PCR 系である。

非典型的な HUS（atypical HUS; aHUS）治療には補体阻害剤（エクリズマブ）の使用（H25 年 9 月）が認可された。aHUS の診断のためには EHEC 感染を除外する必要がある。EHEC 感染の除外は、便からの EHEC 分離同定が困難な場合は必ずしも容易ではない。患者血清中の抗大腸菌抗体価を測定することで、菌株が分離されない場合は原因となった EHEC を推定することが可能である。

消化器症状が先行する HUS の鑑別診断のために図 5 に示すスキームを作成し、検討を行った。

（第 1 ステップ）便からの EHEC 分離同定

→ 陽性であれば EHEC 感染症（+HUS）

→ 陰性であれば第 2 ステップへ

（第 2 ステップ）主要 O 血清群に対する血清診断。

→ 陰性であり、かつ便が保存されている場合は第 3 ステップへ

→ 陽性であれば EHEC 感染症（+HUS）

便が保存されている場合は、EHEC One-shot PCR 法により EHEC の存在が推定される場合は、通常の分離培養あるいは免疫磁気ビーズによる標的 EHEC の濃縮作業を行い、分離同定を試みる。

（第 3 ステップ）EHEC One-shot PCR 法による便検体の検査。

全て陰性：EHEC による HUS である可能性は少ないと判断。

病原因子陽性（主要 O 血清群陰性）

→ 第 4 ステップへ

（第 4 ステップ）網羅的 O-genotyping 法の実施

全て陰性：EHEC による HUS である可能性は少ないと判断。

大腸菌 O 抗原合成遺伝子のいずれか（複数を含む）が陽性

→ 第 5 ステップ A および B へ

（第 5 ステップ A）血清診断（主要血清群以外）

網羅的 O-genotyping で陽性となった O 血清群の参照株を用いて血清診断を実施

陰性 → 第 5 ステップ B へ

陽性 → EHEC 感染症（+HUS）、さらに追加で第 5 ステップ B

（第 5 ステップ B）便からの EHEC 分離同定を再度実施。網羅的 O-genotyping で陽性となった O 血清群に対する抗体を用いた免疫磁気ビーズによる標的 EHEC の濃縮作業を行い、分離同定を試みる。

EHEC が不分離例においては上記のスキームにおいて解析をすすめていき、実際の知見を収集することで問題点の把握と改善に努める必要がある。また、判定が容易な血清診断ツールとしてラテックス凝集検査系の確立を目指す。

### non-O157 EHEC のゲノム配列決定

本年度は、昨年から進めてきた 3 種類の non-O157 EHEC（O121:H19, O145:HUT, O165:H-）の完全長ゲノム配列の決定が終了し、ファージ領域等のアノテーションも終了した（他のゲノム領域については現在進行中）。また、各血清型の国内分離株・欧州分離株を収集し（血清型毎に 29～47 株）、現在、そのドラフトゲノム配列を決定中である。一方、昨年までの解析でヒトでの集団感染を起こしうる腸管病原体であることが明らかとなった *E. albertii* に関しても、昨年度に全ゲノム配列の取得に成功した 4 株（1 株は Stx2f 産生株）に次いで、24 株（Stx2f 産生株を 1 株含む）のドラフトゲノム配列を決定した。さらに、菌種内およびゲノム配列決定済みの大腸菌株とのゲ

ノム比較により、本菌種のコアゲノム情報、遺伝的特性、大腸菌との相違点や本菌が保有する病原遺伝子群などが明らかになった。(詳細は林 分担報告)

2011年に富山県を中心に発生した EHEC O111 集団食中毒事例株の特徴を俯瞰的かつ包括的にゲノムレベルで解明するため、本事例の富山の溶血性尿毒症症候群(HUS)患者由来分離菌株(EHEC O111 110512 株)の完全長ゲノム配列決定を行っている。現段階で、染色体の gap 箇所は *stx2* ファージを除く  $\lambda$  ファージおよび、パラログ遺伝子を含む 10 箇所である。また、本菌には、plasmid が 7 つ存在する事が明らかとなった。その内、2 つ plasmid 上に、病原因子と予測される 2 つの Type V secretion system 型の protease (EpeA および EspC) がそれぞれ 1 つずつ存在していた。また、EpeA が存在する plasmid には、テトラサイクリン、アンピシリン、ストレプトマイシン耐性に関わる薬剤耐性遺伝子も存在していた。更に、本菌には Colicin-E5 プラスミドも存在していた。本菌の有する plasmid の特徴と、これまで報告されていた薬剤耐性試験およびコリシン活性試験の結果が一致した。染色体配列のみならず、plasmid も含めた包括的な解析を行い、本菌の特徴を解析する必要があると示唆された。(詳細は黒田 分担報告)。

綿引らは、本事例株に関して、特に *Stx2* プロファージの染色体上での安定性について解析を行った。今回、臨床検体および分離株から分離した 5 株の *Stx2* ファージの構造を比較し、多型領域を検出した。特に領域 1、2 および 3 と特定した領域の多型(型別)を血清群 O111 および O157 の混合感染が示唆されたグループの患者分離株の遺伝子型別を実施したところ、*in vivo* で 2 つの血清群の EHEC 由来の *Stx2* ファージが交差感染により、*Stx2* プロファージを 2 コピー持つ株として存在する可能性が示唆された。また、O111*stx2* の *Stx2* プロファージに存在する制限/修飾酵素遺伝子が機能していることを *in vitro* 実験で確認した。

#### EHEC が産生する非典型的接着因子および毒素に関する研究

日本国内で 2012 年から 2013 年 11 月までに重症者(血便または溶血性尿毒症症候群発症者)から分離された腸管出血性大腸菌(EHEC)のうち、主要 O 血清群に属する EHEC が共通に保有する病原性遺伝子は志賀毒素遺伝子に加え、接着因子である Intimin をコードする *eae* 遺伝子である。国内における非典型的な EHEC の分離状況およびそれらが保有する病原性遺伝子の分布状況について解析する目的で、2012 年から 2013 年 11 月までに国内で分離された上記の 7 血清群を除く O 血清群で重症者由来株 (n=14) について *eae* の分布状況を解析した。その結果、約 43% (6 株) が *eae* 陰

性の非典型的な EHEC (LEE-negative EHEC) であることが判明した。これら 6 株のうち、4 株は接着因子として *Saa* を保有する株であった。既存のタンパク質性接着因子が同定されなかった残り 2 株について宿主細胞への接着性を解析したところ、培養細胞への接着性は確認できなかった。一方、2007-2011 年に見出された重症者由来の EHEC のうち、既存のタンパク質性接着因子 (LEE, *Saa*, *Eib*) を保有しなかった 2 株(いずれも O115:H10) を含むすべての LEE-negative EHEC O115:H10 (n=6; すべて下痢原性) は分散性接着型で効率よく培養細胞へ接着することが確認された。これら 6 株の MLST (multi locus sequencing typing: MLST) 型を解析したところ、ST10 であることが判明した。

