

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業）

令和4年度 総括研究報告書

「感染症の病原体を保有していないことの確認方法について」の改定に資する研究

研究代表者 五十嵐 隆（国立成育医療研究センター 理事長）

研究要旨

腸管出血性大腸菌（Enterohemorrhagic *Escherichia coli*; EHEC）に感染した患者および無症状病原体保有者は、二次感染の要因となるため、排菌をしていない事の確認のために便培養による陰性化確認を行っている。しかしながら、現行の陰性確認基準の妥当性についての検証は不十分であり、菌陰性化判定が困難な長期保菌例や陰性化確認後の二次感染例の詳細な疫学も明らかではない。本研究ではこれらの問題を解消するために国内の疫学調査、国内外のエビデンスの再検証、排菌期間に関する実地疫学調査、菌株の解析を行った。その結果、腸管出血性大腸菌の陰性化確認方法に関わるエビデンスを検証し、病原体検出マニュアルの改訂を行った。令和4年度はこのマニュアルが公開されたことに加え、新たに川崎市におけるEHEC病原体保有者の排菌期間に関する後方視的検討を行い、抗菌薬不使用の患者の排菌期間は抗菌薬使用患者と比較してやや長い傾向があること、一方で無症状病原体保有者において抗菌薬は排菌期間に大きく影響を与えないことが示唆された。以上の研究結果を総括すると、長期排菌者について、小児、有症状者が多いこと、分離菌は低病原性の血清型が多く、遺伝子学的変化は乏しいことが判明した。感染症の病原体を保有していないことの確認方法について」の通知の改訂に際しては、対象者のリスクを踏まえた内容が妥当と考えられる。

研究分担者

宮入烈（国立成育医療研究センター）

小林徹（国立成育医療研究センター）

明神翔太（国立成育医療研究センター）

砂川富正（国立感染症研究所）

伊豫田淳（国立感染症研究所）

岡部信彦（川崎市健康福祉保健局 川崎市健康安全研究所）

A. 研究目的

本研究の目的は、腸管出血性大腸菌

（Enterohemorrhagic *Escherichia coli*;

EHEC）に感染した患者および無症状病原体

保有者に対する便検査の実施状況から、「感染症の病原体を保有していないことの確認方法について（平成11年3月30日付け健医感発第43号厚生省保健医療局結核感染症課長通知）」（以下、通知）での菌陰性化判定が困難な長期保菌例や陰性化確認後の二次感染例の詳細な疫学を明らかにし、このような事例の要因となる臨床的・微生物学的な特性を検討することである。このうえで「感染症の病原体を保有していないことの確認方法について」の改訂に係るエビデ

ンスを創出する。本研究班では、令和3年度までに EHEC の排菌期間に関する国内外の先行研究調査、国内外の保菌者に対する公衆衛生上の対応に関する調査、病原体陰性確認方法の適正化とマニュアル整備、を行ってきた。令和4年度は、全国における EHEC 感染症の発生状況調査、排菌期間に関するシステマティックレビュー、長期排菌者を対象とした微生物学的検討、EHEC の病原体保有者に対する抗菌薬投与と排菌期間の関連を検討する後ろ向きコホート研究を行った。

B. 研究方法

本研究班における令和4年度の研究は以下の4つの調査研究で構成される。

- ① EHEC 感染症の発生状況
- ② EHEC の排菌期間に関するシステマティックレビュー
- ③ EHEC の病原体保有者に対する抗菌薬投与と排菌期間の関連を検討する後ろ向きコホート研究
- ④ 長期排菌に関連した微生物学的特性を明らかにするための菌株解析

C. 結果

① EHEC 感染症の発生状況 (2022年)

感染症発生動向調査による EHEC 感染症の2022年届出暫定集計より、発生動向についてまとめた。EHEC 感染症の届出は3,376件、うち有症状者は2,259件(67%)であった。HUS 発症症例は58件報告されていた。EHEC の地方衛生研究所における検出例報告は1,683例で、全検出数における上位のO血清群の割合は、O157が57.6%、O26が15.2%であった。2022年は例年に比べ報告数は少なかったが、新型コロナウイルス感染症の流行以降、ほぼ例年の報告数に近づきつつある。新型コロナウイルス感染症の発生状況による EHEC の発生動向への影響も含め、引き続き注視と対応が必要である。

