

千葉県における腸管出血性大腸菌検出状況と 下痢患者の血清学的診断 (1996-2002年)

内村真佐子, 江下 倉重, 小岩井健司

Surveillance of Enterohaemorrhagic Escherichia coli in Chiba prefecture during 1996-2002

Masako UCHIMURA, Kurashige ESHITA and Kenji KOIWAI

1. はじめに

腸管出血性大腸菌O157による感染症は、1996年に関西地方を中心とした大発生により社会的関心事となった。1997年以降も毎年集団感染事例や散発感染事例は多発し、感染者報告数は増加傾向にある¹⁾。千葉県では、ペロ毒素検査を開始した1988年から1995年までの7年間に確認された腸管出血性大腸菌感染者はわずか12人であったが、1996年以降は集団事例や散発事例が散見され、患者・感染者由来の腸管出血性大腸菌が多数分離されている。そこで、千葉県における腸管出血性大腸菌感染者発生状況の変化を把握するために、1996年から2002年の8年間に当衛生研究所に検査依頼のため送付され、腸管出血性大腸菌と同定された菌株の性状、この間に発生した集団感染事例10事例の概要、および病原菌が分離できなかった患者の腸管出血性大腸菌O157感染診断のために実施した血中抗体価測定結果を解析したので報告する。

2. 材料と方法

1) 菌株

千葉県内の医療機関、民間検査施設および保健所等で分離され、当研究所に送付された菌株を使用した。

2) 菌の毒素産生試験

大腸菌のペロ毒素産生性は、VTEC-RPLA「生研」(デンカ生研)を用い使用書に従って測定した。

3) パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE)

DNAの抽出と試料の調整は、満田ら²⁾の方法に準じて行った。すなわち、供試菌を Trypticase soy broth で37℃、18時間振とう培養後、その20μlを遠心集菌した。菌体に、50μlのSEバッファー(75mM NaCl, 25mM EDTA)と等量の1%低融点アガロース(Bio-Rad)およびlysozyme(25mg/ml)を4μl加え、サンプルゲルブロックを作成した。ゲルブロックを lysis solution (1 M NaCl, 0.1M EDTA [pH8.0], 0.5% [w/v] Brij-58, 0.2% [w/v] deoxycholate, 0.5% [w/v] sarkosyl, 1 mg/ml lysozyme) 内で37℃、2時間反応させ溶菌を行った。次いで、蛋白分解液(0.25M EDTA [pH8.0], 1% [w/v] sarkosyl, 1 mg/ml proteinase K) 中で16~20時間、50℃で蛋白消化を行った後、1 mM phenylmethylsulfonyl fluorideを含むTEバッファー(10mM Tris, 1 mM EDTA [pH8.0]) 中で30分間室温で

ゆるやかに振盪し、TEバッファーで3回洗浄した。このゲルを適当な大きさに切断後、制限酵素 Xba I で37℃、18時間処理した。電気泳動は、CHEF-DR III (Bio-Rad) システムで、0.5 xTBEバッファー、1%アガロースゲルを用い、200V、14℃の条件下、パルスタイム4~8秒で9時間、8~50秒で13時間行った。

4) 薬剤感受性試験

センシディスク(BBL)を用い、使用書に従い測定を行った。アンピシリン(ABPC)、テトラサイクリン(TC)、ストレプトマイシン(SM)、クロラムフェニコール(CP)、カナマイシン(KM)、ナリジクス酸(NA)、スルフォメトキサゾール/トリメトプリム(ST)、トリメトプリム(TMP)、フォスホマイシン(FOM)、ゲンタマイシン(GM)、シプロフロキサシン(CPFX)およびセフトキシム(CTX)の12薬剤を使用した。

5) 凝集抗体測定

抗体価測定の依頼を受けた患者血清および衛生研究所に保存されていた血清(1995年7~8月に採取分)を56℃、30分間非動化して用いた。抗原液は、普通寒天培地平板上に生育した腸管出血性大腸菌O157:H7のsmooth型株を生理食塩水に懸濁し、121℃で30分間加熱後PBSで3回洗浄した菌体を、1%ホルマリン加生理食塩水で吸光度(O.D.550nm)を0.3に調整し作成した。菌体凝集反応は、U底マイクロプレートを用い被検血清の2倍段階希釈液と抗原液を等量混合し、37℃で1時間および4℃で一夜放置後、凝集が認められた最大希釈倍率を凝集抗体価として表した。

3. 結果

1) 腸管出血性大腸菌分離状況

千葉県における患者・感染者由来腸管出血性大腸菌分離株数は、1996年38株、1997年87株、1998年58株、1999年97株、2000年142株、2001年352株、2002年132株で推移している(表1)。

表1 千葉県で分離された腸管出血性大腸菌の由来別内訳(1996-2002年)

分離年	散発/無症状者			集団発生(件数)			合計
	O157	O157以外	小計	O157	O157以外	小計	
1996	36	2	38	0	0	0	38
1997	30	13	43	(2) 44	0	44	87
1998	42	9	51	(1) 7	0	7	58
1999	67	9	76	(1) 8	(1) 13	21	97
2000	74	11	85	(1) 57	0	57	142
2001	113	29	142	(2) 194	(1) 16	210	352
2002	53	14	67	(1) 65	0	65	132
合計	415	87	502	(8) 363	(2) 29	404	906

散発・無症状者由来 O157以外株の血清型 内訳 (分離株数)
026(62), 029(1), 063(1), 074(1), 0111(8), 0114(3),
0117(1), 0121(4), 145(2), Out(2)

千葉県衛生研究所
(2002年1月18日受理)