Non-O157 型の腸管出血性大腸菌が産生する SubAB は ER ストレスセンサー蛋白質の一つである PERK の活性化を促し、ユビキチン・プロテアソーム依存性の細胞致死(アポトーシス)、細胞周期の停止、一過性の蛋白質合成阻害を引き起こすこと、また、LPS 誘導性のマクロファージからの NO 産生を阻害すること等を明らかにしてきた。本研究では、SubAB がどのように宿主細胞に取り込まれているか解析した。SubAB は lipid-raft, actin 依存性に細胞内に取り込まれた。また、取り込まれた SubAB はコレステロールを含んだ膜で細胞内を輸送され小胞体に移行していることが明らかとなった。

#### 動物モデルの作成

腸管出血性大腸菌 O157:H7 血清型の病原性を *in vivo* で評価する方法として、幼若無菌マウスを用いた動物モデルが報告されている。幼若無菌 BALBc/A マウスへの経口感染により非典型的腸管出血性大腸菌の病原性が比較可能かを検討した。O157:H7 血清型で高病原性とされている Clade 8 に属する株と O111 血清型の富山株を 5-6 週齢の幼若無菌 BALBc/A マウスへ経口接種した (n=6)。その結果、O157:H7 血清型 Clade 8 株を接種したマウスは 1 週間の観察期間中、接種後 5 日で全例死亡し、富山株は接種後 1 日に 1 匹死亡したのみであった。盲腸内での生菌数には有意差を認めなかったが、O157:H7 血清型 Clade 8 株においては、盲腸内での *Stx-2* 量が高い傾向にあった。一方、O111 血清型富山株によるマウス致死率は低く、毒素産生量の異なる O111 血清型菌株を用いた比較検討と腸管内での毒素産生誘導処置が無菌マウスを用いた病原性の評価に今後必要と考えられた。

#### 溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドラインの

## 作成

1) Minds のガイドライン作成基準に則った、溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン(案)を作成した。班会議を平成 25 年 6 月 26 日に開催した。さらに、幹事会を平成 25 年 9 月 5 日、10 月 10 日、11 月 26 日、平成 26 年 1 月 9 日、2 月 18 日に開催した。日本小児科学会、日本腎臓学会、日本小児腎臓病学会の各ホームページ(HP)に溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン(案)を掲載し、会員からのパブリックコメント(PC)を募集した。戴いた意見について検討し、一部意見を反映し、査読者に再度検討を戴き、溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドラインを完成させた。完成版と PC への対応を記述した表を上記 3 学会の HP に掲載した。五十嵐らによる分担研究報告の資料 1 として報告書に記載した。

2) 班員および研究協力者の共同作業により、Minds のガイドライン作成基準を遵守した溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドラインの英語版を作成した。英文チェックを行うために、native speaker として一名を研究協力者に加えた。五十嵐らによる分担研究報告の資料 2 として報告書に記載した。

3) 班員および研究協力者の共同作業により、平成 26 年度に実施する HUS による死亡患者調査表を作成した。国立成育医療研究センター倫理委員会にて審査を受け、了承された。五十嵐らによる分担研究報告の資料 3 として報告書に記載した。

## D. 考察

非典型的な EHEC の情報基盤の構築が進められた。重症化例において、原因診断に至っていない症例がどの程度あるのか未知な部分がある。

EHEC は多様な O 血清型を示す菌株が存在する。O157 以外の 6 つの O 血清群における、血性下痢を示す症例の割合、PFGE 型に基づく同一 O 血清群内における菌種内の多様性解析を実施した。ゲノム配列の取得が進んでおり、それぞれの O 血清群内におけるサブグループ化(クレード分類)と、病原性の強弱について検討が必要である。O157 内のクレード分類と各クレードによる HUS 発症率との解析から、重症化率が異なる可能性が示されつつある。しかしながら、何が重症化を規定しているのか明確な答えがでていない。腸管内での増殖とそれに誘起される宿主の炎症反応との総和として重症化を考えながら、菌側の因子として 1) 腸管細胞への接着性、2) 腸管細胞内での増殖性、3) 毒素産生性について検討を加える必要がある。また、炎症反応あるいは治療介入による毒素産生性の増強等についても検討する必要がある。動物モデルを用いた評価法の確立、特に毒素産生性の評価について詳細な検討を実施する必要がある。

EHEC が分離されない HUS 症例について、atypical HUS との鑑別が重要である。Atypical HUS との鑑別で最も困難なケースは便から EHEC が分離されないケースとなる。このような場合には血清中の大腸菌 O 抗原に対する抗体価の測定、便からの大腸菌 O 抗原遺伝子および病原遺伝子の PCR による検出系が重要となる。それらの検出系の整備が進んできており、より多くの症例においてその有用性を検討することが必要である。

診療ガイドラインの整備が完了した。EHEC 感染症による死亡患者調査をすすめることで、さらに診療ガイドラインの検証をすすめるとともに、新しい検査法、治療法のニーズを明らかにしていく必要がある。

## E. 結論

生食用食肉(牛肉)の規格基準設定、あるいは生食用の牛肝臓の取り扱いが、2011 年/2012 年に大幅に変更になった。しかしながら、2013 年度 EHEC 感染症報告数は 4000 例を超えており、減少傾向はみとめられない。4 例の死亡例も発生している。診断・治療ガイドラインを医療現場にひろめる方策が必要である。また、明らかな原因食材不明の重症例の診断ツールの普及、病原性強弱を説明するゲノム基盤、病原性の強弱を評価する系を確立することが重要である。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

1) N. Sudo, A. Soma, A. Muto, S. Iyoda, M. Suh, N. Kurihara, H. Abe, T. Tobe, Y. Ogura, T. Hayashi, K. Kurokawa, M. Ohnishi, Y. Sekine: A novel small regulatory RNA accelerates cell motility in enterohemorrhagic *Escherichia coli*. J. Gen. Appl. Microbiol.(in press).

