

コレラが疑われた海外旅行者下痢症患者から EAST (Enteraggregative Escherichia coli (EAggEC) Heat-Stable Enterotoxin) 遺伝子保有 EAggECおよび毒素原性大腸菌 (E T E C) が分離された 2 事例について

八柳 潤 齊藤志保子 佐野 健 森田 盛大

平成5年度に当所に依頼されたコレラ菌検査6名のうち、下痢等の症状が顕著であった2名について病原性大腸菌検査を並行して実施した結果、2名共E T E CおよびE A S T産生 EAggEC の混合感染を受けていたことが明らかとなった。なお、いずれの事例からもコレラ菌は検出されなかった。今回の事例により、秋田県内で初めてE T E Cおよび EAggEC の輸入感染症が確認された。

キーワード：輸入感染症, Enterotoxigenic Escherichia coli, Enteraggregative Escherichia coli, PCR

I はじめに

コレラは法定伝染病であると共に検疫伝染病にも指定されており、真性患者との接触者検査等が当所においても実施されている。平成5年度は6名のコレラ菌検査を実施した。その内訳は、4名が真性患者との航空機同乗接触者であり、2名が下痢等の症状が顕著であった者であった。6名ともにコレラ菌は検出されなかったが、下痢等の症状が顕著であった2名についてコレラ菌検査と並行して病原性大腸菌検査を実施したところ、どちらの患者からもE A S T産生 EAggEC と毒素原性大腸菌 (E T E C) が検出された。EAggEC は、近年、疫学的に下痢起病性が提唱された新しいタイプの病原性大腸菌であり、最近、それらのうちにE A S Tと呼ばれる新しい耐熱性毒素を産生するものがあることが報告されている¹⁾。

秋田県内においてE T E Cの輸入感染症が確認されたのはこの2事例が初めてであり、加えて、いずれの事例もE A S T産生 EAggEC との混合感染が認められるという特徴的なものであったので、これら2事例の概要、細菌検査の結果等について報告する。

II 方法

1. 病原性大腸菌の検出

検体からの病原性大腸菌の検出は既報のE C - P C R法²⁾に準じて実施し、E H E C, E T E C, E I E C, A E E C, EAggEC の検出を試みた。

- (1) スクリーニング用検体の調製：患者からの検体をE C培地に接種し、37°Cで1夜培養した。培養液の一部を遠心し、得られたペレットを洗浄、生食液にけんだくした後、5分間沸騰水中で加熱、氷冷したものをP C R用検体とした。
- (2) E H E Cの検出：既報のP C R法に従い実施し

た³⁾。

- (3) E T E C, E I E Cの検出：伊藤たちが確立した混合プライマーP C R法に従い実施した⁴⁾。
- (4) A E E Cの検出：本誌別項 (P45)に記載した方法により実施した。
- (5) E A S T産生 EAggEC の検出：E A S T産生 EAggEC 検出用プライマーはSavarinoたちが報告したE A S Tの構造遺伝子の塩基配列¹⁾に基づき、106bpのD N A断片が増幅されるように設計した。P C R反応は、既報³⁾に従い実施したが、プライマー濃度は1.0μMとし、増幅断片の検出には4.0%ニューシーブG T Gアガロースを使用した。
- (6) スクリーニング陽性となった検体からの菌分離：上記スクリーニングで陽性となった検体のE C培地培養液について、D H L平板を使用して分離培養を実施して、生じたコロニーを今回の事例では15個釣菌した。個々の菌株について、上記各P C R法によりスクリーニングで陽性となった菌種の同定を実施した。
- (7) 分離された病原性大腸菌株の血清型別：既報の方法³⁾に従って実施した。

2. 標準菌株

E H E Cの標準株には、東京都立衛生研究所工藤泰雄博士から分与されたE D L-931株を使用した。

E T E Cの標準株には、秋田県中央家畜保健所伊藤隆主査から分与された921130-12株 (L T, S T産生) を使用した。E I E Cの標準株には理化学研究所から分与されたJ C M-8363株を使用した。A E E C, EAggECの標準株には、米国マリーランド大学 Center for Vaccine Development のJames B. Kaper博士から分与されたE2348/69株および17-2株をそれぞれ使用した。

Ⅲ 結果

1. 事例 1

患者 R. M. 23才 女性 旅行会社添乗員
渡航先 インドネシア
渡航月日 1994年2月13日から2月15日
症状と経過 発症日：2月15日（帰国途中の機内）
発症時の症状：黄色水様便性下痢，腹痛
嘔吐
2月16日：06：40 成田着．嘔吐，下痢
（成田検疫所にて点滴，鎮痛
剤投与）
17：00 自宅着．下痢持続，
嘔吐 消失，体温37.2度
Y組合総合病院に入院

細菌検査結果

- (1) コレラ菌：陰性であった．
- (2) 病原性大腸菌：図1に示すとおり，スクリーニングでE T E CのL T遺伝子の増幅断片，およびE A S T遺伝子の増幅断片が検出された．E H E C，E I E C，A E E Cは検出されなかった．次に，スクリーニングに供したE C培地培養液を分離培養して得た15菌株について，E T E C，E A S T産生E A g g E Cの同定を実施した結果を図2に示した．供試菌株15株のうち，菌株No. 3，4，8がL T遺伝子保有E T E Cであり，他12株は全てE A S T産生E A g g E Cであった．
- (3) 分離したE T E C，E A S T産生E A g g E Cの