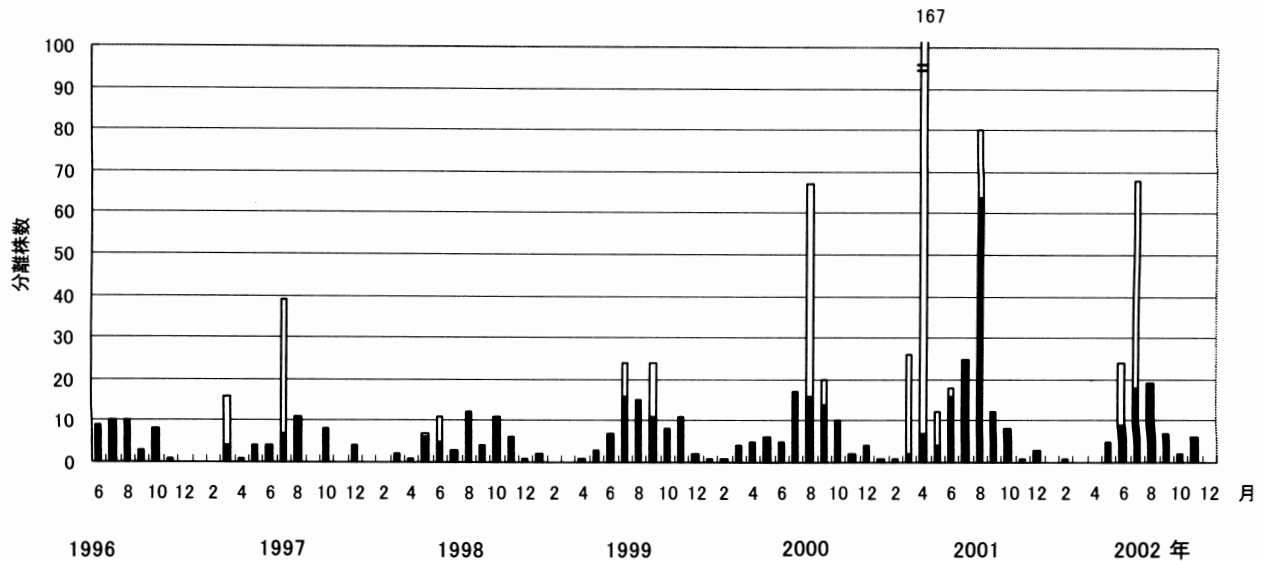


図1 千葉県における月別腸管出血性大腸菌分離状況
 ■：散発および無症状病原体保有者由来株，□：集団発生患者由来株

1996年から2002年の月別分離状況は、集団事例を除く散発患者・無症状病原体保有者の発生が7月から9月をピークとして夏季に多く冬季に少ないパターンを示した(図1)。

2) 散発患者および無症状病原体保有者由来株の血清型

家族内感染者を含む散発患者および無症状病原体保有者由来腸管出血性大腸菌は、1996年から2002年の7年間に、O157が415株、O157以外の血清型が87株分離された。千葉県では、1996年から2001年までは各年の分離株数は増加傾向にあったが、2002年には減少が認められた。O157以外の血清型の内訳は、1996年はO26が2株、1997年はO26が8株、その他が5株(O111;3, O117;1, O145;1), 1998年はO26が8株、O121が1株、1999年はO26が5株、O111が4株、2000年はO26が6株、その他が5株(O74;1, O111;1, O114;2, O145;1), 2001年はO26が23株、その他が6株(O29;1, O63;1, O114;1, Out;3), 2002年はO26が11株、O121が3株であった(表1)。

3) 散発患者および無症状病原体保有者由来株の毒素型

7年間に分離されたO157株の毒素型別内訳は、VT1単独産生型(VT1型)が12株(2.9%)、VT2単独産生型(VT2型)が182株(43.9%)、VT1およびVT2両毒素産生型(VT1&2型)が221株(53.2%)であった。何れの年もVT1型が少ない状況で、VT2型とVT1&2型の分離頻度は年によって異なった。O157以外の血清型87株の毒素型は、1996年および1997年分離株は全てVT1型であったが、1998年にはVT2型が1株(O121:H19)、1999年にはVT1&2型が2株(O111:H)分離され、2000年以降は

表2 散発患者および無症状病原体保有者由来腸管出血性大腸菌の毒素型

分離年	O157				O157以外			
	VT1	VT2	VT1&2	合計	VT1	VT2	VT1&2	合計
1996	0	24	12	36	2	0	0	2
1997	1	5	24	30	13	0	0	13
1998	2	13	27	42	8	1	0	9
1999	4	36	27	67	7	0	2	9
2000	1	37	36	74	5	4	2	11
2001	3	43	67	113	23	4	2	29
2002	1	24	28	53	11	3	0	14
合計 (%)	12 (2.9)	182 (43.9)	221 (53.3)	415	69 (79.3)	12 (13.8)	6 (6.9)	87

VT2型およびVT1&2型が複数株分離された。VT1&2型の血清型はO26のみで、VT2型の血清型はO26を含まなかった(表2)。

4) 散発患者および無症状病原体保有者由来株の薬剤感受性

12薬剤に対する感受性試験を行った結果、O157では415株中77株(18.6%)、O157以外の血清型では87株中18株(20.3%)がいずれかの薬剤に耐性を示した。薬剤別耐性率は、TC耐性(O157;14.7%、O157以外;16.1%)、SM耐性(O157;14.0%、O157以外;14.9%)が高く、次いでABPC耐性(O157;8.4%、O157以外;8.0%)であった。O157ではTMP耐性(3.1%)、ST耐性(2.9%)が続ぎ、CP、KM、NA、FOM耐性株は少なかった。O157以外の血清型では分離株数は少ないが、KM耐性は3株(3.4%)、FOM耐性は2株(2.1%)で、TMP、ST、GM耐性株はそれぞれ1株であった(表3)。O157では12種類の耐性菌耐性パターンが認められ、主要耐性パターンはTC、SM(30株;39.0%)、TC単剤(10株;13.0%)、ABPC、TC、SM(10株;13.0%)であった。1999年から2001年には(ABPC、TC、SM、ST、TMP)5剤耐性株が高頻度に分離された(表4)。O157以外の血清型では11種類の耐性パターンが認められ、主要耐性パターンはTC、SM(8株;44.4%)で、その他のパターンはそれぞれ1株(5.6%)であった(表5)。