2) 大西真: Vero 毒素産生腸管出血性大腸の特徴と疫学. 腎と透析 74; 1077-82, 2013

### 2. 学会発表 (大西関連分)

1) 大西 真 腸管出血性大腸菌感染症—最近の話題— 第 17 回腸管出血性大腸菌感染症研究会 2013. 7. 25-26 (つくば)

2) 綿引正則、木全恵子、磯部順子、関塚剛史、黒田誠、大西真、佐多徹太郎 II 型制限修復遺伝子をもつ Stx2 プロファージを保有する溶原菌が産生する制限酵素の部分精製 第 87 回日本細菌学会総会(平成 25 年 3 月 26~28 日)、東京都江戸川区(タワーホール船堀)



3) Iguchi A, Iyoda S, Ohnishi M, Development of a DNA-based system for the identification of almost all recognized *E. coli* O serogroups. Applied Bioinformatics and Public Health Microbiology 2013, 2013. 5. 15-17 (Cambridge, UK)

4) 井口純、伊豫田淳、勢戸和子、大西真、“*E. coli* O-genotyping PCR”の実用化に向けて、第17回腸管出血性大腸菌感染症研究会、2013. 7. 25-26 (つくば)

5) 井口純、秋吉充子、伊豫田淳、勢戸和子、大西真、*E. coli* O-genotyping PCRにより判定できなかったSTEC株のO抗原コード領域の解析、第34回日本食品微生物学会学術総会、2013. 10.

3-4 (東京)

6) 秋吉充子、井口純、伊豫田淳、勢戸和子、大西真、“*E. coli* O-genotyping PCR”の実用性評価、第34回日本食品微生物学会学術総会、2013. 10. 3-4 (東京)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定も含む。)

- |           |    |
|-----------|----|
| 1. 特許取得   | なし |
| 2. 実用新案登録 | なし |
| 3. その他    | なし |

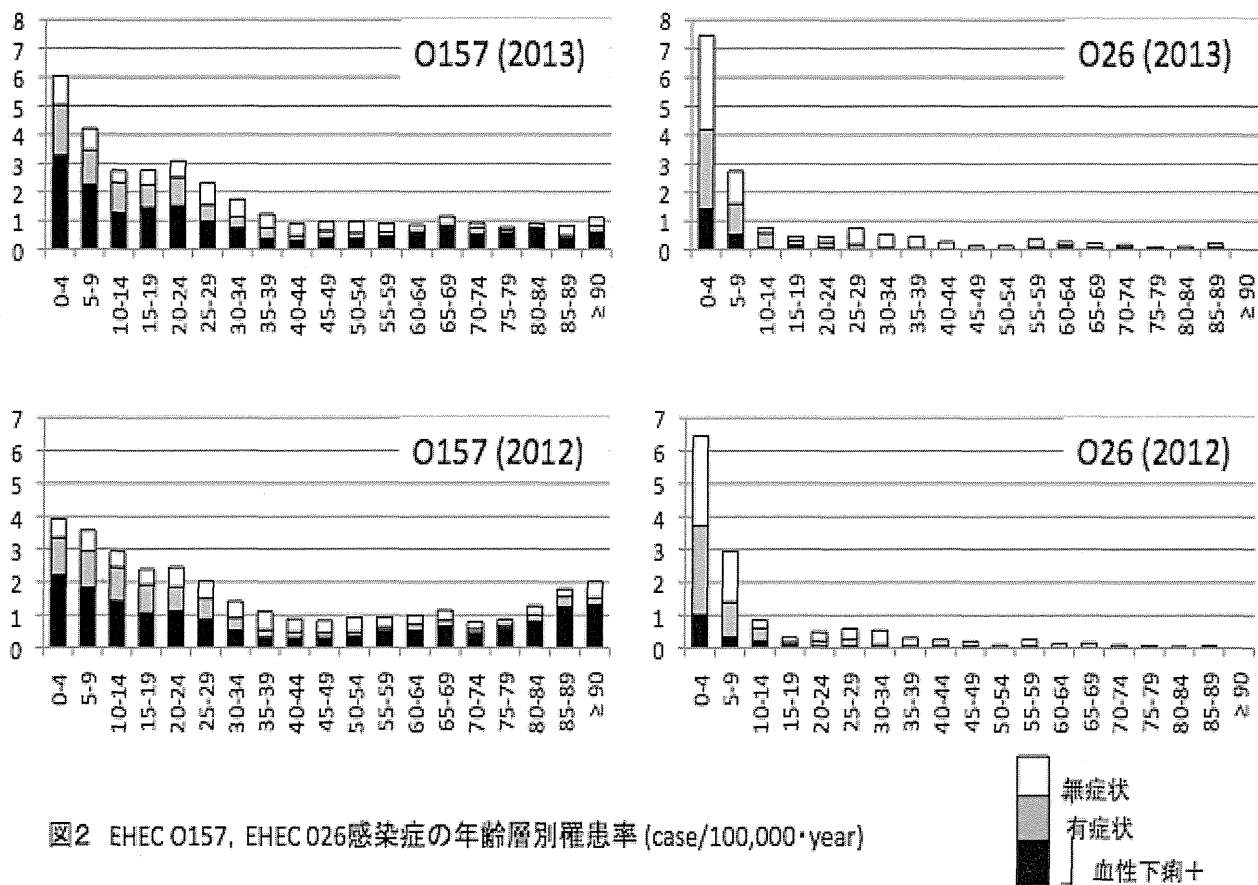


図2 EHEC O157, EHEC O26感染症の年齢層別罹患率 (case/100,000・year)

