

【調査研究】

岡山県における感染性胃腸炎起因菌の流行疫学調査

- 患者等由来株の各種性状と疫学解析 -

中嶋 洋, 狩屋英明, 大島律子, 日笠芙美子 (微生物科)

要 旨

岡山県下で分離されたSTEC及びサルモネラ菌株を用いて、各種疫学マーカーを検査して疫学的解析を行った。分離されたSTECの血清型について見ると、例年どおりO157:H7が79.1%とヒト由来STECで高い検出率を示し、O26, O111等がそれに次いで検出された。STEC O157:H7, STX1, 2株のPFGE型については、本年度全国的に流行した a, a, が多数分離され、diffuse outbreak関連株である可能性が推察された。ヒト由来サルモネラの血清型ではS.Enteritidisが高率に検出され、ファージ型では1, 1b, 6a, 14b, 36と多種類が検出された。S.Infantisはヒトおよび鶏等から高率に検出され、一部の株のPFGE型が一致したことから、疫学的な関連が示唆された。

[キーワード：志賀毒素産生性大腸菌，STEC，サルモネラ，疫学]

1. 緒 言

近年問題となっている新興・再興感染症のうち、平成8年度に岡山県の邑久町で発生した志賀毒素産生性大腸菌(以下STECと略す)O157感染症は感染症の歴史に残る大発生の発端となり、平成9年度にも岡山市内の病院において集団発生を引き起こした。また、サルモネラ感染症ではS.Enteritidis(以下SEと略す)に汚染された鶏の輸入を契機に本菌感染症が全国で問題となっており、本県でも平成8年度に集団発生や散発例が頻発して以来、その後も本菌による発生が頻発している。このように県下では両菌による感染症が多数発生しているにもかかわらず感染源が特定できたものは少なく、特に発生事例の多数を占め流行の指標となる散発例では感染源の究明は行われておらず、流行株の把握や散発例由来株相互あるいは集発例由来株との関連性は不明である。そこでこれら2菌種について感染源・感染経路の究明や感染症の発生予防に役立つため継続した調査を実施しているが、平成13年度に県下で分離されたSTECやサルモネラ菌株の各種性状について菌株相互の関連性を検討した。

2. 材料及び方法

(1) 菌株

岡山県下で平成13年度に分離されたSTEC, サルモネラ菌株を用いた。

(2) 各種性状試験

各種性状試験は、以下の方法で実施した。

1) 生化学的性状試験

IDテスト EB20(日水)を用いて、菌の同定を行った。

2) 血清型別

分離菌の血清型別は、STECは病原性大腸菌免疫血清(デンカ生研)を、サルモネラはサルモネラ免疫血清(デンカ生研)を用いて実施した。

3) 毒素型別

STECの毒素型別は、ラテックス凝集反応による大腸菌ペロ毒素検出用キット(デンカ生研)およびPCR法¹⁾により実施した。

4) パルスフィールドゲル電気泳動法による遺伝子型別およびファージ型別

STECのパルスフィールドゲル電気泳動法による遺伝子型別(PFGE型)およびサルモネラのファージ型別(PT)は、国立感染症研究所に依頼して実施した。

また、サルモネラのPFGE型別は制限酵素Blnで処理後、泳動条件パルスタイム5~50秒、13℃, 200V, 22時間で実施した。

3. 結 果

平成13年度のSTEC散発事例の月別発生状況を、表1に示した。

表1 月別STEC発生状況

月	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	計
株数	2	11	9	23	11	16	4	1	3	5	0	1	86
検出率(%)	2.3	12.8	10.5	26.7	12.8	18.6	4.7	1.2	3.5	5.8	0.0	1.2	

表2 地域別STEC発生状況

市町村名	検出株数	検出率(%)
岡山市	33	38.4
倉敷市	32	37.2
井原市	2	2.3
邑久町	1	1.2
長船町	1	1.2
久米町	2	2.3
作東町	1	1.2
里庄町	1	1.2
瀬戸町	3	3.5
総社市	1	1.2
津山市	1	1.2
奈義町	1	1.2
真備町	4	4.7
和気町	1	1.2
他 県	2	2.3
計	86	

表3 分離株の血清型・毒素型

血清型	毒素型	株数	検出率(%)
O1:H7	1	1	1.2
O111:H-	1	7	8.1
O115:H-	2	1	1.2
O115:H10	1	1	1.2
O157:H-	2	1	1.2
O157:H7	2	15	17.4
O157:H7	1,2	53	61.6
O26:H11	1	7	8.1
計		86	

STEC散発事例は7月に26.7%と最も検出率が高く、気温の高い5月から9月に10.5%~26.7%の高い検出率を示した。他の月では検出率は低率であった。

地域別STEC発生状況を、表2に示した。

表4 STEC O157:H7, STX1, 2株のPFGE型

PFGE型	株数	検出率(%)
II a, II a, I	28	52.8
II a, II b, I	1	1.9
II a, II b, ND	1	1.9
II a, II c, I	1	1.9
II a, II c, ND	2	3.8
II a, ND, I	2	3.8
II a, ND, III	1	1.9
II a, ND, ND	3	5.7
II b, II a, ND	2	3.8
II b, ND, I	1	1.9
II d, II c, I	1	1.9
II h, II a, ND	1	1.9
II h, ND, III	3	5.7
II j, II b, I	3	5.7
II j, II c, I	1	1.9
ND, II a, ND	1	1.9
ND, ND, III	1	1.9
計	53	