② EHEC の排菌期間に関するシステマティックレビュー

EHEC 保菌者の排菌期間の定義、排菌期間の長さについて調査した論文を精査し、有症状者と無症状病原体保有者、年齢、治療介入、

菌の微生物学的な違いによる排菌期間の違いを検討する目的で2596件の一次スクリーニング、318件の2次スクリーニングを完了した。解析対象となる文献30件から、合計1511人の排菌期間に関する情報を抽出した。排菌期間は中央値20-30日前後と報告している文献が殆どであったが、数ヶ月に渡る排菌事例の報告があり、最長の排菌期間は3ヶ月男児の341日間であった。各文献からは、成人より小児において、無症状者より有症状者において排菌期間が長くなる傾向があるとの記載が散見された。

③ EHEC の病原体保有者に対する抗菌薬投与と排菌期間の関連を検討する後ろ向きコホート研究

2017年1月1日から2022年12月31日に、川崎市において「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)」に基づき EHEC 感染症として届出のあった229件を対象とし、感染症発生動向調査(NESID)の情報及び保健所の疫学調査結果から情報を収集した。排菌期間の定義は、患者(有症者)の排菌開始日を①発症日、②初回陽性検体採取日の二つの場合を設定し、無症状病原体保有者の排菌開始日は初回陽性検体採取日とした。患者の排菌終了日は、2回連続検便で陰性となった1回目の検体採取日とし、無症状病原体保有者の排菌終了日は1回検便で陰性となった検体採取日とした。排菌期間は排菌開始日と排菌終了日の差の日数とした。対象者229件中、患者は172件、無症状病原体保有者は57件であった。男性の割合は各40.7%、22.8%であり、年齢分布や有症状の割合は概ね全国と同様であった。発症から初回検体採取日までの日数の中央値(範囲)は3日(-3日~38日)で受診までのタイミングを反映していた。抗菌薬不使用の患者の排菌期間は、定義①では14.5日(5~113日)、②では11日(4~108日)と、抗菌薬使用の患者①13日(7~59日)、②11日(6~56日)に比べてやや長く排菌し、かつ長期排菌者も多かった。無症状病原体保有者の排菌期間は、抗菌薬使用者は16.5日(10~23日)、不使用者は13日(6~23日)と抗菌薬不使用の方が短く、抗菌薬は排菌期間に大きく影響しないことが示唆されたが、検体採取のタイミングも関与していると思われた。いずれもその後に病状が悪化した事例はなく、無症状で長期間排菌する場合には、陰性化を目的に抗菌薬を使用する選択も可能と考えられた。経過中に複数回検査を実施した事例のうち抗菌薬不使用であった23件では、最終陽性検体採取日まで、患者では①13日(5~44日)、②8日(4~36日)、無症状病原体保有者では7日(4~10日)であり、総合的に考えると自然経過での排菌期間は患者では

概ね2週間弱、無症状病原体保有者では概ね1週間程度であると推察された。

家庭内では、患者からは接触者の7.3%、無症状病原体保有者からは1.5%に感染させ得ることから、特に患者との接触には注意が必要であると考えられた。

なお、先行して行った全国のEHEC患者に対する治療介入とHUS発症の関係の検討では、抗菌薬投与はHUS発症リスクを低下させる可能性があり（Myojin S, *PLoS One*. 2022;17:e0263349）、長期排菌者への除菌について検討する妥当性があると考えられた。

④ 長期排菌に関連した微生物学的特性を明らかにするための菌株解析

1) メタゲノム解析の結果、EHEC陽性または陰性サンプル間で菌叢が異なっていたものの、有意な差は認められなかった。継続して知見を集積することで、両サンプル間の違いをより詳細に明らかにすることができると考えられる。

2) EHEC陰性確認法の基本方針の策定

検査時間短縮のためにPCR法またはLAMP法による陰性確認法を実施可能とし、①PCRの結果は培養後の陰性確認に限定する（PCR陽性の場合には分離確認が必要）、②O157, O26, O111等選択分離培地が有効なO群については培養法のみによる確認も可能とする、③リアルタイムPCR/コンベンショナルPCR/LAMP各法の選択、DNA調製法は各施設での選択とした基本的な方針を策定し、EHEC感染症検査・診断マニュアル（感染研HPからダウンロード可能）に記述した。