表3 腸管出血性大腸菌の薬剤耐性 (1996年-2002年分離株)

薬剤	耐性株数 (%)	
	O157	O157以外
ABPC	35 (8.4)	7 (8.0)
TC	61 (14.7)	14 (16.1)
SM	58 (14.0)	13 (14.9)
CP	1 (0.2)	0
KM	2 (0.5)	3 (3.4)
NA	1 (0.2)	1 (1.1)
FOM	1 (0.2)	2 (2.3)
TMP	13 (3.1)	1 (1.1)
ST	12 (2.9)	1 (1.1)
GM	0	1 (1.1)

(O157:n=415 O157以外:n=87)

表4 腸管出血性大腸菌の年別薬剤耐性菌分離状況と耐性パターン（O157）

	分離株数							合計
	'96	'97	'98	'99	'00	'01	'02	
薬剤感受性株数	32	27	31	42	61	99	46	338
薬剤耐性株数 (%)	4 (11.1)	3 (7.1)	11 (26.2)	25 (37.3)	13 (17.6)	14 (12.4)	7 (13.2)	77 (18.6)
耐性パターン内訳								
ABPC	0	1	0	1	3	0	0	5
TC	1	0	1	2	2	3	0	10
SM	0	0	0	0	2	0	0	2
TMP	0	0	0	0	1	0	0	1
ABPC, SM	0	0	1	1	0	1	2	3
ABPC, TC	0	0	0	0	1	0	0	1
ABPC, FOM	0	0	1	0	0	0	0	1
TC, SM	2	0	3	11	3	7	3	30
ABPC, TC, SM	0	1	3	4	0	0	2	10
SM, CP, KM, NA	1	0	0	0	0	0	0	1
ABPC, SM, SXT, TMP	0	0	2	1	0	0	0	3
ABPC, TC, SM, CP, KM	0	1	0	0	0	0	0	1
ABPC, TC, SM, SXT, TMP	0	0	0	5	1	3	0	9

表5 腸管出血性大腸菌の年別薬剤耐性菌分離状況と耐性パターン（O157以外）

	分離株数							合計
	'96	'97	'98	'99	'00	'01	'02	
薬剤感受性株数	2	6	9	8	9	23	10	67
薬剤耐性株数 (%)	0 (0)	7 (53.8)	0 (0)	1 (11.1)	2 (18.2)	4 (13.8)	4 (28.6)	18 (21.2)
耐性パターン内訳								
ABPC	0	1	0	0	0	0	0	1
SM	0	1	0	0	0	0	0	1
FOM	0	1	0	0	0	0	0	1
ABPC, TC	0	0	0	0	0	0	1	1
TC, SM	0	3	0	0	0	4	1	8
ABPC, TC, SM	0	0	0	0	1	0	0	1
ABPC, TC, FOM	0	0	0	0	0	0	1	1
SM, KM, GM	0	0	0	1	0	0	0	1
ABPC, TC, SM, KM	0	0	0	0	1	0	0	1
TC, SM, KM, NA	0	1	0	0	0	0	0	1
ABPC, TC, SM, SXT, TMP	0	1	0	0	0	0	0	1

5) 集団感染事例

1996年から2002年の間に、患者数7人以上の集団感染事例は10件発生した（表6）。

事例1：1997年3月中旬に病院を受診した、柏市、船橋市、市原市、木更津市、佐倉市など県内の広範な地域に居住する9家族12人から、O157:H7（VT1&2型）が分離された。原因施設や食品など感染者12人に共通性はみられなかったが、薬剤感受性試験の結果分離された12株は検査を行った全ての薬剤に感受性で、PFGEパターンの一致が認められたことから、広域集団感染事例（diffuse outbreak）が疑われた。このPFGEパターンは1996年の堺市由来株と同一であった（図2）。また同時期に、関東南部および東海地域においてもO157感染患者が多発し、愛知県および横浜市の事例では家庭に残っていたカイワレ大根からO157:H7（VT1&2型）が分離され、患者およびカイワレ大根由来株

のPFGEパターンが1996年の堺市等で発生した集団事例由来株と同一であることが報告された³⁾。千葉県における12人の患者発生の原因は、関東南部および東海地域における事例と同じであることが推測された。

事例2：柏市の保育園において、1997年6月28日から7月5日に患者が発生した。検食の検査の結果、6月27日の給食に供されたメロンから腸管出血性大腸菌O157:H7（VT1&2型）が検出された。メロンに含まれた菌数は、MPN法で43cfu/gであった。菌陽性者数32人の内訳は、園児24人（有症者：22、非発症者：2）、職員4人（非発症者：4）、園児家族4人（二次感染者、有症者：2、非発症者2）で、園児の有症者22人の平均潜伏日数は4.6日であった³⁾。

事例3：1998年6月に千葉県、富山県、東京都、神奈川県など1都6県において、寿司店で供されたイクラ寿司を共通原因食と

表6 千葉県で発生した腸管出血性大腸菌による集団事例の概要

事例	発生年月	発生施設等	原因食品	菌陽性者数	血清型	毒素型	薬剤耐性パターン	備考
1	1997.3	家庭	カイワレ?	12	O157:H7	VT1&2	感受性	*1
2	1997.7	保育園	メロン	32	O157:H7	VT1&2	感受性	
3	1998.6	寿司屋	イクラ醤油漬	8	O157:H7	VT1&2	感受性	*2
4	1999.7	老人保健施設	不明	7	O157:H7	VT1&2	ABPC, TC, SM, KM, SXT, TMP	1名はVT2型も分離
5	1999.9	保育園	不明	13	O26:H11	VT1	感受性	
6	2000.11	イベント会場	牛丸焼き?	57	O157:H-	VT2	感受性	
7	2001.3	スーパーマーケット	牛タタキ	185	O157:H7	VT1&2	感受性	*3
8	2001.5	家庭	和風キムチ?	9	O157:H7	VT1&2	感受性	*4
9	2001.8	保育園	不明	16	O26:H11	VT1	感受性	
10	2002.6	大学	不明	68	O157:H7	VT2	TC, SM	