無症状  
有症状  
血性下痢+

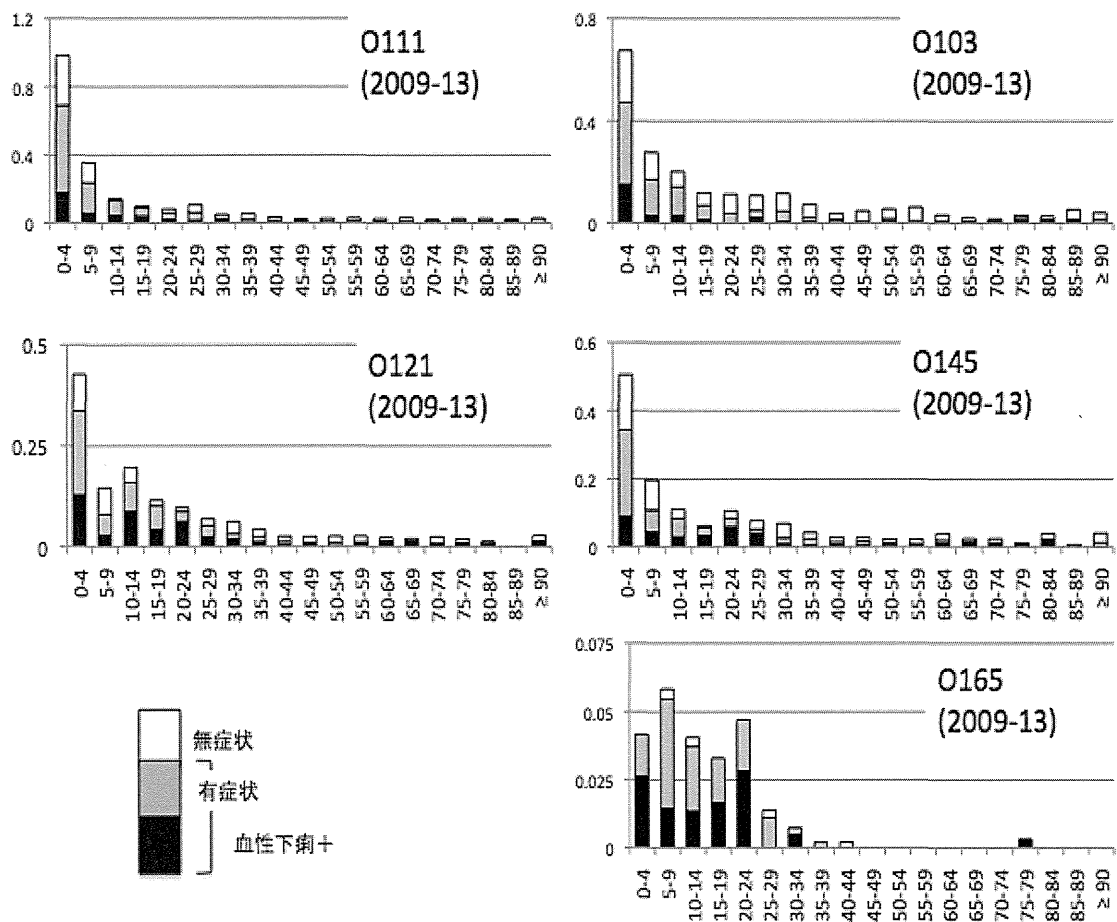


図3 EHEC O111, O103, O121, O145m O165 感染症の年齢層別罹患率 (case/100,000・year)

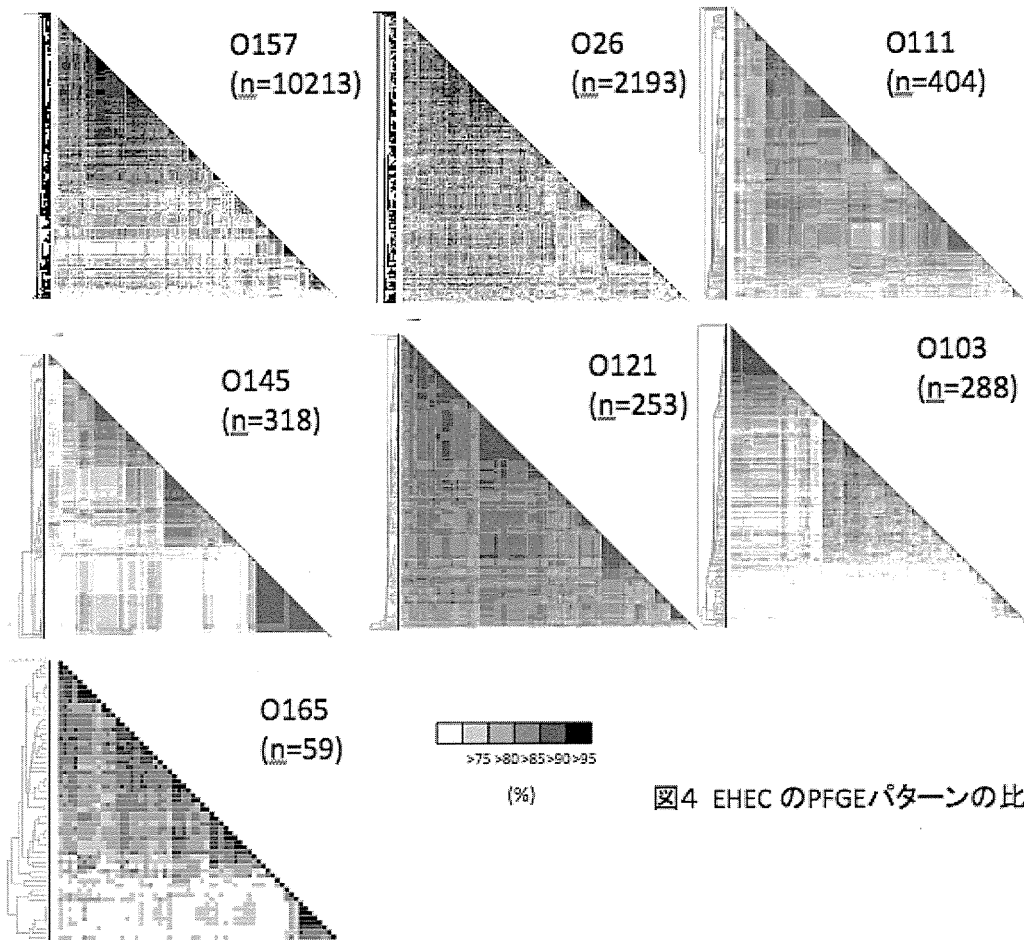
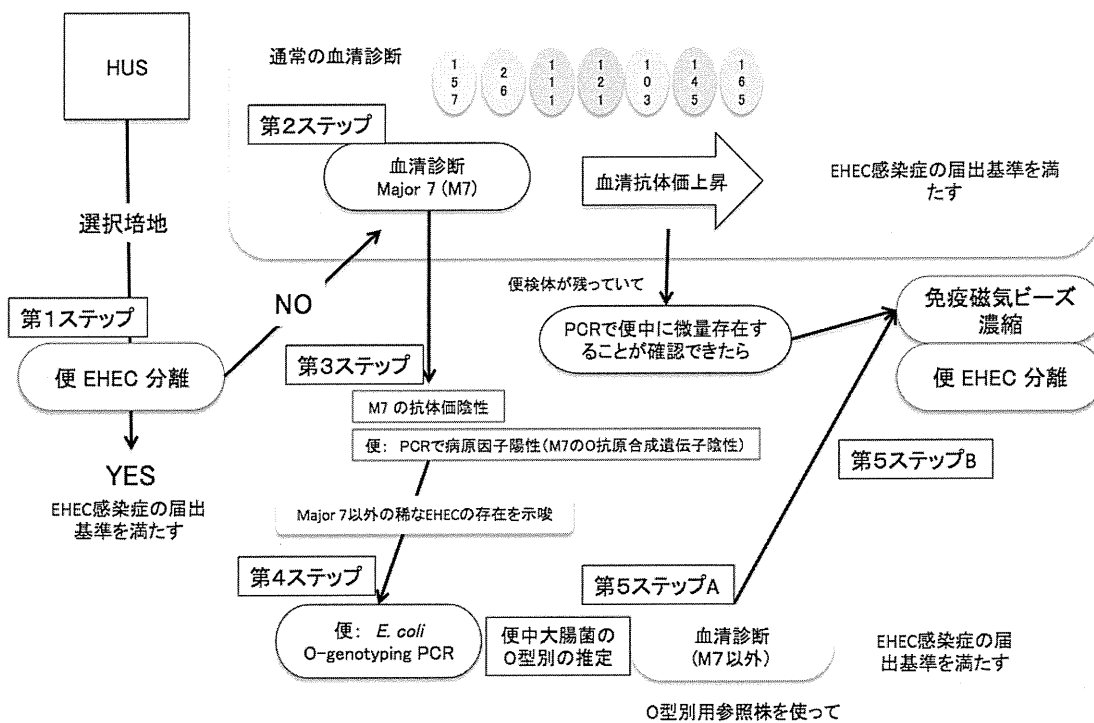