D. 考察

EHECは毒素を産生し、出血性腸炎や溶血性尿毒症症候群の原因となるほか、食中毒や施設での二次伝播によるアウトブレイクの原因となるため、病原体保有者は保健所等の積極的疫学調査の対象となる。通知では、24時間以上の間隔をおいた連続2回（抗菌薬を投与例は、服薬中と中止後48時間以上経過した時点の連続2回）の便検査、無症状病原体保有者については1回の便検査で病原体が検出されなかった場合は、陰性化したと判定して良いとしている。

我々が令和3年度に実施した全国保健所を対象としたアンケートでは、この通知を元にした排菌陰性確認困難例を全国保健所の多くが経験していることが判明した。陰性化確認困難例のほとんどが長期排菌例であり、排菌期間は1ヶ月から数ヶ月に及んでいた。陰性化確認や就

表.

リスク分類	例	患者対応	無症候性病原体保有者対応
高リスク	・5歳未満の小児	・24時間以上の間隔を置	・1回

業制限をすべき対象に関してエビデンスに基づき明確に示し、長期排菌例に対する対応に関する指針を示す必要があると考えられた。また、同じく令和3年度に実施した国外調査結果の結果からは、各国と本邦における対応を比較すると、我が国における課題は排菌陰性化確認を行うべき対象者が明確でないこと、除菌に関する考え方が曖昧でその判断が現場に委ねられていることなどが挙げられると考えられた。

長期排菌に関連した微生物学的特性を明らかにするための菌株解析の研究においては、各施設で実施されている陰性化確認手法について標準化を目指した取り組みが必要であることが明らかとなった。この研究結果を元に国立感染症研究所が公表している「EHEC検査・診断マニュアル」が令和4年度に改訂された。

「感染症の病原体を保有していないことの確認方法について（以下、通知）」のEHECに関する内容においては、対象者のEHEC感染症としての重症化リスクおよび周囲への伝播リスクを考慮せずに一律同様の対応としている。

当研究班での研究結果から、通知の改訂に際しては対象者のリスクによる層別化を行うことを提案したい（表）。本研究で得られた成果を発展させガイドライン等に収載することで、下記のような活用が想定される。EHEC保菌者の排菌に関する自然経過が明らかになる。長期排菌例や陰性確認後の二次感染・再陽性化例に関する記述疫学、および臨床的・微生物学的な要因分析を行うことで、保菌者に対する検査を行う上での適切な検査タイミングを提言する。患者背景やアウトブレイクか孤発例かなどの情報をもとに陰性化確認の方法を個別化できる可能性がある。現在はEHEC病原体保有者（無症状病原体保有者、胃腸炎患者）に対する抗菌薬投与は医師の裁量で行われているがその是非に関するエビデンスは希少である。今後予定している抗菌薬投与と排菌期間の関連の検討は病原体保有者の管理指針の作成に寄与すると思われる。抗菌薬投与が排菌期間の短縮に寄与するのであれば就業制限や登園・就学制限などの社会的制約を早期に解除するための有効な対策となる。逆に抗菌薬投与が排菌期間の延長に関連しているならば不適切な抗菌薬処方を削減し、抗菌薬適正使用を推し進めるためのエビデンスとなる。これらは「感染症の病原体を保有していないことの確認方法について」のうち腸管出血性大腸菌に関する記載の改訂のためのエビデンスとなることが期待される。

	<ul style="list-style-type: none"> ・自己排泄行動が取れない者 ・飲食物の製造、販売、調整又は取り扱いの際に飲食物に直接接触する業務に携わる者 ・医療従事者 	いた連続2回 <ul style="list-style-type: none"> ・抗菌薬使用例は服薬中と服薬中止後48時間以上経過した時点の連続2回 	
低リスク	<ul style="list-style-type: none"> ・上記のいずれにも該当しない 	※低リスク患者は症状消失後、社会的隔離は必須ではない	※低リスク者の社会的隔離は必須ではない

