

## レファレンスセンター関連会議 ⑤「大腸菌」

世話人:伊豫田 淳  
(国立感染症研究所・細菌第一部)

siyoda@niid.go.jp

ehec@niid.go.jp



# 大腸菌の血清型別について

大腸菌の血清型 O:H で決定  
(Oのみの場合 → O血清群)

O1—O187 (欠番: O31, O47, O67, O72, O94, O122)

因子血清群O18ab, O18ac, O28ab, O28ac, O112ab, O112ac  
が存在するため, 全184種類

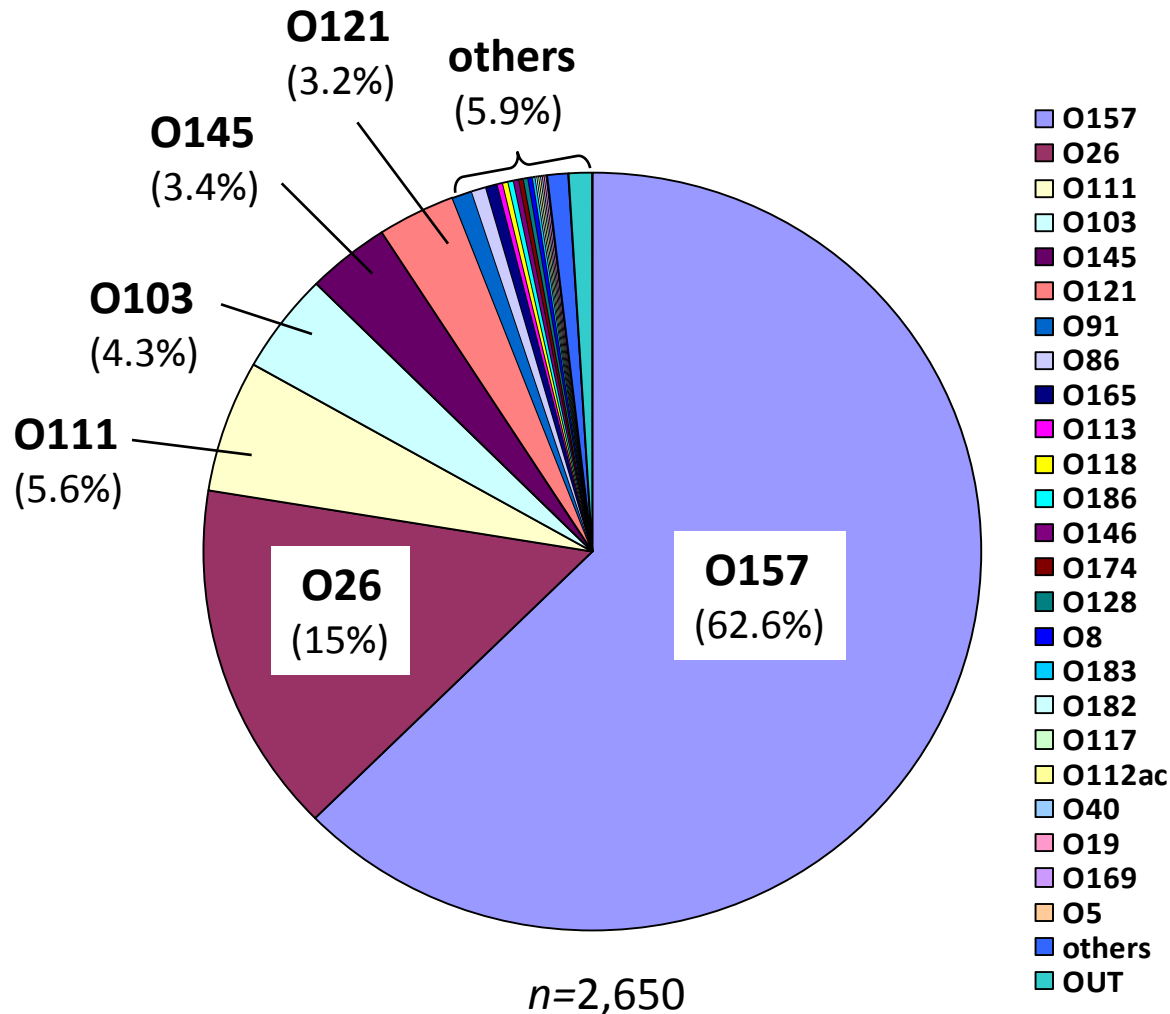
H1—H56 (欠番: H13, H22, H50)

- ・ デンマーク血清学研究所 (Statens Serum Institut: SSI)  
からの輸入品(フルセット, 国内代理店: ベリタス)
- ・ 感染研自家血清 (O182-O187を除く)
- ・ デンカ生研 (O; 50種類, H; 22種類のみ)

## デンカ生研とSSIのO血清群の表記の違いについて

デンカ	SSI	
O18	O18ab	O18ac
O28ac	O28ab	O28ac
O86a	O86	
O112ac	O112ab	O112ac
O125	O125abc	
O127a	O127	
O128	O128abc	

# Serogroup of EHEC isolates from human (2012)



(data obtained from dep of bac I)

# Prevalence of O serogroup and LEE among BD- and/or HUS-derived EHEC strains (2007-2012, $n = 17,050$ )

7 major O serogroups (O157, O26, O121, O111, O145, O103, O165) plus O177, O5, and O118:

LEE-positive EHEC

O91 and O183:

LEE-negative EHEC

O group	total number	HUS and/or BD (HUS)	%
O157	11,638	4,702 (226)	40.4
O26	2,624	434 (2)	16.5
O121	333	111 (7)	33.3
O111	662	103 (10)	15.6
O145	356	85 (4)	23.9
O103	403	54 (0)	13.4
O165	69	37 (3)	53.6
O177	9	5 (1)	55.6
O5	26	4 (0)	15.4
O91	181	3 (0)	1.66
O118	11	3 (0)	27.3
O183	34	2 (1)	5.89