表5 STEC O157:H7, STX2株のPFGE型

PFGE型	株数	検出率(%)
II h, II a, ND	1	7.7
III b, IV, IV	3	23.1
III f, IV, IV	4	30.8
III k, ND, ND	4	30.8
ND, V, ND	1	7.7
計	13	

岡山市および倉敷市が38.4%と37.2%でほぼ同じ検出率で全体の約75%が検出された。その他の地域の検出率はいずれも1.2%~4.7%と低率であった。

検出されたSTECの血清型・毒素型を、表3に示した。

8種の血清型・毒素型が検出され、最も検出率が高かったのはO157:H7, STX1, 2で53株(61.6%)で、次いでO157:H7, STX2の15株(17.4%)、O111:H-, STX1およびO26:H11, STX1がそれぞれ7株(8.1%)の順であった。

検出率の高かったO157:H7, STX1, 2およびSTX2株

表6 検体別サルモネラ検出状況

検体名 血清型	鶏肉	ササミ	飼料	砂	鳥皮	鳥ミンチ	ブロイラー 盲腸	ブロイラー と体ふきとり	計
<i>S.</i> Amsterdam			3						3
<i>S.</i> Anatum			1						1
<i>S.</i> Corvallis								3	3
<i>S.</i> Dessau or <i>S.</i> Senftenberg			7						7
<i>S.</i> Enteritidis*	7								7
<i>S.</i> Hayindogo			1						1
<i>S.</i> Hindmarsh or <i>S.</i> Bovismorbificans								2	2
<i>S.</i> Infantis		1	1	1	3	3	56	19	84
<i>S.</i> Istanbul or <i>S.</i> Hadar								2	2
<i>S.</i> Livingstone			1						1
<i>S.</i> Mbandaka			2						2
<i>S.</i> Montevideo			1						1
<i>S.</i> Oranienburg			3					2	5
<i>S.</i> Raus			1						1
<i>S.</i> Saintpaul				1					1
<i>S.</i> Schwarzengrund			1					2	3
<i>S.</i> Tennessee			2						2
O4		H(d)						1	1
O7		H(z4,z23:-)	1					2	3
O7		H(l,w)		1					1
O7		H(z4,z23)						1	1
O3,10		H(e,h)		1					1
O1,3,19				1					1
計	8	1	27	2	3	3	56	34	134

*ファージ型は1, 29, RDNC

表7 人由来サルモネラ分離状況

血清型	株数	備考
<i>S.</i> Enteritidis	55	13株は集発由来株(1) 35株は集発由来株(36) 2株は集発由来株(1b) 5株は散発由来株(14b, 1b, 1, 6a)
<i>S.</i> Saintpaul	1	
<i>S.</i> Infantis	13	
<i>S.</i> Derby	1	
<i>S.</i> Heidelberg	2	2株は集発由来株
計	72	

()内はファージ型

について、PFGE型を表4と表5に示した。

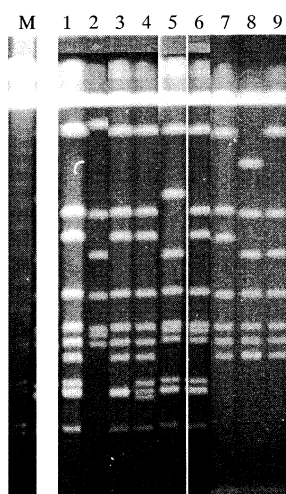
O157:H7, STX1, 2のPFGE型は17型に、O157:H7, STX2は5型に型別された。このうちSTX1, 2株では a, a, が本年度全国的に流行しており、岡山県でもこの型が28株(52.8%)と圧倒的に高率に検出された。

STX2株では b, , , f, , , k, ND, NDがそれぞれ23.1%, 30.8%, 30.8%と分離株の約84%を開めた。

一方、平成13年度のサルモネラの検体別検出状況を、表6に示した。

表8 検体別S.InfantisのPFGEパターンによる分類

レーンNo	1	2	3	4	5	6	7	8	9
検体名									
鶏ミンチ	2	1							
プロイラーと体ふきとり	4		5	1	1	4			
ササミ			1						
砂	1								
鳥皮	2								
ヒト	7		2				1	1	1
計	16	1	8	1	1	4	1	1	1



泳動条件
13℃, 200V,
5 to 50sec, 22h

図1 S. Infantisのパルスフィールド電気泳動パターン (Bln I処理)
M: 分子量マーカー、レーン1~6: 鶏材料由来株、レーン7~9: ヒト由来株