E. 結論

「感染症の病原体を保有していないことの確認方法について」の通知改訂に際しては、EHEC 保菌者のリスクを踏まえた改訂が妥当と考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表：

- (1) **Myojin S**, Michihata N, Shoji K, Takanashi JI, Matsui H, Fushimi K, **Miyairi I**, Yasunaga H. Prognostic factors among patients with Shiga toxin-producing *Escherichia coli* hemolytic uremic syndrome: A retrospective cohort study using a nationwide inpatient database in Japan. *J Infect Chemother.* 2023 Jun;29(6):610-614. doi: 10.1016/j.jiac.2023.02.016.
- (2) **Myojin S**, Pak K, Sako M, **Kobayashi T**, Takahashi T, **Sunagawa T**, Tsuboi N, Ishikura K, Kubota M, Kubota M, **Igarashi T**, Morioka I, **Miyairi I**. Interventions for Shiga toxin-producing *Escherichia coli*

gastroenteritis and risk of hemolytic uremic syndrome: A population-based matched case control study. *PLoS One.* 2022 Feb 4;17(2):e0263349. doi: 10.1371/journal.pone.0263349.

- (3) Nishida R, Nakamura K, Taniguchi I, Murase K, Ooka T, Ogura Y, Gotoh Y, Itoh T, Toyoda A, Mainil JG, Piérard D, Seto K, Harada T, Isobe J, Kimata K, Etoh Y, Hamasaki M, Narimatsu H, Yatsuyanagi J, Kameyama M, Matsumoto Y, Nagai Y, Kawase J, Yokoyama E, Ishikawa K, Shiimoto T, Lee K, Kang D, Akashi K, Ohnishi M, **Iyoda S**, Hayashi T. The global population structure and evolutionary history of the acquisition of major virulence factor-encoding genetic elements in Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O121:H19. *Microb Genom.* 2021 Dec;7(12):000716.
- (4) Sato R, Yahata Y, Taira H, Saito T, Ishii T, Yamazaki S, Yamamoto K, Kikuchi R, Izumiya H, **Iyoda S**, Ohnishi M, Takahashi Y. Multijurisdictional

Outbreak of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 Caused by Consumption of Ready-to-Eat Grilled Skewered Meat in Niigata, Japan. Foodborne Pathog Dis. 2022 Jun;19(6):400-407.

マニュアル

- (1) 原田哲也,井口純,勢戸和子,伊豫田淳, 腸管出血性大腸菌 (EHEC) 検査・診断マニュアル 2022 年 10 月改訂, <https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/EHEC20221006.pdf>

2.学会発表：

- (1) 明神翔太, 三崎貴子, 岡部信彦, 宮入烈. 腸管出血性大腸菌保菌者への公衆衛生上の対応に関する実態調査. 第 37 回日本環境感染学会総会・学術集会. 2022 年 6 月 16 日~18 日.
- (2) Shota Myojin, Nobuaki Michihata, Kensuke Shoji, Jun-ichi Takanashi, Hiroki Matsui, Kiyohide Fushimi, Isao Miyairi, Hideo Yasunaga. Clinical characteristics and prognosis of patients with Shiga toxin-producing *Escherichia coli* hemolytic uremic syndrome and encephalopathy: A nationwide observational study in Japan. ID Week 2022. October 2022. (Washington D.C., United States of America).
- (3) Shota Myojin, Maiko Suto, Kenji Takehara, Tohru Kobayashi, Takashi Igarashi, Isao Miyairi. Survey of public health policies for Shiga-toxin

producing *Escherichia coli* carriers in eleven countries. The 54th Annual Meeting of the Japanese Society for Pediatric Infectious Diseases (第 54 回日本小児科学会総会・学術集会内 English Session として). 2022 年 11 月 5 日~6 日.

- (4) Shota Myojin, Takako Misaki, Nobuhiko Okabe, Isao Miyairi. Duration of fecal shedding among patients and asymptomatic carriers of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in Kawasaki city, Japan: a descriptive study. 22nd Annual St. Jude's/PIDS Pediatric Infectious Diseases Research Conference. (Memphis, TN, The United States of America). March 2023.

G. 知的財産権の出願・登録状況

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