*1: diffuse outbreak (東海および関東南部)
 *2: diffuse outbreak (7都県患者総数: 67名)
 *3: diffuse outbreak (7都県患者総数: 259名)
 *4: 東京都, 埼玉県で発生した和風キムチによる患者由来株と同じPFGEパターン

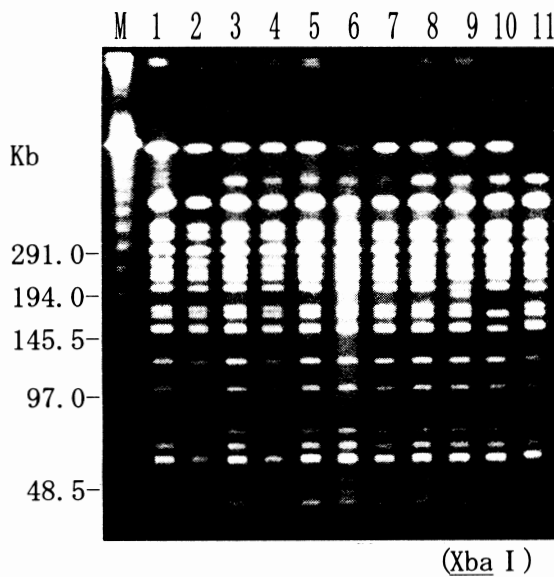


図2 カイワレ大根が原因と疑われる腸管出血性大腸菌O157H7によるdiffuse outbreak由来株のPFGEパターンの比較
 Lane, M: molecular size marker, 1-10: 患者由来O157:H7 (VT1&2)株, 11: 1996年堺市集団発生由来O157:H7 (VT1&2)株

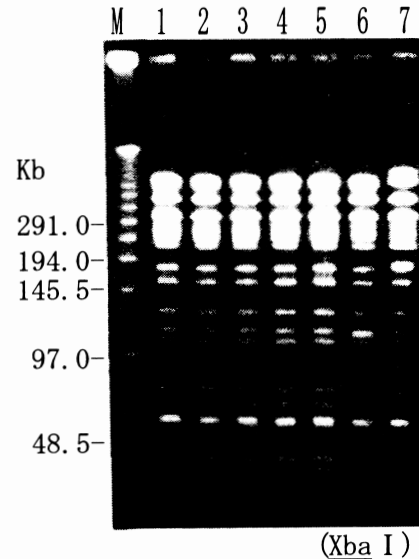


図3 老人保健施設における集団発生事例由来腸管出血性大腸菌O157:H7のPFGEパターン
 Lane, M: molecular size marker, 1-6: 患者由来O157:H7 (VT1&2)株, 7: Lane6と同一患者由来O157:H7 (VT2)株

する腸管出血性大腸菌O157:H7 (VT1&2型)によるdiffuse outbreakが発生した。菌陽性者数は62人であった³⁾。富山県, 東京都, 神奈川県, 北海道の調査で, 冷凍保存されていたイクラ醤油漬から腸管出血性大腸菌O157:H7 (VT1&2型)が検出された。千葉県の7人から分離された株のPFGEパターンは, 東京都, 富山県の患者およびイクラ分離株のパターンと一致した。

事例4: 1999年7月に老人保健施設において, 75歳から93歳までの6人と18歳の職員1人から腸管出血性大腸菌O157:H7が分離された。7人中6人からはVT1&2型, 1人からはVT1&2型およびVT2型の2種類が分離された。7人から分離されたVT1&2型株およびVT2型株は全て, ABPC, TC, SM, KM, ST, TMPの6剤に耐性を示した。PFGEの結果, VT1&2型株は同一のパターンを示したが, VT2型株はVT1&2型株のパターンと類似しているものの, 2本のバンドの付加と1本のバンドの

脱落が認められた(図3)。高齢の6人中2人は血便を呈し, 4人は無症状であった。本事例は入所者が50人職員数が53人規模の施設における発生であるが, 感染者数が少なく, 聞き取り等の疫学調査から共通の原因を推定することはできなかった。また, 保存されていた給食の検食について検査を行ったが, 原因菌は検出されなかった。

事例5: 1999年9月に保育園児を中心とする腸管出血性大腸菌による集団感染事例が発生した。本事例の菌陽性者数は13人であったが, 初発患者以外の12人はすべて自覚症状がない無症状病原体保有者であった。13人から分離された13株の血清型は12株がO26:H11 (VT1型)で, 1株はO26:H- (VT1型)であった。O26:H11株のPFGEパターンは同一であるが, O26:H-株のパターンはO26:H11株に類似しているものの, 400, 290および50Kb付近のバンドにわずかなずれが認められ, 170Kb, 100Kb付近および