検出された23血清型のうち、最も検出率が高かったのはS. Infantisで134株中84株(62.7%)から検出され、次いでSEとS. Dessau/S. Senftenbergの7株(5.2%)、S. Oranienburgの5株(3.7%)であった。検査材料別ではプロイラーの盲腸から56株(41.8%)と高率に検出され、プロイラーと体のふきとりでは34株(25.4%)で、いずれもS. Infantisの検出率がそれぞれの分離株中100%、55.9%と非常に高い検出率を示した。この傾向はササミ、砂、鳥皮、鳥ミンチ等の検体でも見られた。プロイラーと体のふきとりからはその他8血清型の菌が検出され、飼料についても15血清型の菌が検出されており、これら2検体は多種血清型菌による汚染が示された。飼料では特にS. Dessau/S. Senftenbergが25.9%と検出率が高く、

他の検体からは本血清型が検出されなかった。毎年検出率の高いSEは鶏肉のみから87.5%と高率に検出され、分離株のファージ型は1, 29, RDNCであったが、他の検体からは検出されなかった。

ヒト由来サルモネラの分離状況を、表7に示した。

ヒトから分離された72株のうち、最も検出率が高かったのはSEの55株(76.4%)で、SEを原因菌とする集団発生事例の多いことが示された。ファージ型は1, 1b, 6a, 14b, 36で、鶏肉由来株と同じファージ型は1のみであった。S. Infantisは13株(18.1%)検出され、鶏検体等と同様に高率に検出された。その他3血清型が検出された。

S. Infantisのパルスフィールド電気泳動パターンを、図1に示した。

S. Infantis株のうち、鶏材料等由来株22株及びヒト由来株12株についてPFGEを実施したところ、鶏材料等は6パターン、ヒトでは5パターンに分類された。鶏材料由来株はレーン1, 3, 4, 6が全体的にパターンが類似しており、分子量の小さい1から2本バンドの違いによる差であったが、他の2パターンはこれらとは異なったパターンを示した。ヒトでは鶏材料等由来の2パターン(レーン1と3)に加え、分子量の小さい領域のバンドがすべて欠落した3パターン(レーン7~9)に分類された。これらは全体的に類似したパターンを示したが、それぞれ1~数本のバンドの違いが見られた。

検体別S. InfantisのPFGEパターンによる分類を、表8に示した。

パターンとして最も多く見られたのはレーン1のパターンで34株中16株(47.1%)、次いでレーン3の8株(23.5%)、レーン6の4株(11.8%)の順であった。鶏材

料ではレーン1, 3, 6のパターンが多く見られたが、プロイラーと体ふきとりからはさらに2種類のパターンを示す株が分離されている。ヒト由来株では鶏で多く見られたレーン1と3のほかに、鶏では見られなかったレーン7, 8, 9のパターンを示す株が分離された。

4. 考 察

岡山県におけるSTEC感染症由来株の血清型・毒素型は例年通りO157:H7, STX1, 2が最も検出率が高く、これに次いでO26:H11, STX1やO111:H-, STX1が高率で全国的な傾向²⁾と一致しているが、O1:H7, O115:H-やH10等の検出頻度の低い型も検出された。このような血清型はほぼ毎年のように少数検出されており、多様な血清型の菌による感染源の汚染と人への感染の拡大が懸念される。さらにO157分離株のPFGE型も例年のように多種類の型の株が検出され、感染源が広範囲に分布していることが推察されたが、本年度は埼玉県での発生事例³⁾と同じ a, a, のPFGE型株による広域な感染事例も発生しており、本調査の継続は疫学上重要な役割を果たすものと考えられる。

一方、サルモネラ感染症の分離株の血清型は、ここ十年以上SEが上位を占めており、その主な原因食品は鶏卵および鶏検体である。しかし本年度これらの検体から分離された株の血清型を見ると他血清型の菌が多数検出されている。中でもS. InfantisはSEより高率に検出されヒトからも多数分離されており、両者のPFGE型別による遺伝子パターンは一部の株で一致した。このことから、

本菌の鶏や環境材料等への汚染の拡大や感染源としての疫学的関連性が示唆され、サルモネラ感染症を拡大させる新たな原因菌となる可能性があることから、本菌による感染予防対策上、早急な対応が必要と考える。また、ヒト由来株のみに見られるPFGE型の存在は、更に多種類の遺伝子型（PFGE型）菌による汚染拡大を示唆しており、またプロイラーと体や飼料から多種血清型菌が多数検出されたことから、鶏関連材料や環境由来検体等についての一層の調査とサルモネラによる汚染拡大の監視が必要であると考えられる。

謝 辞

本調査の実施に際して、PFGE型別及びファージ型別をお願いしました国立感染症研究所の寺嶋 淳先生、泉谷秀昌先生をはじめ、菌株の分与にご協力いただきました関係機関の先生方に深謝いたします。

文 献

- 1) 小林一寛：腸管出血性大腸菌の同定法 2. PCR法，臨床検査，36，1334～1338，1992
- 2) <特集> 腸管出血性大腸菌感染症，病原微生物検出情報，22，135～136，2001
- 3) 斉藤章暢，大塚佳代子，倉園貴至他：<速報> 「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，22，290～291，2001