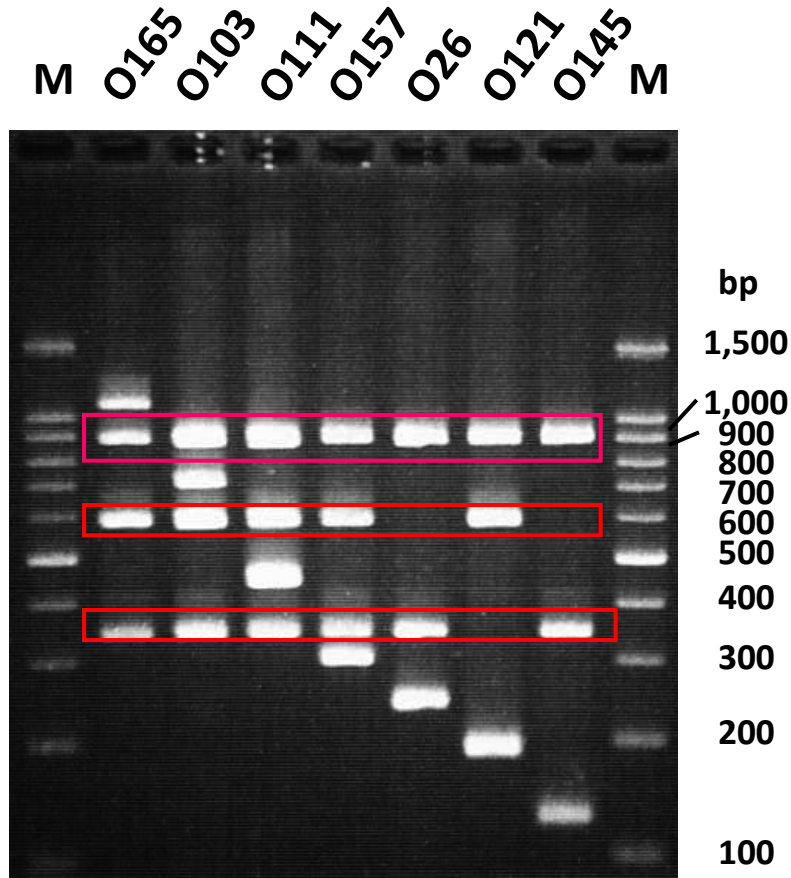
7 major O groups

HUS: hemolytic uremic syndrome  
BD: bloody diarrhea

# One-shot multiplex PCR ver.2 to detect O157, O26, O111, O121, O103, O145, O165, *stx1*, *stx2* and *eae*

10 primer sets  
in a single tube

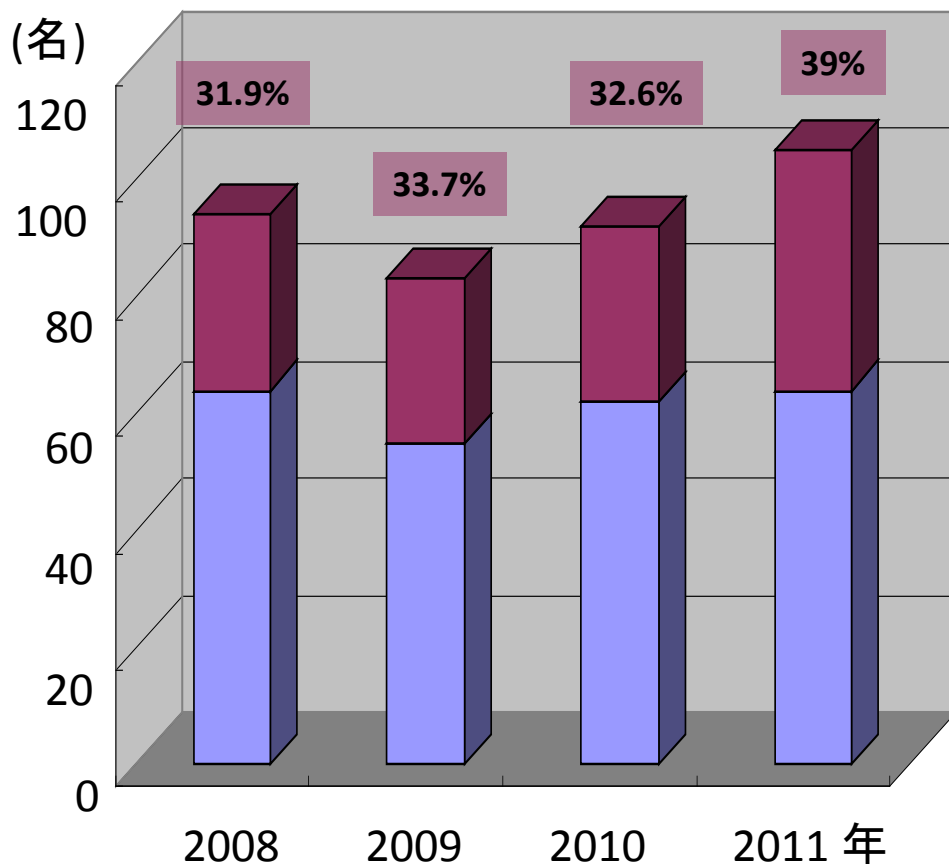
- O165 (1,042 bp)
- eae* (881 bp)
- O103 (716 bp)
- stx2* (584 bp)
- O111 (451 bp)
- stx1* (348 bp)
- O157 (296 bp)
- O26 (241 bp)
- O121 (193 bp)
- O145 (132 bp)



(Courtesy of Dr. Iguchi, Miyazaki Univ.)

# EHECの血清診断について

## HUS症例発生数とEHECの分離率



(IDWRの集計)

- 菌不分離のHUS症例数 (%)
- 菌が分離されたHUS症例数

菌不分離のHUS症例



HUS患者血清中の抗大腸菌

O157, O26, O111, O145, O103,  
O121, O165 (国内のHUS起因菌  
として90%以上を占める) 抗体価  
を測定.

陽性であれば EHEC 感染症の  
確定診断とすることが可能.



# HUS患者血清中の抗大腸菌抗体価解析結果 (2006年-2013年6月)

陽性 / 検体総数 (依頼件数) = 39 / 55

**陽性率71%**

**陽性内訳:** O157 (26件), O111 (6件), O165 (4件), O145 (1件), O121 (2件),  
O103 (1件), O26 (1件),

- 同一HUS患者血清で2種類の抗原 (O103 と O165) への陽性例 (いずれも320倍), **3種類の抗原 (O157, O121, O26) への陽性例 (いずれも1,280倍)** あり.
- 陽性例はすべて320倍以上の凝集価 (O121 陽性の1例 [160倍] を除く: 次スライド)

# HUS患者血清中の抗大腸菌抗体価解析例(1)

HUS患者： 60歳、男性、EHEC不分離

発症日 5月4日 水溶性下痢

5月7日 粘血便→血便→HUS

血清1 (5月7日) 非凝集

血清2 (5月11日) 非凝集

血清3 (5月12日) O121 (×80)

血清4 (5月13日) O121 (×160)

- ・ 発症日・臨床症状・血清採取日等の情報が重要.
- ・ 採取日の異なる複数の血清が必要 (特に発症直後と回復期).

## HUS患者血清中の抗大腸菌抗体価解析例(2)

2011年 富山・福井 O111関連事例: 富山・福井以外からの依頼分  
(すべてEHEC不分離のケース)

- ・ HUS患者1 (仙台市): 18才男性, 富山県に帰省中に「えびす」を利用. 仙台で発症

発症日 4月22日  
血清 (4月29日) O111陽性(×640)

- ・ HUS患者2 (大阪市): 14才女性, 富山県からの旅行先(大阪)で発症.

発症日 4月26日  
血清1 (4月29日) O111陽性(×320)  
血清2 (4月30日) O111陽性(×640)

- ・ HUS患者3 (横浜市): 19才女性, 神奈川県内で「えびす」を利用.