図4 EHEC のPFGEパターンの比較

**図5 EHEC分離されないHUS症例(消化器症状+)の解析**



厚生労働科学研究費補助金(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)

研究課題名(課題番号):重症の腸管出血性大腸菌感染症の病原性因子及び診療の標準化に関する研究(H24-新興-一般-012)

平成 25 年度 分担研究報告書

分担研究課題名:「国内で分離される重症者由来の非典型的な腸管出血性大腸菌に関する研究」

研究分担者: 伊豫田 淳(国立感染症研究所・細菌第一部)

研究協力者: 石原 朋子(国立感染症研究所・細菌第一部),

## 研究要旨

日本国内で 2012 年から 2013 年 11 月までに重症者(血便または溶血性尿毒症症候群発症者)から分離され、感染研・細菌第一部に送付された腸管出血性大腸菌(EHEC)のうち、分離頻度の高い(分離数が 10 以上の)O 血清群は順に O157, O26, O121, O111, O145, O103, O165 となった。これら 7 つの O 血清群に属する EHEC が共通に保有する病原性遺伝子は志賀毒素遺伝子に加え、接着因子である Intimin をコードする *eae* 遺伝子である。国内における非典型的な EHEC の分離状況およびそれらが保有する病原性遺伝子の分布状況について解析する目的で、2012 年から 2013 年 11 月までに国内で分離された上記の 7 血清群を除く O 血清群で重症者由来株(n=14)について *eae* の分布状況を解析した。その結果、約 43% (6 株) が *eae* 陰性の非典型的な EHEC (LEE-negative EHEC) であることが判明した。これら 6 株のうち、4 株は接着因子として Saa を保有する株であった。既存のタンパク質性接着因子が同定されなかった残り 2 株について宿主細胞への接着性を解析したところ、培養細胞への接着性は確認できなかった。一方、2007-2011 年に見出された重症者由来の EHEC のうち、既存のタンパク質性接着因子 (LEE, Saa, Eib) を保有しなかった 2 株(いずれも O115:H10)を含むすべての LEE-negative EHEC O115:H10 (n=6; すべて下痢原性) は分散性接着型で効率よく培養細胞へ接着することが確認された。これら 6 株の MLST (multi locus sequencing typing: MLST) 型を解析したところ、ST10 であることが判明した。

### A. 研究目的

腸管出血性大腸菌 (enterohemorrhagic *Escherichia coli*: EHEC) による日本国内における感染者は無症状保菌者を含めて年間 3,000 名から 4,000 名を数え、このうち重症者(ここでは血便または[および]溶血性尿毒症症候群[hemolytic uremic syndrome: HUS]

発症者と定義する)は全体の約 30-35%を占める(国立感染症研究所・細菌第一部の集計)。これまでの我々の研究から、2007 年から 2011 年における重症者由来株として分離頻度の多い血清群として O157, O26, O111, O121, O145, O103, O165 が明らかとなっている。これら 7 つの O 血清群に属する EHEC

は病原性遺伝子として志賀毒素遺伝子 (*stx1* と *stx2* のいずれか一方または両者) と接着因子である Intimin をコードする *eae* 遺伝子を共通に保有することが我々の研究から明らかとなっている。2011 年にドイツで発生した集団発生の原因菌は血清型 O104:H4 の *eae* 非保有性の EHEC (以下、*eae* がコードされている遺伝子領域 [locus of enterocyte effacement: LEE]- 非保有型 EHEC: LEE-negative EHEC と表記する) であり、他の下痢原性大腸菌のカテゴリーである腸管凝集性大腸菌 (enteroaggregative *E. coli*: EA<sub>g</sub>EC) が保有する病原性遺伝子群 (*agg*) を保有することから、EA<sub>g</sub>EC と EHEC のハイブリッド型 (EA<sub>g</sub>HEC) であった。そこで本研究では、日本国内において、EA<sub>g</sub>HEC を含む他の下痢原性大腸菌カテゴリーと EHEC のハイブリッド型、あるいはその他の LEE-negative EHEC の重症者由来株における分布状況、およびそれらの非典型株が保有する接着因子等の病原性因子の分布状況について解析することを目的としている。

## B. 研究方法

### 1) 血清型別

デンカ生研またはデンマーク血清学研究所から購入した抗大腸菌 O 血清 (O1-O187: 欠番として O31, O47, O67, O72, O94, O122 があり、O18, O28 および O112 はいずれも因子血清 ab または ac にさらに分類されるため、合計 184 種類存在する) および H 血清 (H1-H56: 欠番として H13, H22, H50 があるため合計 53 種類存在する) を用いて日本国内で分離されたヒト由来の EHEC の血清型別 (O:H 型別) を定法に従って行った。

### 2) PCR

*stx1* および *stx2* の PCR には Cebula らのプライマーセット (*J Clin Microbiol.* 1995 33: 248-250) または Scheutz らのセット (*J. Clin. Microbiol.* 2012, 50: 2951-2963) を使い、*saa* は Paton らのセット (*J Clin Microbiol.* 2002, 40: 271-274) を用いた。その他のプライマー (*eae*, *aggR* および *sub*) については未発表 (伊藤ら、未発表; 泉谷ら、未発表) のため、詳細はここでは省略する。Taq DNA polymerase は TaKaRa の EX<sub>Taq</sub> を使用し、サーマルサイクラーは、ABI 9700 (Perkin Elmer), T1 Thermo cycler (Biometra), DNA Engine (Bio-Rad), または T100 Thermal Cycler (Bio-Rad) を使用した。