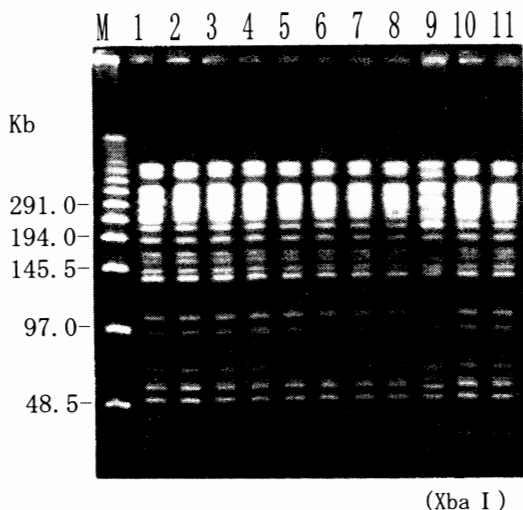


図4 保育園における腸管出血性大腸菌O26による集団事例由来株のPFGEパターン

Lane, M:molecular size marker, 1-8 : O26 : H11 (VT 1), 9 : O26 : H- (VT 1), 10-11 : O26 : H11 (VT 1)

40Kb以下のバンドがそれぞれ1本ずつ脱落していた(図4)。本集団発生事例は有症者が1人で12人が無症状病原体保有者であったにもかかわらず、菌陽性者の排菌が長引き、事例が終息したのは発生から80日後の12月3日であった。初発患者(図5, No.13)は12日間ホスミン投与の後ピオフェルミンが処方された。下痢等の症状は受診の2日後に回復したが、排菌は61日間続いた。無症状病原体保有者12人中2人(図5, No.1, No.10)は菌陽性が判明後直ちに抗生剤が投与され(患者No.10は4日間;クラビット、患者No.1は7日間;種類不明)、以後再排菌は認められなかった。残りの10人は、抗生剤の投与は行われずピオフェルミンが処方され、1人は次の検査で菌陰性となったが、9人は4~35日間排菌が続いた。平均排菌日数は15.7日であった(図5)。検便は、CT加ラムノースマッコキー培地を用いた直接分離培養法²⁾で1~3日おきに行われ、最も排菌が長かった患者では検便回数は20回以上に及んだ。原因究明のため、保存検査および食材、調理器具等のふき取りおよび排水等について検査が行われたが、いずれの検体からも原因菌は検出されず、感染原因を特定することはできなかった⁹⁾。

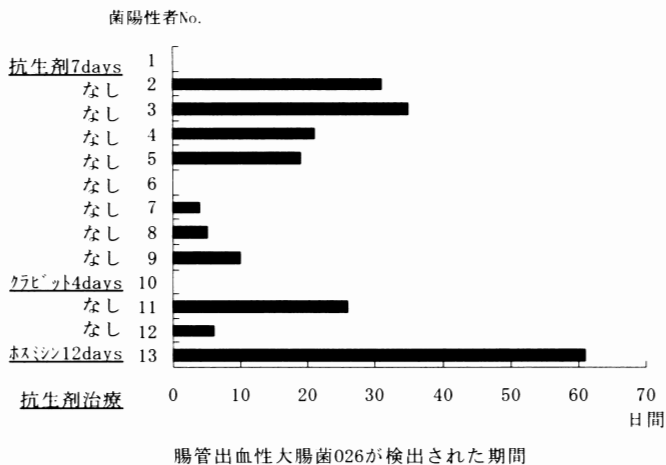


図5 腸管出血性大腸菌O26集団感染事例の菌陽性者の抗生剤治療と菌検出状況

事例6 : 2000年11月8日、船橋市内の3つの医療機関から保健所に腸管出血性大腸菌O157感染症の届け出がなされた。これら3人の患者について発症状況と喫食状況の調査を行ったところ、いずれも10月28日に開催された船橋市農水産祭・畜産フェスティバルに参加し、同フェスティバルで提供された「牛の丸焼き」を喫食していることがわかった。二次感染事例を含めて有症状者30人および無症状病原体保有者28人から大腸菌O157:H- (VT 2型)が分離された。有症状者のうち22人(73.3%)は10歳以下で、2歳児3人、8歳児1人(菌陽性者の6.9%)がHUSを併発した。感染者由来58株の薬剤感受性パターンおよびPFGEパターンは同一であった。原因食品と推定された「牛の丸焼き」は事件発生が探知された時点で既に処分されており、牛肉の流通経路に関連した食肉の検査およびフェスティバル会場等の取去・拭き取り検査等を行ったが、腸管出血性大腸菌O157は分離されず、汚染原因と経路は確定できなかった⁹⁾。

事例7 : 2001年3月中旬から4月初旬にかけて、東葛飾地域を中心に腸管出血性大腸菌 O157:H7 (VT 1 & 2型)による、大規模な diffuse outbreak が発生した。患者の喫食状況調査から、某スーパー系列店で販売された「牛たたき」および「ローストビーフ」が原因食品として疑われ、取去検査の結果「牛たたき」から腸管出血性大腸菌O157:H7 (VT 1 & 2型)が分離された。千葉県内の患者・感染者は191人で、このうち12人(6.3%)がHUSを併発した。また、当該食品がA系列店以外でも販売されていたことから、隣接する埼玉県28名、神奈川県23名など1都5県で合計68名の患者が報告され菌陽性者総数は259人にのぼった。本事例では、「牛たたき」あるいは「ローストビーフ」を購入して喫食した人に加えて、店内で試食をただけの人も感染していたことから、生ものや加熱が不十分の食肉製品等の店内試食の危険性が示唆された。また、本事例の原因食品である「牛たたき」、「ローストビーフ」の製造は栃木県内、原料肉(輸入肉)の保管は大阪市内と関係機関は多岐であったが、関係者の協力で原料肉から患者由来株と同じPFGEパターンの腸管出血性大腸菌O157:H7 (VT 1 & 2型)が分離された。本事例は、患者発生から原因食品の原材料まで追跡ができた事例であった¹⁰⁾。