発症日 4月23日  
血清1 (4月25日) 非凝集  
血清2 (4月27日) O111陽性(×320)  
血清3 (4月28日) O111陽性(×1,280)  
血清4 (4月29日) O111陽性(×2,560以上)  
血清5, 6, 7 (4月30日, 5月1日, 2日) O111陽性(×2,560以上)

## HUS患者血清中の抗大腸菌抗体価解析例(3)

HUS患者: 4歳 男児, 2012年8月

EHEC不分離

(病院の検査室で大腸菌 O74 (*stx* 陰性)のみ分離)

発症日: 7月14日 腸炎発症, 7月17日 HUS発症

血清1: (7月18日) O157陽性(×160)

血清2: (7月21日) O157陽性(×640)

血清3: (7月29日) O157陽性(×320)

血清4: (8月 4日) 非凝集

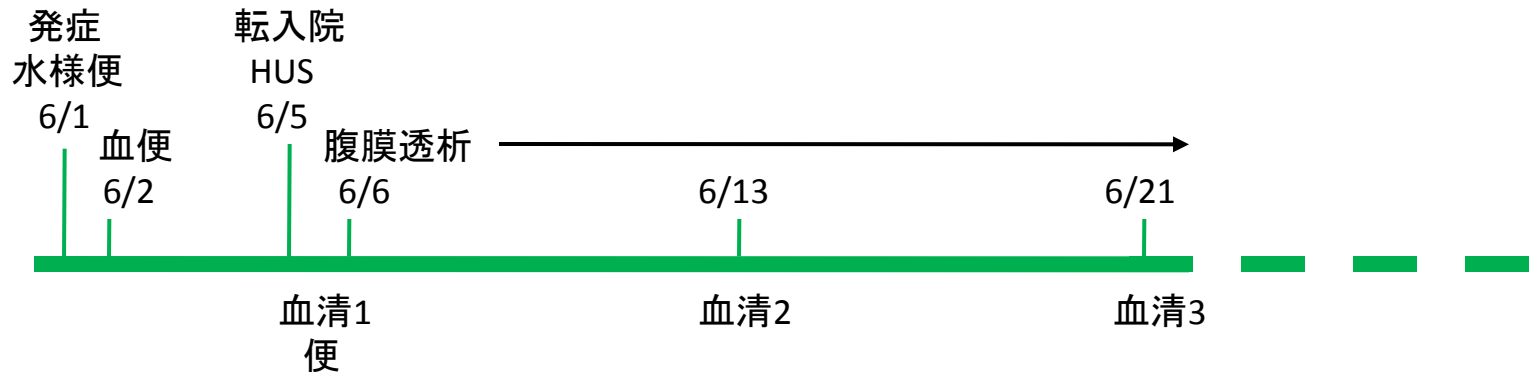
血清5: (8月11日) 非凝集

同時に、同じ患者の血便吸収紙オムツからの菌分離依頼あり:

- 上記の血清診断の結果から、O157感染が疑われたため、免疫磁気ビーズ(O157)を用いた菌の濃縮、菌分離を実施.
- O157:H7 *stx1 stx2* を分離.

# HUS患者血清中の抗大腸菌抗体価解析例(4)

3歳男児, HUS (菌不分離) 症例, 2013年6月



血中抗体価解析:	<b>O157, X 640-1,280</b>	<b>O157, X 640-1,280</b>	<b>O157, X 640-1,280</b>
	<b>O121, X 640-1,280</b>	<b>O121, X 640-1,280</b>	<b>O121, X 640-1,280</b>
	<b>O26, X 320</b>		<b>O26, X 640-1,280</b>

**3種類の抗大腸菌抗体(O157, O121, O26)陽性例**

便(6/5採取, 4°C保存): 6/24, 直接塗沫(Sor-MacConkey, DHL等), TSB増菌培養.  
6/25, ビーズ法(O157 [Dynal & Denka], O26 [自家調製],  
O121 [自家調製])による濃縮.

分離株:

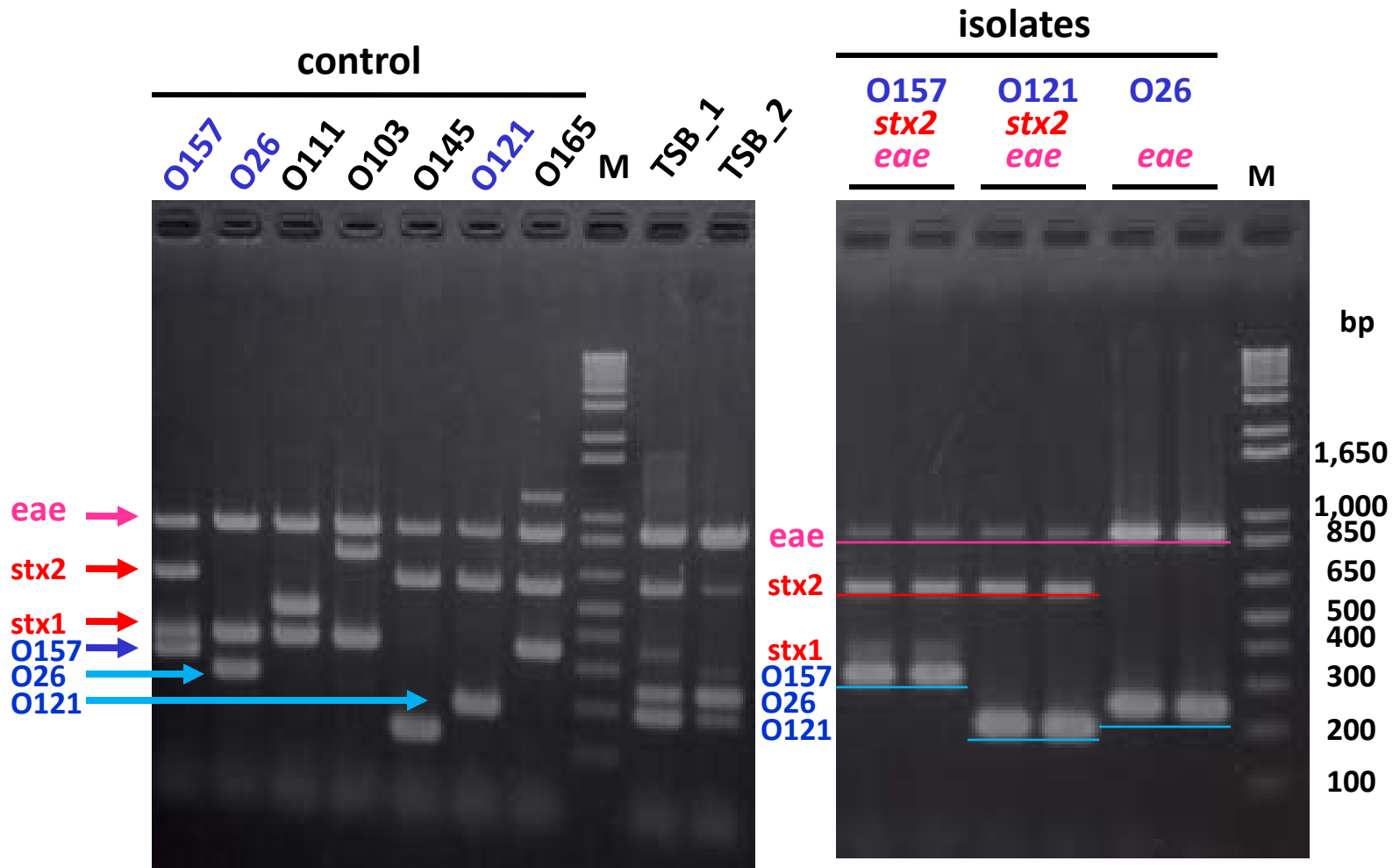
**O157:H7** *stx2-pos, eae-pos*

**O121:H+** *stx2-pos, eae-pos*

**O26:H11** *eae-pos*

血中抗体価の成績と一致.