### 3) Eib 保有状況の解析

LEE-negative EHEC に特異的に見出される接着遺伝子 *eib* は PCR 検出系が確立されていないため、Eib 蛋白質 (*E. coli* immunoglobulin-binding protein) の特性であるイムノグロブリン結合 (ヒト IgG [Fc の部分] への結合) 活性をヒト IgG (Fc)-HRP を用いてウエスタンブロット法によって解析した。

### 4) 細胞接着性の解析

HEp-2 を用いて大腸菌の培養細胞への接着性を定法に従って解析した。

### 5) Multi locus sequencing typing (MLST) 解析

大腸菌の 7 つのハウスキーピング遺伝子 (*adhA*, *fumC*, *gyrB*, *icd*, *mdh*, *purA*, *recA*) の塩基配列情報を情報によって取得し、インターネット上の次のサイト (<http://mlst.ucc.ie/mlst/dbs/Ecoli>) 上で解析を行った。

## C. 研究結果

#### 1) 血清型別

2007年から2011年までに分離された重症者由来の EHEC 株は分離頻度の高い順に O157, O26, O111, O103, O145, O121, O165 となっていた (H24 年度当研究班分担報告書)。その後 2012 年から 2013 年 11 月までに分離された重症者由来の EHEC 株として分離頻度の高い O 血清群は順に O157 (80%), O26 (8.7%), O121 (3.4%), O111 (2.4%), O145 (2%), O103 (1.8%), O165 (0.57%) となっており、これらの O 血清群の EHEC は病原性 (接着) 遺伝子として *eae* を保有することが判明している。これらに続いて重症例が多かった血清群 O55 の 3 株はいずれも LEE 保有型、O91 の 2 株はいずれも LEE 非保有型であることが判明した (資料 1)。

日本国内における重症者由来の非典型的な EHEC (LEE-negative EHEC) を同定するために、上記の 7 血清群および O91 以外の O 血清群に属する重症者由来の EHEC を抽出した。その結果、疫学的に関連性のない 14 株が存在することが明らかとなった。

#### 2) LEE-negative EHEC の検出

1)で明らかとなった 14 株のうち *eae* の保有状況を PCR で解析したところ、LEE-negative EHEC は 6 株であった (約 43%)。

#### 3) *saa*, *Eib*, *subA* の分布状況の解析

2)で明らかとなった 6 株のうち、4 株は *saa* 保有株 (約 76%)、2 株は *eae*, *saa*, *Eib* いずれの接着遺伝子 (因子) も保有しない株で、血清型はそれぞれ O18:H7 と O141:H-であった。なお、2011 年のドイツ集団発生株で見られたハイブッドタイプ (EA<sub>g</sub>gHEC) は存在しなかった。

#### 4) 培養細胞への接着形態の解析

これまでの解析から、LEE を保有する EHEC 株は局所接着性、*Saa* を保有する株は分散型接着性、*Eib* を保有する株は鎖状接着性を示すことがそれぞれ判明している。これらの接着パターンと保有する接着因子の分布は分散型接着性以外では相関があると考えられている。上記 3)の解析から、これらの接着因子をいずれも保有しなかった 2 株の培養細胞 (HEp-2) への接着性を解析した。通常の培養条件 (LB 培地で越夜振とう培養した条件) では、これらの株の培養細胞への接着性は確認できなかった。一方、2007-2011 年の分離株の解析から明らかとなった重症者由来 LEE 非保有型の EHEC のうち、既存のタンパク質性接着因子が同定されなかった 2 株 (n=2; いずれも血清型 O115:H10) は培養細胞への接着性が確認された (資料 2)。さらに、2007-2011 年に分離されたその他の LEE-negative EHEC O115:H10 (n=4; すべて下痢原性 EHEC) も効率よく培養細胞へ接着することが確認された (データ省略)。

#### 5) EHEC O115:H10 の MLST 解析

4)で培養細胞への接着性が確認できた 6 株の O115:H10 について MLST 解析を行った。その結果、上記の 6 株すべてが ST10 に属することが明らかとなった。

#### 6) Sub の分布状況

Stx 以外のベロ細胞毒素として *Saa* を保有する EHEC 株に存在することが見出された Sub (Subtilase toxin) は、国内での分布状況についてはこれまで不明な点が多かった。上記の 2012-2013 年分離の重症例由来 LEE-negative EHEC 株での分布解析を行った

ところ、6株中3株に存在することが明らかとなった。Saa, Eib および Sub はいずれもこれまで調べた限り、LEE-negative EHEC のみ存在することが明らかとなっている。

#### D. 考察

本研究から、日本国内における重症者に由来する LEE-negative EHEC の分布が明らかとなった。上述した通り、国内で分離頻度の高い7血清群のほとんどすべては接着遺伝子群として LEE を保有する。従って、日本国内で分離される大部分の重症者由来株は LEE を保有する株であるといえる。一方で、LEE-negative EHEC による重症例由来株は2012-2013年の間に少なくとも6株存在し(2007-2011年には17株)、そのうち4株は接着遺伝子として *saa* を保有することが明らかとなった(2007-2011年の17株中では14株)。*saa* はオーストラリアで発生した HUS 発症者数名から分離された接着因子であり、LEE-negative EHEC に特異的に存在することが明らかとなっている。本研究から、日本国内の分離株にも広く存在することが明らかとなったことから、LEE-negative EHEC の重要なマーカーの1つであると考えられる。Stx 以外のペロ毒素をコードする *sub* は6株3株に存在することが明らかとなった(2007-2011年の17株中では9株)。今後、これらの病原性遺伝子の重症者以外の症状または無症状由来の EHEC における分布状況を解析することで、重症化への貢献度を解析する必要がある。

現時点ではマイナーな菌株であってもそれらが保有する病原性遺伝子について詳細な解析を行っておくことは、将来を見据えた

EHEC の感染症対策に重要であると考えられる。

#### E. 結論

・2012年から2013年11月までに分離された重症者由来の EHEC 株は分離頻度の高い O 血清群は順に O157 (80%), O26 (8.7%), O121 (3.4%), O111 (2.4%), O145 (2%), O103 (1.8%), O165 (0.57%) となっており、これら以外の O 血清群に属する重症者由来株は14株存在した。

・上記の7大 O 血清群に次いで重症例が分離数が多かった O55 は O157, O26, O111, O103, O145, O121, O165 と同様すべて LEE-positive、O91 は LEE-negative であった。

・上記の14株のうち、6株が LEE-negative EHEC であることが判明した。

・6株の LEE-negative EHEC のうち、4株は接着因子として Saa を保有し、Eib やドイツ株と同様な Agg を保有する株は存在しなかった。

・LEE-negative EHEC に特異的に見出される志賀毒素以外のペロ細胞毒素である Sub は6株中3株に存在することが明らかとなった。

#### F. 健康危機情報

なし

#### G. 研究発表

なし

資料1: Prevalence of O serogroup and LEE among BD- and/or HUS- derived EHEC strains (2012-2013, n=1,763)