図1 患者R.Mの病原性大腸菌スクリーニング結果

血清型：分離したL T産生E T E Cの血清型はO18
：H U Tであり，市販の型別用血清キットでは H
型別が不能であった．また，E A S T産生
E A g g E Cは市販の血清型別キットではO型別，H
型別ともに不能であった．

2. 事例 2

患者 Y. K. 44才 男性
渡航先 疫学調査個人票の添付がなかったため不
明
渡航月日 上記理由により不明
症 状 下痢（経過等詳細不明）
検体採取
年月日 1994年1月27日
細菌検査結果

- (1) コレラ菌：陰性であった．
- (2) 病原性大腸菌：スクリーニングによりS T産生E
T E CとE A S T産生E A g g E Cが検出された．
分離培養の結果E A S T産生E A g g E C（血清型O
U T：NM）とS T，およびE A S T遺伝子を共に
保有するE T E C／E A g g E Cとみなし得る株（血
清型O148：H28）が分離された．

Ⅳ 考察

以上のように，今回我々は秋田県内において初めて病
原性大腸菌の輸入感染症事例を確認した．国内における
E A S T産生E A g g E Cの検査は，現時点では国立予
防衛生研究所以外の機関では殆ど実施されていないもの
と推察される．我々は国立予防衛生研究所，細菌部の伊
藤健一郎博士の指導により本菌のP C Rによる検査法を
導入し，本菌の検査に取り組んで来た．その結果，今回
本菌が秋田県内において輸入感染症の原因菌となってい
ることが初めて明らかとなった．さらに，E T E Cの血
清型に属する株にE A S T遺伝子を保有する株が存在す
ることも初めて明らかとなった．

感染性腸炎研究会が1990年に実施した調査¹⁾によると，
都市立伝染病院に入院した症例から分離された外国由来
株195株のうち，病原性大腸菌が約15%（30株）を占め
ており，E T E Cはそのうち16株（約53%）を占めてい
る．当該調査においてはA E E C，E A g g E Cの検査は
実施されていないので，これらを含めると輸入感染症に
おける病原性大腸菌の占める割合はより大きくなるもの
と推察される．秋田県においては，輸入感染症の実態は
今まで調査されたことがなかったことから，ほとんど明
らかになっていなかった．今回の事例を契機として，今
後も海外旅行者下痢症の原因菌検索に取り組み，今後，
海外へ旅行する県民に対して行政が啓蒙活動を実施す
る際に必要となるデータを蓄積していく必要があるものと

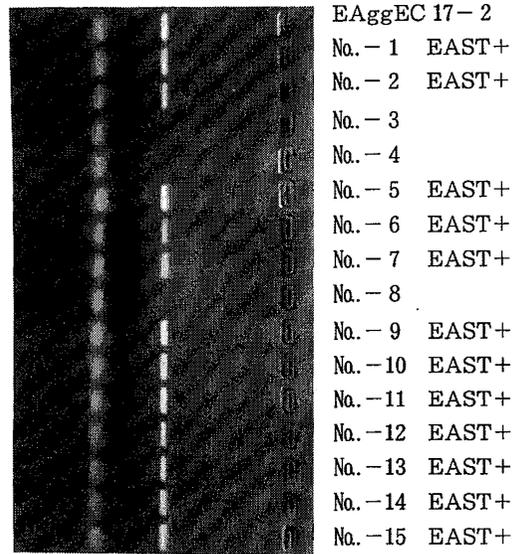
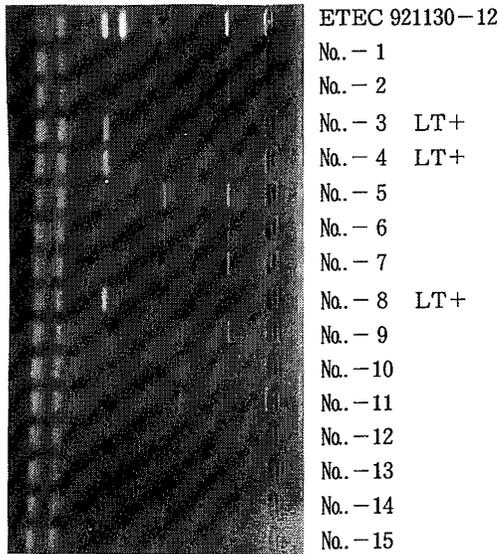


図2 分離菌株のLT遺伝子, EAST遺伝子の保有状況

考えられた。一方、今回データは示していないが、我々の予備的調査により、EAST産生EAggECが県内で発生した散発下痢症、下水等の環境、さらには原因菌不明の食中毒患者から分離されるなど、本菌が下痢起病性病原菌として重要な位置を占める可能性が示唆されている。このため、今後も本菌感染症の実態について調査を継続する必要があるものと考えられた。

V 文 献

1) S.J. Savarino et al. Enteroaggregative *Escherichia coli* Heat-Stable Enterotoxin 1 Represents Another Subfamily of *E. coli* Heat-

Stable Toxin, *Pro. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993; 90: 3093-3097.

2) 八柳潤, 他. 秋田市内で市販されていた輸入牛肉からの腸管出血性大腸菌の分離. *秋田県衛生科学研究所報*, 1993; 37: 39-44.

3) 八柳潤, 他. 平成3年に秋田県で分離された腸管出血性大腸菌について. *秋田県衛生科学研究所報*, 1992; 36: 43-47.

4) 坂上賀洋. 輸入感染性腸炎について, *感染性腸炎研究会・1990年の調査成績, 病原微生物検出情報*, 1991; 12: 135-137.