事例8 : 2001年5月初旬から下旬にかけて、野田市、松戸市、浦安市、成田市、佐倉市在住の7家族9人から腸管出血性大腸菌 O157:H7 が分離された。毒素型はいずれもVT 1 & 2型で、薬剤感受性パターンおよびPFGEパターンが同一であった。同時期に、埼玉県や東京都においても腸管出血性大腸菌O157患者の多発傾向が認められ、埼玉県および東京都患者由来株と千葉件患者由来株のPFGEパターンの共通性が認められた(図6A)。これらことから、原因は不明であったが少なくとも3都県における diffuse outbreak の可能性が疑われた。

その後、8月下旬に埼玉県および東京都で和風キムチを原因とする集団感染事例¹¹⁾および diffuse outbreak¹²⁾が発生した。原因食品の和風キムチ、埼玉県患者および東京都患者から分離された株のPFGEパターンは事例8由来9株と一致すると共に、千葉県において5月から9月に発生した散発患者15家族16人から分離されたO157株も和風キムチ由来株と類似あるいは同一のPFGEパターンを示した(図6B)。2001年5月以降に全国で分離された株の20%以上が同一あるいは類似のPFGEパターンを示すことが

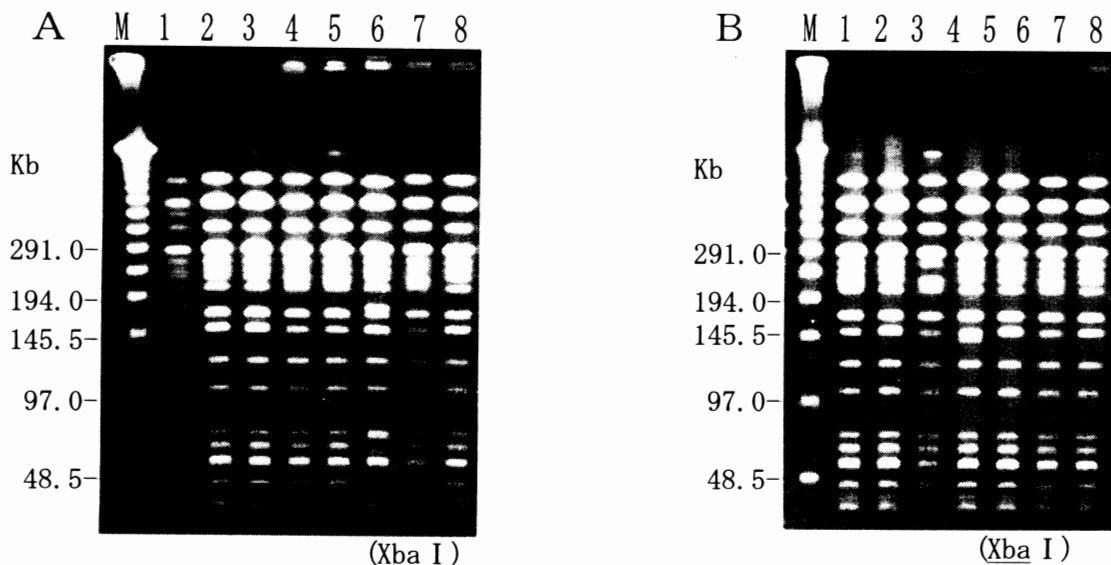


図6 野田市等で発生したO157患者由来株と東京都、埼玉県の和風キムチによる患者由来株のPFGEパターンの比較
 (A) Lane, M:molecular size marker, 1:牛乳料によるdiffuse outbreak患者株(4月分離), 2:東京都患者株(5月分離), 3,6,7,8,9:千葉県患者株(5月分離), 5:埼玉県患者株(5月分離)
 (B) Lane, M:molecular size marker, 1,2:千葉県患者株(5月分離), 3:千葉県患者由来株(9月分離), 4:千葉県患者由来株(7月分離), 5:埼玉県食品(和風キムチ)由来株, 6:東京都患者株(和風キムチ食中毒関連), 7:埼玉県患者株(和風キムチ食中毒関連)

報告され、O157によって汚染された食材が広く流通していた可能性が示唆された¹³⁾。

事例9:2001年8月に腸管出血性大腸菌O26感染症の届け出がなされた。患者は1歳の保育園児で、患者が通う保育園関係者の検便の結果園児(1歳児)12人、その兄弟2人(3歳および5歳)および母親2人の合計16人からO26:H11(VT1型)が検出された。菌陽性者からの聞き取り調査の結果、1歳園児のうち有症者の発症日は7月15日(1人)、19日(2人)、23日(2人)、8月1日、2日、4日(それぞれ1人)であることから、本事例は共通の食品等による単一暴露ではなく、むしろ水平伝播によって患者発生が拡大したと考えられる。感染者の多くは症状が軽く、症状が明らかな1歳園児7人中水様下痢が3人、軟便が3人、無症状が1人であった。

事例10:2002年6月に、勝浦保健所管内のK大学の学生を中心に、O157:H7(VT2型)による集団感染事例が発生した。菌陽性者数は職員1人および学生65人で、学年や所属クラブによる患者発生率に差は認められなかった。学生の多くが学生食堂を利用していると共に、菌陽性の職員が6月13日にのみ学生食堂を利用していた。疫学調査から学生食堂で供された昼食が原因として疑われたが、動日の食材の残品はなく、検食として冷凍保存されていた15日以降の食材について検査を行ったが、O157は検出されず原因を特定することはできなかった。

6)健康者の抗O157抗体保有状況

抗O157凝集抗体価の分布を知るために、1995年に採取された血清194検体について抗体価測定を行った。0-2歳では、43人中19人(44.1%)が10倍以下で1人が160倍を示した。3-5歳、6-10歳および21歳以上のグループでは40倍にピークがあり、160倍の抗体価を示したものはそれぞれ4人、8人、11人で年齢が上がる共に凝集抗体価も高くなる傾向が見られた。3-5歳の5人および6-10歳の2人が、640倍以上の高い値を示した(図7)。