# Application of one-shot multiplex PCR ver.2 to detect O157, O26, O121, *stx2* and *eae*



## 血清診断のまとめ

- 発症日・臨床症状・血清採取日等の情報が重要.
- 採取日の異なる複数の血清が必要（特に発症直後と回復期）.
- 複数抗原（感染研では O157, O26, O111, O103, O145, O121, O165 を使用）を使用する.
- 集団発生事例では複数の患者血清による解析結果から総合的に判断する.
- 分離菌株がある場合はその株に対する抗体価上昇確認を行う（まれなO血清群 分離株がHUS起因株であること, 混合感染時のHUS起因株が確認できる）.
- 菌分離が困難な場合は迅速診断の一助となりうる.



# EHEC以外の下痢原性大腸菌について

# 主な下痢原性大腸菌のカテゴリーと病原性因子 およびマーカーとなる遺伝子

## 腸管侵入性大腸菌

EIEC: enteroinvasive *E. coli* = *Shigella* spp.

invasion genes / plasmid

*invE, ipaH*

## 腸管凝集接着性大腸菌

EAggEC: enteroaggregative *E. coli*

aggregative fimbriae / plasmid

*aggR*

## 腸管毒素原性大腸菌

ETEC: enterotoxigenic *E. coli*

LT: heat-labile toxin = cholera toxin  
and/or

ST: heat-stable toxin

/plasmid

*LT, ST1a, ST1b*

## 腸管病原性大腸菌

EPEC: enteropathogenic *E. coli*

LEE (locus of enterocyte effacement)

*eae*

## 腸管出血性(志賀毒素産生性)大腸菌

EHEC: enterohemorrhagic *E. coli*

(STEC / VTEC: Shiga-/Vero-toxin producing *E. coli*)

Shiga (Vero) toxin / phage

*stx1, stx2 (VT1, VT2)*

# 下痢原性大腸菌の分類

## 病原微生物検出情報 (IASR) 2012年1月号

a. 従前の病原体検出情報システム		b. 改訂後 (2012年1月～)			
分類	定義	分類	発症機序	主な病原因子 またはマーカー	定義
腸管出血性/ Vero毒素産生性 (EHEC/VTEC)	Vero毒素 (VT) 産生性あるいはVT遺伝子が確認されたもの (保菌者からの検出を含む)	腸管出血性/ Vero毒素産生性 (EHEC/VTEC)	毒素	VT1, VT2	変更なし
毒素原性 (ETEC)	易熱性エンテロトキシン (LT)、耐熱性エンテロトキシン (ST)、あるいはその両者の産生性あるいは毒素遺伝子が確認されたもの	腸管毒素原性 (ETEC)	毒素	LT, ST	変更なし
組織侵入性 (EIEC)	組織侵入性プラスミドを保有していること、あるいは組織侵入性遺伝子が確認されたもの	腸管侵入性 (EIEC)	侵入性	<i>invE</i> , <i>ipaH</i>	変更なし
病原大腸菌 血清型 (EPEC)	組織侵入性の血清型を除くいわゆる病原血清型のもの ・ O群: 1; 18; 20; 26; 44; 55; 86; 111; 114; 119; 125; 126; 127; 128; 142; 146; 151; 158; 159 ・ LT、ST、VTの産生性が確認されたものを除く	腸管病原性 (EPEC)	細胞局在付着性	<i>eae</i> , <i>bfpA</i> , EAF	培養細胞への局在付着性、または、それに関連する遺伝子が確認されたもの ・ VT、LT、ST、侵入性が確認されたものを除く
		腸管凝集付着性 (EAggEC)	細胞凝集付着性	<i>aggR</i> CVD432	培養細胞への凝集付着性、または、それに関連する遺伝子が確認されたもの ・ VT、LT、ST、侵入性が確認されたものを除く
他の下痢原性	上記4つに該当しないが胃腸炎の原因菌と考えられるもの 組織侵入性、LT、ST、VT毒素の産生性あるいは毒素遺伝子を確認していないもの EPECのO群に属さない、もしくはO群不明だが生化学的性状が同じものが多数の患者より検出された場合	他の下痢原性	不明	<i>afa</i> , <i>astA</i> , CDT, <i>cnf</i>	上記5つに該当しないが胃腸炎の原因菌と考えられるもの 生化学的性状が同じものが多数の患者より検出された場合

EHEC: Enterohemorrhagic *E. coli*, VTEC: Verotoxin-producing *E. coli*, ETEC: Enterotoxigenic *E. coli*, EIEC: Enteroinvasive *E. coli*, EPEC: Enteropathogenic *E. coli*, EAggEC: Enteroaggregative *E. coli*

## その他の病原性因子(1)

- **Afa / Dra: afimbrial adhesin / Dr family of adhesins**

- AfaD / DraD: invasin

- 分散接着性大腸菌 (DAEC: diffusively [diffusely] adherent *E. coli*)  
としてカテゴリー分けされる場合がある。

- **EAST 1 (AstA): enteroaggregative heat stable toxin 1**

- EAggECで最初に同定されたが、他のカテゴリーの下痢原性大腸菌 (EHECを含む)  
にも広く分布する。

- 集団発生由来株が保有する病原性因子として確認されている  
(EAST1EC: EAST1-producing *E. coli* としてカテゴリー分けされる場合がある)。

## その他の病原性因子(2)

**Bacterial cyclomodulin:** modulator of eukaryotic cell cycle

- **細胞壊死性膨化毒素 (CDT: cytolethal distending toxin)**

- 細胞剥脱性大腸菌 (cell-detaching *E. coli*) としてカテゴリー分けされる場合がある。

- CdtABC

- CdtB: DNase I family, CdtA/CdtC (receptor binding, transport of CdtB)