O157, O26, O121, O111, O145, O103, O165, and O55:

LEE-positive

O91:

LEE-negative

O group	total number	HUS and/or BD (HUS)
O157	3,401	1,411 (69)
O26	1,136	153 (3)
O121	189	60
O111	375	43 (3)
O145	179	35 (2)
O103	241	31
O165	23	10 (1)
O55	8	3
O91	52	2
others	133	10 (1)
OUT	58	5

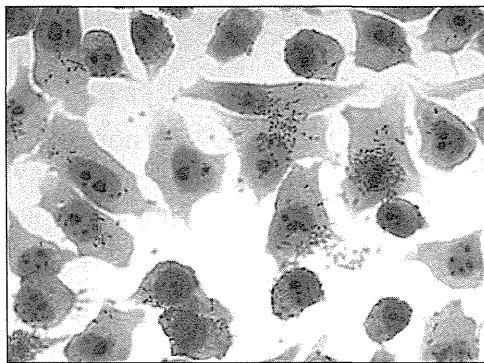
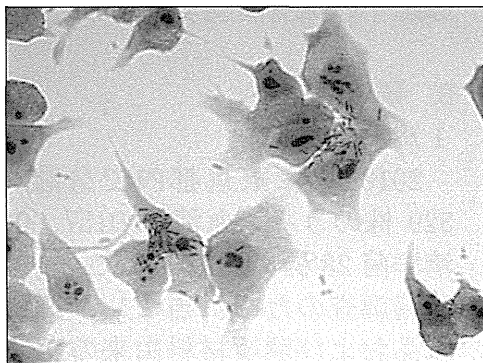
7 major O groups

HUS: hemolytic uremic syndrome  
BD: bloody diarrhea

資料2: BD- and/or HUS-derived LEE-negative EHEC (2007-2011)

*eae-*, *saa-*, *eib-*: 2 strains (O115:H- [n=2], ST10)

Adhesion pattern to HEp-2 cells





厚生労働科学研究費補助金（新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業）  
分担研究報告書

非典型的 EHEC のプロファイリングに関する研究

研究分担者	甲斐 明美	(東京都健康安全研究センター・微生物部)
研究協力者	小西 典子	(東京都健康安全研究センター・微生物部)
	石塚 理恵	(東京都健康安全研究センター・微生物部)
	齊木 大	(東京都健康安全研究センター・微生物部)
	尾畑 浩魅	(東京都健康安全研究センター・微生物部)
	仲真 晶子	(東京都健康安全研究センター・微生物部)

研究要旨：

主要 3 血清型以外の EHEC に関する基礎データを把握することを目的として、東京都で分離された non-0157 EHEC を対象に分離状況および接着因子等の病原因子保有状況を調べた。2013 年に東京都内で分離された EHEC のうち 0157, 026, 0111 以外の血清群菌は、28 株 (8.5%) であり、2008 年～2012 年の 8.7% とほぼ同じ割合であった。28 株は 6 種類の血清群および OUT に型別された。

付着因子等の病原遺伝子保有状況について調べた結果、血清群 0103, 0145, 0121, 076 の全ての株が *eae* 遺伝子保有株であり、その大部分が有症者由来であった。

2013 年に分離数が多かった血清群 0121 について、ヒト由来株と食品・環境由来株の比較を行った。ヒト由来株は全て 0121 : H19 (VT2 産生または VT1+VT2 産生) で *eae*, *hlyA* 遺伝子保有であるのに対して、食品・環境由来株は 0121 : H10 (VT2 産生株) で H 型が異なり、いずれの病原因子も陰性であった。

A. 研究目的

腸管出血性大腸菌 (EHEC) による食中毒・感染症患者は、全国で毎年 3,000～4,000 例報告されており、減少傾向は認められず、横ばい状態が続いている。

毎年、原因血清型の多くは血清群 0157 によるものであるが、0157 以外の non-0157 EHEC による感染例も少なくない。non-0157 EHEC による食中毒・感染事例の原因血清型としては、血清群 026, 0111, 0121 等が比較的多く報告されている。しかし、2011 年にドイツを中心に発生した大規模食中毒では 0104 : H4 (VT2 産生) というこれまでほとんど報告されて来なかった血清型菌が原因となった。今後、日本でもこのようなマイナーな血清型菌による大規模集団食中毒・下痢症が発生する可能性も否定できない。そこで非典型的 EHEC 感染症に対応する

ための基礎データを把握することを目的として、2013 年に東京都で分離された non-0157 EHEC を対象に分離状況および病原因子の保有状況を調べた。

B. 研究方法

1) 供試菌株

2013 年に東京都内で分離された EHEC 329 株のうち、血清群 0157, 026 以外の血清群菌 28 株を対象とした。また食中毒の原因菌調査のために当センターに搬入された食品および環境材料由来の血清群 0121 の 7 株を供試した。

2) 病原因子保有状況

既知の付着因子あるいは病原因子である *eae*, *saa*, *hlyA*, *aggR*, 新しい毒素として報告されている SubAB に関与する *subA* 遺伝子について保有状況を調べた。

## C. 研究結果

### 1) EHEC の分離状況

2013 年に東京都内で分離された EHEC 株は 329 株であった (表 1)。そのうち 0157 が 254 株 (77.2%) で最も多く、次いで 026 が 47 株 (14.4%) であった。この上位 2 血清群で全体の 91.5% を占めており、2 血清以外の血清群菌は 28 株 (8.5%) であった。

血清群 0157, 026 以外の 28 株を対象に血清型別試験を実施したところ、6 種類の血清群に分類された。最も多く分離されたのは 0103 で 10 株 (3.1%)、次いで 0145 (7 株, 2.1%)、0121 (4 株, 1.2%)、076, 091, 0115 は各 1 株 (0.3%) 血清型別不能 (OUT) が 4 株 (1.2%) であった。

### 2) 分離菌と症状

分離された EHEC について、その由来を症状の有無によって比較した (表 2)。その結果、有症者から高率に検出された血清群は 0103 (有症: 7, 無症: 2, 不明 1)、0145 (有症: 6, 無症: 1)、0121 (有症: 2, 不明: 2)、であった。血清群 076 が検出された 1 名は HUS 発症が確認された。血清群と症状の傾向は 2008 年~2012 年に分離された株でも同様であった。