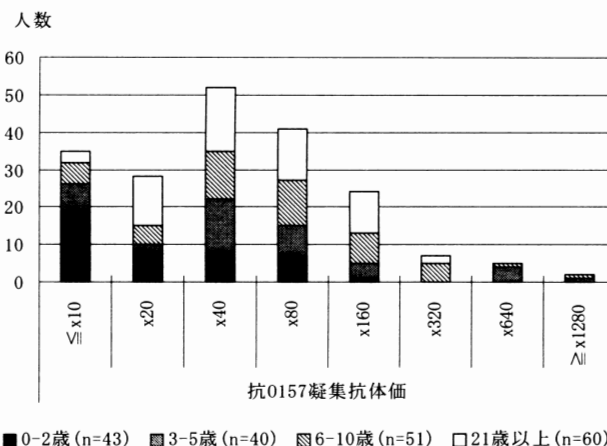


図7 健康人の抗O157凝集抗体保有状況

7)腸管出血性大腸菌感染が疑われた患者の血中抗体価測定

血清学的にO157感染を診断する目的で、腸管出血性大腸菌O157感染患者および培養で菌は分離されなかったが感染が疑われる患者38人の抗体検査を実施した。29人からは間隔を置いて採血された複数検体が得られ、9人からは1回採血の検体のみであった。ペアー血清が得られた29人の血中抗体価を測定した結果、検便でO157が検出された4人を含む16人で抗体価の上昇が確認された。10人の抗体価は10倍以下から80倍と陰性の結果を示し、3人は160倍から320倍と比較的高い値を示したがペアー血清間で抗体価に差がないことから、凝集抗体測定結果だけで最近のO157感染を疑うことはできなかった。ペアー血清が得られず単血清について測定を行った9人中2人は1280倍以上の高い抗体価を示し、7人は20倍から80倍の低い抗体価を示した。ペアー血清で抗体上昇が認められた患者、および単血清で高い抗体価を示した患者18人の病日と抗体価を表7に示す。抗体陽性と判断された多くの患者では、発病から5日以内に顕著な抗体価の上昇が認められた。

表7 抗体上昇が認められた16事例の病日と凝集抗体価

患者			病日	凝集抗体価(1:)	O157培養
番号	年齢	主な症状			
1	4	HUS	3	20	(-)
			10	1280 ≤	
2	14	下痢	6	640	(-)
			16	1280 ≤	
3	1	HUS	1	<10	(+)
			5	1280 ≤	
4	10	不明	2	80	(+)
			4	160	
			6	1280 ≤	
			24	1280 ≤	
5	55	HUS	22	160	(+)
			27	320	
			42	640	
			151	160	
6	3	下痢	7	1280 ≤	(+)
			10	1280 ≤	
7	8	HUS	7	1280 ≤	(-)
			13	1280 ≤	
8	5	HUS	4	640	(-)
			10	1280 ≤	
9	8	HUS	8	640	(-)
			11	1280 ≤	
10	3	HUS	3	80	(-)
			6	1280 ≤	
			14	640	
11	17	HUS	2	40	(-)
			7	1280 ≤	
12	4	HUS	4	80	(-)
			7	1280 ≤	
13	5	HUS	6	1280 ≤	(-)
			13	1280 ≤	
14	2	HUS	7	1280 ≤	(-)
			11	1280 ≤	
15	不明	HUS	8.05*	20	(-)
			8.15*	640	
			9.23*	<10	
16	6	HUS	9.29*	80	(-)
			9.29*	80	
17	1	HUS	3	1280	(-)
18	2	HUS	13	1280 ≤	(-)

*採血月日（発症日が不明）

4. 考察

腸管出血性大腸菌感染症は、1999年4月から施行された「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」いわゆる感染症新法において3類感染症とされ、全数把握の対象疾患となった。患者の発生は医療機関から保健所に届けられ、保健所では感染原因を特定する目的で患者の喫食調査、家族の健病調査および、必要によっては接触者検便等を行う。千葉県においてこのような過程で分離された腸管出血性大腸菌は、薬剤感受性検査やPFGEパターンの確認など主に疫学情報収集の目的で当衛生研究所に送

付される。1996年から2002年の7年間に送付されたヒト由来腸管出血性大腸菌は502株であった。血清型別内訳はO157が415株、その他の血清型が87株で依然O157が優勢の傾向にあるが、腸管出血性大腸菌の血清型の種類は確実に増加している。1996年の大流行の後、O157の検査は選択培地の改良や普及と共に一般に行えるようになり、腸管出血性大腸菌O26やO111検査用の選択分離培地も考案されている^{7,14)}。一方、千葉県でも分離され一部増加傾向も認められるO74, O117, O121, O145等、型別血清が市販されていない血清型の腸管出血性大腸菌の検出には、ペロ毒素産生の有無でスクリーニングする方法¹⁵⁾が有用で、秋田県で発生したO121:H19(VT2型)による家族内発生事例や、佐賀県で発生した保育園における集団感染事例では、増菌培養液あるいは平板培養から掻き取った菌を鋳型としたPCR法により毒素遺伝子をスクリーニングし、効果的に検査を行ったことが報告されている^{16,17)}。

1996年から2002年分離株の中で、主に小児の治療に用いられるフォスホマイシン耐性株が3株認められた。成人の治療に用いられるニューキノロン剤のシプロフロキサシン耐性株は分離されなかったが、2株のナリジクス酸耐性株はニューキノロン剤に低感受性の可能性があり、今後もその動向を注意する必要がある。腸管出血性大腸菌感染者の一部には、下痢症状の数日後に溶血性尿毒症症候群などの重症合併症を発症するケースが知られている。患者が既に抗生剤の治療を受けているあるいは病日が経過しているなどの理由で、腸管出血性大腸菌感染が疑われるものの糞便検査で病原菌が検出できない場合、腸管出血性大腸菌感染を補助的に診断するために血中抗体価の測定つまり血清学的診断が有用である^{18,19)}。しかし陽性の判断基準はあいまいで、竹田ら¹⁸⁾は20倍以上を抗体陽性とし、小林ら¹⁹⁾は160倍以上を抗体陽性、10~80倍を擬陽性としている。千葉県で1995年に採取された血清の抗O157凝集抗体価測定の結果、抗O157抗体価は加齢と共に上昇する傾向が認められた。抗体価の測定はベア一血清で行うことが望ましいが、1回採血で行う場合は確実な抗体の上昇が期待できる発症日から5日以後の血清を用い、判定は患者の年齢、臨床症状、疫学的背景を考慮に入れて行う必要がある。