- Campylobacter* spp., *Shigella dysenteriae*, *Salmonella Typhi*, 等の細菌にも存在。

- **細胞毒性壊死因子 (CNF: cytotoxic necrotizing factor)**

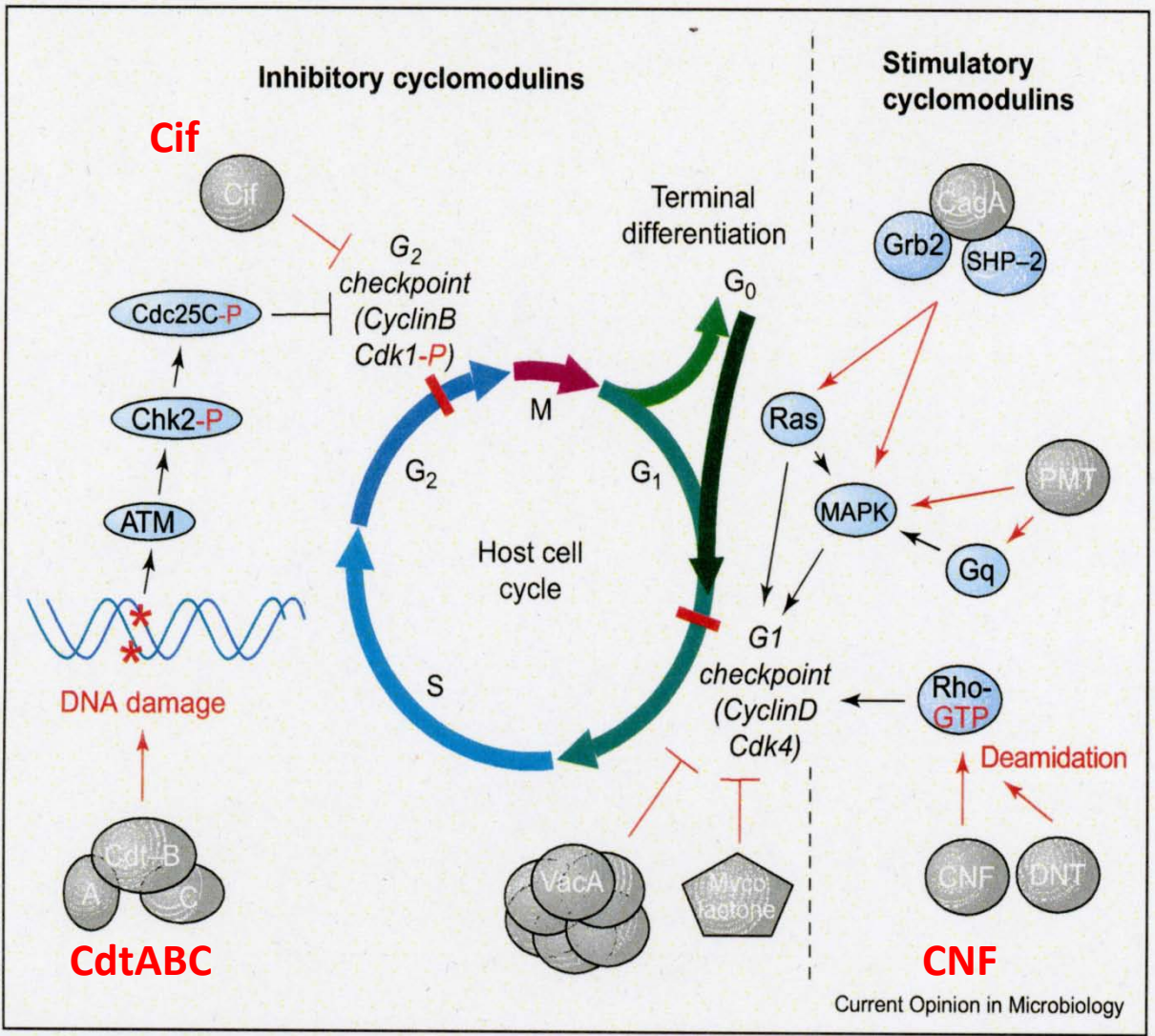
- 尿路病原性大腸菌 UPEC: uropathogenic *E. coli* に頻繁に見られる。

- **Cif: cycle inhibition factor**

- EPEC / EHECが保有する。

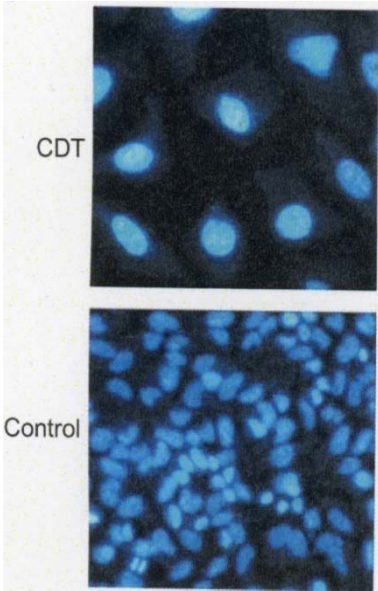
- LEEにコードされる3型蛋白質分泌装置 (T3SS: type 3 protein secretion system) を介して宿主細胞へ局在する。

# Bacterial cyclomodulin



(Current Opinion in Microbiology, 2005)

## CDTによる細胞の膨化



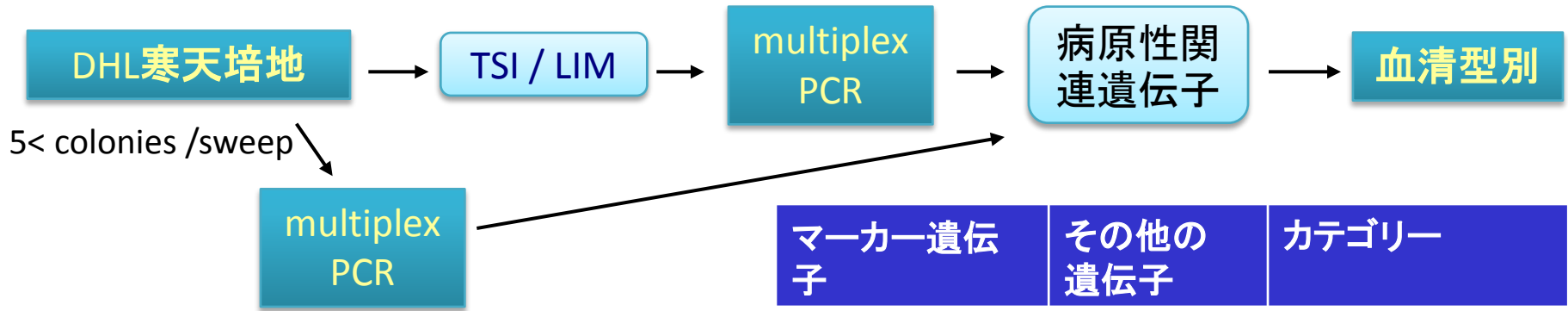
(TRENDS in Microbiology, 2005)

# 下痢原性大腸菌の分類 病原微生物検出情報 (IASR) 2012年1月号

a. 従前の病原体検出情報システム		b. 改訂後 (2012年1月～)			
分類	定義	分類	発症機序	主な病原因子 またはマーカー	定義
腸管出血性/ Vero毒素産生性 (EHEC/VTEC)	Vero毒素 (VT) 産生性あるいはVT遺伝子が確認されたもの (保菌者からの検出を含む)	腸管出血性/ Vero毒素産生性 (EHEC/VTEC)	毒素	VT1, VT2	変更なし
毒素原性 (ETEC)	易熱性エンテロトキシン (LT)、耐熱性エンテロトキシン (ST)、あるいはその両者の産生性あるいは毒素遺伝子が確認されたもの	腸管毒素原性 (ETEC)	毒素	LT, ST	変更なし
組織侵入性 (EIEC)	組織侵入性プラスミドを保有していること、あるいは組織侵入性遺伝子が確認されたもの	腸管侵入性 (EIEC)	侵入性	<i>invE</i> , <i>ipaH</i>	変更なし
病原大腸菌 血清型 (EPEC)	組織侵入性の血清型を除くいわゆる病原血清型のもの ・ O群: 1; 18; 20; 26; 44; 55; 86; 111; 114; 119; 125; 126; 127; 128; 142; 146; 151; 158; 159 ・ LT、ST、VTの産生性が確認されたものを除く	腸管病原性 (EPEC)	細胞局在付着性	<i>eae</i> , <i>bfpA</i> , EAF	培養細胞への局在付着性、または、それに関連する遺伝子が確認されたもの ・ VT、LT、ST、侵入性が確認されたものを除く
		腸管凝集付着性 (EAggEC)	細胞凝集付着性	<i>aggR</i> CVD432	培養細胞への凝集付着性、または、それに関連する遺伝子が確認されたもの ・ VT、LT、ST、侵入性が確認されたものを除く
他の下痢原性	上記4つに該当しないが胃腸炎の原因菌と考えられるもの 組織侵入性、LT、ST、VT毒素の産生性あるいは毒素遺伝子を確認していないもの EPECのO群に属さない、もしくはO群不明だが生化学的性状が同じものが多数の患者より検出された場合	他の下痢原性	不明	<i>afa</i> , <i>astA</i> , CDT, <i>cnf</i>	上記5つに該当しないが胃腸炎の原因菌と考えられるもの 生化学的性状が同じものが多数の患者より検出された場合