### 3) 遺伝子保有状況

病原因子である *eae*, *saa*, *hlyA*, *aggR*, *subA* 遺伝子の保有状況を表 3 に示した。

#### (1) インチミン遺伝子 (*eae*)

供試した 28 株中 23 株が陽性であった。血清群 0103, 0145, 0121 および 076 は分離された全ての株で *eae* 陽性であった。その他、OUT 株 4 株中 1 株で *eae* を保有していた。

#### (2) STEC アドヘシン遺伝子 (*saa*)

供試した 28 株中全て陰性であった。

#### (3) ヘモリシン遺伝子 (*hlyA*)

*hlyA* の保有率は血清型によって異なっており、0103, 0145, 0121, 076, 091 は 100% 陽性であった。OUT 株 4 株中 1 株が陽性となった。

#### (4) SubAB 毒素関連遺伝子 (*subA*)

新しい毒素として報告されている SubAB 保有状況について泉谷らのプライマーを用いて調べた結果、1 株 (OUT) が陽性であった。

#### (5) 凝集接着性遺伝子 (*aggR*)

*aggR* を保有している株は認められなかった。

## 4) 食品・環境由来 0121 株との比較

食中毒の原因究明および感染経路の調査のために当センターに搬入された食品および環境材料から分離された血清群 0121 とヒト由来 0121 株の比較を行った。0121 は、食品 4 検体および調理場のふき取り 3 検体から合計 7 株検出された (表 4)。血清型はいずれも 0121 : H10, VT2 産生株であり、ヒト由来株の血清型 0121 : H19 とは H 型が異なっていた。ヒト由来株では分離株全てが *eae*, *hlyA* 陽性であったが、食品・環境由来株ではいずれの病原因子も陰性であった。

## D. 考察

2013 年に東京都内で分離された 329 株のうち血清群 0157 は 254 株 (77.2%)、026 は 47 株 (14.3%) で、この 2 血清群で分離株の 90% 以上を占めていた。東京都では毎年 0157 の占める割合が高く、2013 年も例年と同様の傾向であった。0157, 026, 0111 以外の血清群菌は 28 株 (8.5%) であり、2008 年~2012 年の 8.7% とほぼ同じ割合であった。28 株は 6 種類の血清群および OUT に型別された。

重症化 (HUS 発症) が確認されたのは、0157 の 2 名と 076 の 1 名のみであった。

付着因子等の病原遺伝子保有状況についてみると血清群 0103, 0145, 0121 は全ての株で *eae*, *hlyA* を保有していた。また、血清群 076 は HUS 患者由来であり、*eae* および *hlyA* 遺伝子を保有していた。091 の 1 株は、無症状病原体保有者由来であるが、*hlyA* 遺伝子を保有していた。

OUT 株 4 株中 2 株がいずれかの病原遺伝子保有株で、1 株は入院患者由来で *eae* お

よび *hlyA* 遺伝子を保有していた。他の 1 株は、無症状病原体保有者由来であるが、*hlyA* および *subA* 遺伝子を保有していた。すなわち、本年度の分離株においても、有症者由来株の大部分の株が *eae* 遺伝子を保有している成績であった。

食品・環境由来株のうち、2013 年に分離数が多かった血清群 0121 について、ヒト由来株との比較を行った。ヒト由来株 4 株の血清型は全て 0121 : H19 で VT2 産生株が 3 株、1 株は VT1+VT2 産生性であった。一方、食品・環境由来株は 0121 : H10 (VT2 産生性) であり、ヒト由来株とは、H 血清型が異なっていた。また、病原因子はいずれも保有していなかった。同じ O 血清群、毒素型であっても、ヒト由来と食品・環境由来株では H 血清型、病原因子の保有状況が異なることがあるため、今後、食品等から分離された EHEC についても病原因子等の保有状況について精査する必要があると考えられた。

今回実施した血清型別試験は、市販されている病原大腸菌免疫血清 (デンカ生研) を用いて型別を行なったため、血清型別不能となった株が 4 株あった。これらの株については今後、自家血清あるいは PCR 法による解析等を用いて詳細に検討する予定である。

#### E. 結論

2013 年に東京都内で分離された 329 株のうち、血清群 0157 および 026 以外の株は 28 株 (8.5%) であった。それらの血清群は、0103 (10 株, 3.1%), 0145 (7 株, 2.1%), 0121 (4 株, 1.2%), 076, 091, 0115 は各 1 株 (0.3%), OUT が 4 株 (1.2%) であった。

重症化 (HUS 発症) が確認されたのは、0157 の 2 名と 076 の 1 名のみであった。

付着因子等の病原遺伝子保有状況についてみると有症者からの分離が多い血清群 0103, 0145, 0121 は全ての株で *eae*, *hlyA* を、また HUS 患者由来の 076 も *eae* および *hlyA* 遺伝子を保有していた。OUT 株の内、

入院患者由来の 1 株は *eae* および *hlyA* 遺伝子を保有していた。すなわち、本年度の分離株においても、有症者由来株の大部分の株が *eae* 遺伝子を保有している成績であった。

2013 年に分離数が多かった血清群 0121 について、ヒト由来株と食品・環境由来株の比較を行った。ヒト由来株は全て 0121 : H19 (VT2 産生または VT1+VT2 産生) で *eae*, *hlyA* 遺伝子の保有であるのに対して、食品・環境由来株は H 型、病原因子の保有状況が異なっていた。

#### F. 健康危険情報

非定型的 EHEC と重症化因子について早急に調べる必要がある。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表 準備中

##### 2. 学会発表

1) 畠山 薫, 小西典子, 貞升健志, 甲斐暁美 : 東京都内でヒトおよび動物から分離された志賀毒素産生性大腸菌 O91 株の疫学解析, 第 17 回腸管出血性大腸菌感染症研究会, 2013 年 7 月, 茨城県.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

無し

##### 2. 実用新案登録

無し

##### 3. その他

表1. ヒトから分離された腸管出血性大腸菌 (2013年, 東京都)

血清群	菌株数(%)		産生毒素		
			VT1	VT2	VT1+VT2
O157	254	(77.2)	1	106	147
O26	47	(14.3)	29	18	
O103	10	(3.1)	10		
O145	7	(2.1)	1	6	
O121	4	(1.2)		3	1
O76	1	(0.3)		1	
O91	1	(0.3)	1		
O115	1	(0.3)	1		
OUT	4	(1.2)	3		1
合計	329	(100.0)	46	134	149

表2. 血清群別発症状況

血清群	事例数	症状			HUS
		有	無	不明	
O103	10	7	2	1	
O145	7	6	1		
O121	4	2		2	
O76	1	1			1
O91	1		1		
O115	1			1	
OUT	4	1		3	
計	28	17	4	7	1