1. 引用文献

- 1) (特集) 腸管出血性大腸菌感染症 2002年4月現在, 病原微生物検出情報, 23:137-138.
- 2) 満田年宏, 荒井一二, 川本進, 横田俊平 (1995): パルスフィールドゲル電気泳動法による感染症の分子疫学的解析, 日細菌誌, 50:1077-1086.
- 3) (特集) 腸管出血性大腸菌 (Vero毒素産生性大腸菌) 感染症 1996~1998.4, 病原微生物検出情報, 19:122-123.
- 4) 内村眞佐子, 岸田一則, 依田清江, 小岩井健司, 久門勝, 鶴岡佳久, 水口康雄 (1998): 保育園におけるメロンが原因の腸管出血性大腸菌O157:H7による集団食中毒事例, 千葉衛研報告, 22:31-34.
- 5) 米川雅一, 武士甲一, 池田徹也, 砂川紘之, 久保亜希子, 岡崎弘行, 更科 順, 我孫子哲也, 松本勝則, 牧野壮一, 藤井暢弘, 木村浩男 (1998): 腸管出血性大腸菌O157汚染イクラによる集団食中毒について, 北海道公衆衛生学雑誌, 12:71-79.

- 6) 刑部陽宅, 磯部順子, 平田清久, 田中大祐, 細呂木志保, 北村敬 他 (1998): イクラを原因とした腸管出血性大腸菌O157: H7 感染症の多発, 病原微生物検出情報, 19: 176.
- 7) 松礼司, 松本昌門, 三輪良雄, 齋藤 眞, 八柳 潤, 内村眞佐子, 小林一寛, 田中 博, 堀川和美, 森 良一, 宮崎 豊 (1999): 腸管出血性大腸菌O26の生化学的性状及びその選択分離培地に関する検討, 感染症学雑誌, 73: 407-413.
- 8) 内村眞佐子, 小岩井健司, 木内良治, 安田優子 (2000): 千葉県における無症状病原体保有者を主とした腸管出血性大腸菌O26による集団発生事例, 病原微生物検出情報, 21: 8-9.
- 9) Outbreak of Enterohaemorrhagic Escherichia coli O157 Mass Infection Caused by "Whole Roasted Cow" (2001): Yamamoto J., A. Ishikawa, M. Miyamoto, T. Nomura, M. Uchimura, and K. Koiwai. Jpn. J. Infect. Dis., 54: 14-15.
- 10) 内村眞佐子, 横山栄二, 岸田一則, 依田清江, 久門勝利, 小岩井健司 (2001): 千葉県東葛飾地域を中心に発生した腸管出血性大腸菌O157: H7 による広域集団感染事例, 第22回日本食品微生物学会学術総会 講演要旨集, 46.
- 11) 斉藤章暢, 大塚佳代子, 倉園貴至, 尾関由姫恵, 山口正則, 岸本 剛, 青羽信次 (2001): 「和風キムチ」を原因食品とする腸管出血性大腸菌O157集団感染事例-埼玉県, 病原微生物検出情報, 22: 290-291.
- 12) 田崎達明 (2002): 和風キムチによるEHEC食中毒事例-東京都, 病原微生物検出情報, 23: 139-141.
- 13) 寺島 淳, 泉谷秀昌, 伊豫田淳, 三戸部治郎, 田村和満, 渡辺治雄 (2002): 2001年に流行した同一PFGEタイプを示す腸管出血性大腸菌O157について, 病原微生物検出情報, 23: 139.
- 14) 田中 博, 八柳 潤, 内村眞佐子, 齋藤 眞, 小林一寛, 堀川和美, 森 良一 (1999): 腸管出血性大腸菌O111のL-ソルボース非分解性を指標とした分離培地に関する検討, 日本臨床微生物学雑誌, 9, 48-50.
- 15) 内村眞佐子 (2000): 便からのペロ毒素検出法, 検査と技術, 28, 231-236.
- 16) 八柳 潤, 齊藤志保子, 伊藤 功 (2001): 牛が感染源と考えられた志賀毒素産生性O121によるHUS発症事例-秋田県, 病原微生物検出情報, 22: 141-142.
- 17) 増本喜美子, 森屋一雄, 隈元星子, 藤原義行, 山口博之, 寺島 淳, 田村和満, 河野喜美子 (2002): 保育園における腸管出血性大腸菌O121: H19の集団発生事例-佐賀県, 病原微生物検出情報, 23: 143-144.
- 18) 竹田多恵, 本田雅敬, 五十嵐隆, 吉矢邦彦, 山中龍宏, 渡辺克也, 石原幸宏, 金 英哲, 香坂隆夫, 小林繁一, 番場正博, 中野美和子, 中村節子, 森田佐加枝, 小林 登 (1992): 溶血性尿毒症症候群 (HUS) と腸管出血性大腸菌 (EHEC) の関連性に関する血清学的検討, 小児感染免疫, 4: 11-14.
- 19) 小林一寛, 田口真澄, 勢戸和子, 吉矢邦彦, 村上城子 (1995): 下痢患者におけるペロ毒素産生性大腸菌の血清学的診断法について, 感染症学雑誌, 70: 80-85.