EHEC: Enterohemorrhagic *E. coli*, VTEC: Verotoxin-producing *E. coli*, ETEC: Enterotoxigenic *E. coli*, EIEC: Enteroinvasive *E. coli*, EPEC: Enteropathogenic *E. coli*, EAggEC: Enteroaggregative *E. coli*

# 下痢原性大腸菌の検査



Primer set	遺伝子	カテゴリー
ExEC	<i>LT</i>	ETEC
	<i>ST1a</i>	ETEC
	<i>ST1b</i>	ETEC
	<i>invE</i>	EIEC
	<i>VT1</i>	EHEC
	<i>VT2</i>	EHEC
	<i>VT2f</i>	EHEC
EpAll	<i>eae</i>	EPEC
	<i>aggR</i>	EAggEC
	<i>afaD</i>	DAEC
	<i>astA</i>	EAST1EC

マーカ-遺伝子	その他の遺伝子	カテゴリー
<i>LT</i>	<i>astA</i>	ETEC
<i>LT+ST</i>	<i>astA</i>	
<i>ST</i>	<i>astA</i>	
<i>invE</i>		EIEC
<i>VT</i>	( <i>eae</i> ), <i>astA</i>	EHEC
<i>eae</i>	<i>astA</i>	EPEC
<i>aggR</i>	<i>astA</i>	EAggEC
<i>afaD</i>	<i>astA</i>	DAEC
<i>astA</i>		EAST1EC



# 下痢原性大腸菌PCRコントロール用菌株

菌株番号	保有遺伝子	PCRサイズ (bp)	プライマーセット
1290	<i>elt</i> <i>estA2</i> <i>astA</i>	123 178 109	ExEC
1297	<i>estA1</i> <i>astA</i>	179 109	ExEC
1298	<i>invE</i>	379	ExEC
1303	<i>stx1/2</i> <i>eae</i>	234 310	ExEC
1733	<i>stx2f</i> <i>eae</i> <i>astA</i>	296 310 109	ExEC
1782	<i>afaD</i>	207	EpALL
1923	<i>eae</i>	310	EpALL
1924	neg control	---	ExEC, EpALL
2279	<i>aggR</i> <i>astA</i>	254 109	EpALL

NESID (感染症サーベイランスシステム) メインメニュー - Microsoft Internet Explorer

ファイル(F) 編集(E) 表示(V) お気に入り(A) ツール(T) ヘルプ(H)

アドレス(D) [https://nesid3g.wish.mhlw.go.jp/GKWeb/GKMainServlet?action\\_id=](https://nesid3g.wish.mhlw.go.jp/GKWeb/GKMainServlet?action_id=) 移動 変換 選択

 **NESID** 感染症サーベイランスシステム  
National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases

2012/06/14 10:53:11 GKUM011  
ログインユーザ:伊豫田 淳

[マニュアル/FAQ](#) · [パスワード変更](#)

お知らせ

[▼表示/非表示切替え](#)  
現在、お知らせはありません。

メインメニュー

病原体検出情報システム - Microsoft Internet Explorer

ファイル(F) 編集(E) 表示(V) お気に入り(A) ツール(T) ヘルプ(H)

アドレス(D) https://nesid 移動 変換 選択 リンク >>

# 病原体検出情報システム

2012/06/14 10:57:56 BKUJ0001  
ログインユーザ:伊豫田 淳

## 病原体情報トップメニュー

- 登録/編集
- 集計
- 定型帳票/図表
- 基本情報設定
- 速報閲覧/お知らせ

閉じる

ページが表示されました インターネット



病原体検出情報システム - Microsoft Internet Explorer

ファイル(F) 編集(E) 表示(V) お気に入り(A) ツール(T) ヘルプ(H)

アドレス(D) https://nesid3g.wish.mhl 移動 変換 選択 リンク >>

# 病原体検出情報システム


2012/06/14 10:58:56 BKUJ0002  
ログインユーザ:伊豫田 淳

## 登録/編集メニュー

- 病原体個票**
  - 新規登録
  - 検索/編集
- 集団発生病原体票**
  - 新規登録
  - 検索/編集
- ヒト以外からの病原体検出票**
  - 新規登録
  - 検索/編集
- 病原菌検出状況報告(3A:地研・保健所)**
  - 新規登録
  - 検索/編集
- 病原菌検出状況報告(3B:医療機関)**
  - 新規登録
  - 検索/編集
- 一時保存データの呼び出し**
  - 一時保存データの入力再開

戻る

ページが表示されました インターネット



病原体検出情報システム – Microsoft Internet Explorer

ファイル(E) 編集(E) 表示(V) お気に入り(A) ツール(T) ヘルプ(H)

アドレス(D) https://nesid3g.wish.mhlw.go.jp/BKWeb/svc?action=BKMI000201

移動 変換 選択 リンク

## 病原体検出情報システム

2012/06/14 11:08:17 BKUM1103  
ログインユーザ:伊藤田 淳

病原体個票 新規登録/編集

報告機関  地衛研  検疫所

報告種別  定点の種類  登録年月日 2012年06月14日

病原体種別  細菌  検体提供者番号  検体採取年月日 年 月 日

検出病原体  検出病原体選択 EHEC/VTEC

検体提供者 型別結果 分離材料 臨床症状・徴候等 検出方法 疫学的事項 備考 管理No インフルエンザウイルス

登録 連続登録 一時保存 削除 戻る

検体提供者

性別  年齢  (不明は999) 月齢 99 (不明は99)

検体採取機関名

診断名  診断名選択

症状  症状有り  無症状 発病年月日 年 月 日 転帰 不明

型別結果

型別結果選択

特記すべき生化学的性状等

陽性となった分離材料

糞便(←腸内容物、直腸ぬぐい液)  生検、剖検材料 【臓器名 】

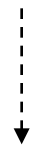
喀痰・気管吸引液  血液(全血、血清、血漿)  穿刺液(←腹水、胸水、関節液)

「病原体種別」

細菌

「検出病原体選択」

- ETEC
- EIEC
- EHEC/VTEC
- EPEC
- EAggEC
- 他の下痢原性E.coli



「型別結果選択」

自由記載

報告機関名 感染症研究所  
報告種別 5類定点報告  
登録年月日 2012年 2月 17日  
病原体種別 細菌

検体提供者番号 20120002  
検出病原体 EAggEC  
検体採取年月日 2012年 5月 5日 (第18週)

型別結果  
血清型 (O) 0127 ( )  
血清型 (H) H21 ( )  
特記すべき生化学的性状等  
aggR(+), CVD432(+), astA(+), eae(-)

検体提供者  
性別 男 年齢 5歳 月齢 2ヶ月  
検体採取機関名 医療機関 定点の種類 小児科定点  
診断名 2005 感染性胃腸炎 症状の有無 有  
発病年月日 2012年 5月 4日 転帰 軽快

陽性となった分離材料  
■ 糞便(←腸内容物、直腸ぬぐい液) □ 生検、剖検材料【臓器名】  
□ 喀痰・気管吸引液 □ 血液(全血、血清、血漿) □ 穿刺液(←腹水、胸水、関節液)  
□ 咽頭ぬぐい液(←うがい液、鼻汁、鼻腔ぬぐい液) □ 髄液 □ 皮膚病巣(←水疱内容、痂皮、創傷)  
□ 結膜ぬぐい液(←結膜擦過物、眼液) □ 尿 □ 陰部尿道頭管擦過物/分泌物  
□ 吐物 □ その他( )

臨床症状・徴候等 (基礎疾患を除く)  
□ 不詳 □ 無症状(←健康者) □ ショック症状(←低血圧、循環不全)  
□ 頭痛 ■ 発熱(最高体温 38.0 °C) ■ 胃腸炎(■ 下痢(←水様便) □ 嘔気、嘔吐) □ 血便(←粘血便) □ 腹痛  
□ 熱性けいれん □ 関節痛、筋肉痛(←関節炎・筋炎) □ 角膜炎 □ 結膜炎 □ 角結膜炎  
□ □内炎(←歯肉炎) □ 髄膜炎(←項部硬直) □ 意識障害  
□ 上気道炎(←咽頭炎、咽頭痛、扁桃炎) □ 麻痺(全身性、中枢神経系のもの)  
□ 下気道炎 ( □ 肺炎 □ 気管支炎) □ 脳炎 □ 髄膜炎 □ 腎臓炎  
□ 水疱 □ 発疹(←丘疹、紅斑、バラ疹) □ 循環器障害(←心筋炎、心膜炎、心不全)  
□ 出血傾向(←紫斑病、出血熱)※全身性のもの □ 黄疸 □ 肝機能障害 □ HUS  
□ リンパ節腫脹 □ 腎機能障害(血尿、乏尿、蛋白尿、多尿、腎不全)  
□ 唾液腺腫脹(←耳下腺炎、顎下腺炎) □ 尿路生殖器症状(←膀胱炎、尿道炎、外陰炎、頸管炎)  
□ その他の症状( )

陽性となった検出方法  
■ 分離培養 □ 培養細胞 ■ 人工培地 □ 発育鶏卵 (代) □ 動物 □ その他\*  
細胞名 (代) 細胞名 (代)  
□ 抗原検出 □ 蛍光 □ EIA □ RPHA □ LA □ PA □ IC □ その他\*  
■ 遺伝子検出 非増幅 [ □ ハイブリ □ PAGE □ その他\* ]  
増幅 [ □ PCR □ PCR+ハイブリ ■ PCR+シーケンス □ LAMP □ その他\* ]  
□ 電顕 □ 顕微鏡 □ \*その他の内訳( )  
□ 抗体検出 □ 蛍光 □ IP □ ELISA □ CF □ HI □ PA □ 中和  
□ イムノブロット □ ゲル内沈降 □ 凝集反応 □ その他( )

疫学的事項  
発生の状況 ■ 散発 □ 地域流行 □ 家族内発生 □ 集団発生 集団発生の場所  
最近の海外渡航歴 無 (発生市区町村 東京都 ・ 新宿区 )  
渡航先 ( )  
渡航期間 年 月 日 ~ 年 月 日  
当該疾患のワクチン接種歴 不明 ワクチン名  
最近の接種年月日 年 月 日

備考

# 病原体個表の記入例

検出病原体: EAggEC の場合

特記すべき生化学的性状等  
*aggR(+), eae(-)*

検出病原体: 他の下痢原性E. coli の場合

特記すべき生化学的性状等  
*LT(-), ST(-), eae(-), aggR(-), invE(-), astA(-)*

または

特記すべき生化学的性状等  
*病原性因子検査せず*

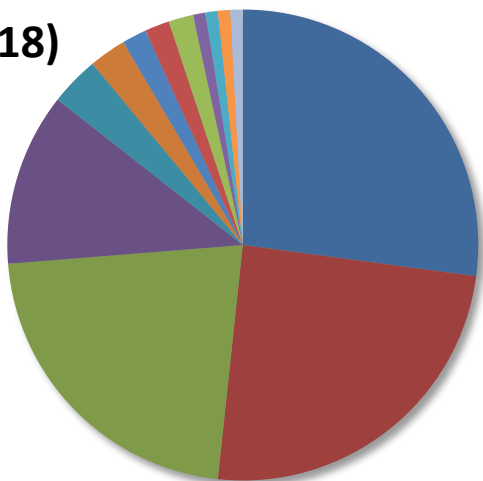


## 地研・保健所からの下痢原性大腸菌の報告数 (May 2012 - Apr 2013)

<i>E. coli</i>	Number
EHEC	1,118
ETEC	69
EIEC	1
EPEC	46
EAggEC	39
others	111

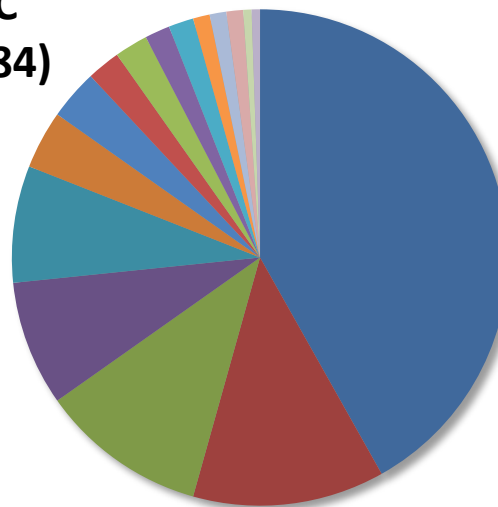
# 下痢原性大腸菌の報告数とO血清群 (2009 - June 2013)

**ETEC**  
(n=118)



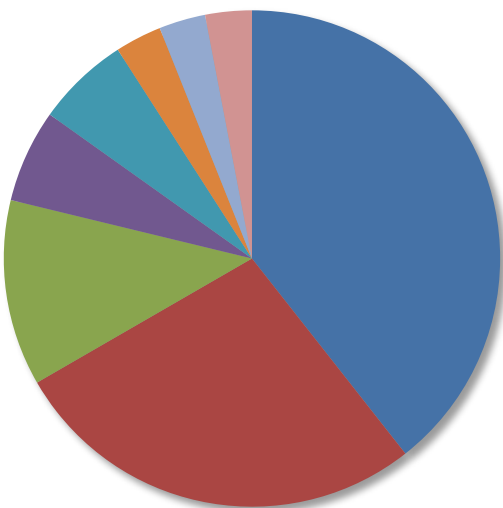
- O159 ST
- O6 ST&LT
- O169 ST
- O148 ST
- O153
- O153 ST
- O15 ST
- O27 ST
- OUT
- O6 ST
- O25 LT
- O128 LT
- OUT LT

**EPEC**  
(n=184)



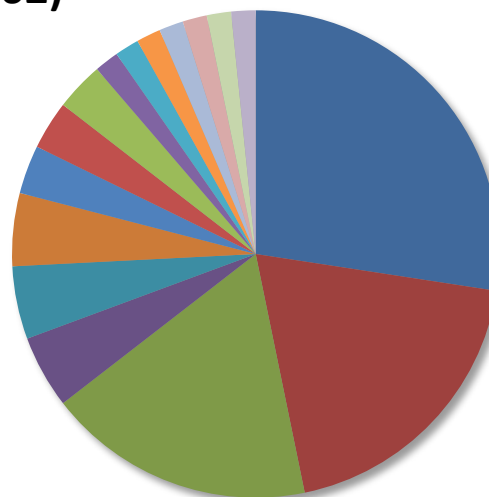
- Others
- O166
- O1
- O128
- O18
- O111
- O126
- O86a
- O119
- O44
- O55
- O25
- O127a
- O142
- O146
- O164

**EAggEC**  
(n=33, since 2012)



- OUT
- O126
- O127a
- O86a
- OUT:HOUT:
- O111
- O126:HNT
- O127a:HNT

**Others**  
(n=62)



- OUT
- O126
- O169
- O111
- O127a
- OUT:HNT
- O78
- O167
- OUT:Others
- O15
- O86:Others
- O86a
- O103
- O119
- O128:HNT
- Not typed

## 研究協力者

大阪府公衆衛生研究所  
勢戸 和子

富山県衛生研究所  
磯部 順子

横浜市衛生研究所  
松本 裕子

仙台市衛生研究所  
勝見 正道

その他の全国の地方衛生研究所・保健所

宮崎大学  
井口 純

聖マリアンナ医科大学横浜市西部病院  
田中 洋輔

千葉県こども病院  
中野 栄治

感染研・感染症情報センター  
齊藤 剛仁

感染研・細菌第 I 部  
石原 朋子  
伊藤 健一郎(客員研究員)  
泉谷 秀昌  
寺嶋 淳  
大西 真



# 配布可能菌株 (1) : 下痢原性大腸菌PCRコントロール用菌株

菌株番号	保有遺伝子	PCRサイズ (bp)	プライマーセット
1290	<i>elt</i> <i>estA2</i> <i>astA</i>	123 178 109	ExEC
1297	<i>estA1</i> <i>astA</i>	179 109	ExEC
1298	<i>invE</i>	379	ExEC
1303	<i>stx1/2</i> <i>eae</i>	234 310	ExEC
1733	<i>stx2f</i> <i>eae</i> <i>astA</i>	296 310 109	ExEC
1782	<i>afaD</i>	207	EpALL
1923	<i>eae</i>	310	EpALL
1924	neg control	---	ExEC, EpALL
2279	<i>aggR</i> <i>astA</i>	254 109	EpALL

# 配布可能菌株 (2) : *stx* PCRコントロール用菌株



## Appendix 2

### List of reference strains harbouring the *vtx* gene subtypes

SSI collection D number	Strain	Control for toxin subtype	Toxin variant designation	GenBank accession No.	Results obtained using the present method
D2653	EDL933	VT1a	VT1a-O157-EDL933	M19473	<i>vtx1a + vtx2a</i>
D3602	DG131/3	VT1c	VT1c-O174-DG131-3	Z36901	<i>vtx1c + vtx2b</i>
D3522	MHI813	VT1d	Stx1d-O8-MHI813	AY170851	<i>vtx1d</i>
D2435	94C	VT2a	VT2a-O48-94C	Z37725	<i>vtx1a + vtx2a</i>
D3428	EH250	VT2b	VT2b-O118-EH250	AF043627	<i>vtx2b</i>
D2587	031	VT2c	VT2c-O174-031	L11079	<i>vtx2b + vtx2c</i>
D3435	C165-02	VT2d	VT2d-O73-C165-02	DQ059012	<i>vtx2d</i>
D3648	S1191	VT2e	VT2e-O139-S1191	M21534	<i>vtx2e</i>
D3546	T4/97	VT2f	VT2f-O128-T4-97	AJ010730	<i>vtx2f</i>
D3509	7v	VT2g	2g-O2-7v	AY286000	<i>vtx2g</i>

\* May result in both fragments at 179 bp and 280 bp

***stx1: stx1a, stx1c, stx1d,***

***stx2: stx2a, stx2b, stx2c, stx2d, stx2e, stx2f, stx2g***

Statens Serum Institut, Artillerivej 5, DK-2300 Copenhagen S, Denmark.  
Phone +45 3268 3334 Fax +45 3268 8238 e-mail fsc@ssi.dk

# 配布可能菌株 (3) : EHEC, EQA用菌株

## EQA PART: SEROTYPING, PHENOTYPING, GENOTYPING AND *STX*/*VTX* SUBTYPING

### RESULTS TABLE

O group	H type	Vero Cell assay	ESBL prod.	Haemolysin prod.	Beta-glucuronidase prod.	Sorbitol ferm.	eae gene	ehxA gene	vtx1 gene	vtx2 gene	vtx Subtypes	Additional virulence genes	Pathogenic group
AA1													STEC/VTEC
BB2													AEEC
CC3													STEC/VTEC
DD4													STEC/VTEC
EE5													STEC/VTEC
FF6													STEC/VTEC
GG7													STEC/VTEC
HH8													EAggEC
II9													STEC/VTEC
JJ10													STEC/VTEC
KK11													STEC/VTEC
LL12													STEC/VTEC
MM13													STEC/VTEC
NN14													ETEC
OO15 <sup>n)</sup>													EIEC

菌株の詳細はEQAに参加して頂き、結果を返送して頂いた後でお知らせいたします。  
皆様のご参加をお待ちしております。

Pos.: Positive, Neg. Negative, alfa: pos. for alfa-haemolysin, but entero/alfa-haemolysin results is accepted for all strains.

Intermediate result noted in the Vero cell assay is accepted as a positive result. H- result noted in the H type is also accepted for all strains.

<sup>o)</sup> Lactose negative

<sup>n)</sup> The strain has been observed to lose the ESBL plasmid. Therefore, both results will be accepted.

#### Gene abbreviations

eae: CVD434. *E. coli* attaching and effacing gene probe.

ehxA: CVD419. Plasmid encoded O157-enterohaemolysin.

vtx1: NTP705. Verotoxin1; Almost identical with the Shiga toxin.

vtx2: DEP28. Verotoxin2; Variants exist. Approx. 60% homology to vtx1.

aggR: Gene encoding the master regulator in Enteroaggregative *E. coli*.

aaiC: Chromosomal gene marker for Enteroaggregative *E. coli*.

eht: G119. Heat labile enterotoxin (LT). Almost identical to cholera toxin.

aatA: PCR fragment. The gene encodes the dispersin (aap) transporter protein, which is a good plasmid marker for Enteroaggregative *E. coli*.

estAp: DAS101. Heat stable enterotoxin (porcine variant) ST<sub>p</sub> (ST1a).

ipaH: WR390. Invasion plasmid antigen. These genes are found in several copies chromosomally as well as on plasmids.

## ご意見をお聞かせ下さい

- 菌株セット(1-3)の配布希望の有無  
(ただし、菌株セット3はEQA用ですので、解析結果は同時にお送りできません)
- EHEC検査マニュアルの改訂
- EHEC以外の下痢原性大腸菌を含めた、検出マニュアル  
(下痢原性大腸菌検出マニュアル)の作成.
- その他、研修希望等の有無

今後の大腸菌に関するお問い合わせ  
(PFGE, 病原性遺伝子型, 血清型, MLVA等)は,  
一括して:

[ehec@niid.go.jp](mailto:ehec@niid.go.jp) へお願いします.