

資

料

平成9年度に秋田県で発生した 腸管出血性大腸菌感染事例について

八柳 潤 木内 雄 斉藤志保子 遠藤 守保 佐藤 宏康 宮島 嘉道

平成9年度は EHEC O157 感染事例が12事例、Non-O157 感染事例が15事例県内で発生し、過去最多であった。Non-O157 EHEC としてはこれまで国内での報告がなかった EHEC O121:H19 が初めて分離された。EHEC O121:H19 感染者はいずれも成人であったが比較的重篤な症状を呈し、EHEC O121:H19 は Non-O157 EHEC の中では注目すべき菌型であると考えられた。

溶血性尿毒症症候群 (HUS) を併発した患者について、血清診断により EHEC O157 感染を証明し得た事例が2事例あったが、血清診断によっては指定伝染病患者の届出がなされなかったことから、事例の取り扱いについて検討する必要が認められた。

平成9年度に分離された EHEC O157 のうち、VT-2 単独産生株と VT-1&2 産生株についてそれぞれ PFGE パターンを比較した。EHEC O157:H7 VT-1&2+ を原因とする8事例のうち、4事例に由来する株の PFGE パターンが同一であったことから、同一起源から派生した EHEC O157 が県内で、いわゆる Diffused Outbreak を惹起していたものと考えられた。一方、VT-2 単独産生株4株のパターンはお互いに顕著に異なっており、これらの VT-2 単独産生株はそれぞれ異なる起源から派生して県内に侵淫したのと考えられた。

キーワード：EHEC O157、Non-O157 EHEC、血清診断、業態者、PFGE パターン、Diffused outbreak

I はじめに

腸管出血性大腸菌 (EHEC) O157:H7 による食中毒が平成8年度は全国的に多発したため、EHEC 感染症に対する医療関係者や社会の関心度が高まった。EHEC 感染症は同年8月に法定伝染病の指定伝染病となった。このようなことから、平成8年度は秋田県においても4事例の EHEC O157:H7 感染事例と10事例の O157 以外の EHEC、いわゆる Non-O157 EHEC 感染事例が確認された¹⁾。また、Non-O157 EHEC による感染事例が多数発生したことは、平成8年度に秋田県で発生した EHEC 感染症の特徴のひとつであった。一方、EHEC 感染症が指定伝染病となったために、EHEC 感染事例に関して保健所により疫学調査が実施されるようになった結果、秋田県においても、EHEC 感染事例の多くに家族内感染が認められること、および感染源の特定が非常に困難であることなどが明らかとなった。なお、当所を含め、地方衛生研究所では平成3年から遺伝子増幅法を応用した EHEC を含む病原微生物の迅速同定法を導入し、平成8年度以降も EHEC 感染症に関する行政対応を支援してきた。さらに、当所では平成8年にパルスフィールド電気泳動 (PFGE) システムを導入し、EHEC 感染症の迅速診断と分離株の分子疫学的解析が実施可能な体制を整備した。

平成9年度は県内で過去最多となる27件の EHEC 感

染事例が発生した。Non-O157 EHEC 感染事例ではこれまで国内での報告がなかった EHEC O121:H19 による感染事例が初めて確認された。また、溶血性尿毒症症候群 (HUS) を併発した患者について、血清診断により EHEC O157 感染を証明し得た事例も2事例経験した。今回はこれらの事例、および EHEC O157 の PFGE パターンの比較成績について報告する。

II 材料と方法

1. EHEC 検査検体受付状況

平成9年4月から平成10年3月までに、医療機関から既報¹⁾のルートにより提出された糞便、大腸菌分離株、および EHEC 感染事例が発生した際の患者家族の糞便、感染源調査に係る食品、飲料水、フキトリなど総計2225検体について EHEC 検査を実施した。

2. EHEC の検索・同定

既報¹⁾に従い検索を実施した。なお、秋田県総合保健事業団において PCR 法により実施している業態者の EHEC 保菌検査において、EHEC 感染疑いと判定され、当所に EHEC 分離同定目的で提出された検体からの EHEC の分離には、レインボーアガーを併用した。

3. EHEC 分離株の血清型の決定

分離株の O 群別、H 型別共に市販の血清キットにより実施した。しかし、説明書に明記されているとおり、

市販血清による成績は O 群の推定の域を出ない。また、市販血清には170種類以上ある O 群、50種類以上ある H 型の一部しか含まれていないために、市販血清では型別不能な株に遭遇した。このようなことから、一部の分離株を既報¹⁾のとおり WHO Collaborating Centre, The International Escherichia and Klebsiella Centre of Flemming Schetz 博士に送付し、血清型の決定を依頼した。

4. EHEC 感染症の血清学的診断

HUS を併発し、抗生物質投与を受けたために EHEC の分離が不可能であった患者の血清、16検体について、ウイダル法に準じて EHEC 感染の血清学的診断²⁾を試みた。

5. EHEC 分離株の PFGE パターン

EHEC O157 12株、O121 : H19 2株を供試した。染色体 DNA 包埋アガロースプラグは既報¹⁾のとおり Bio Rad 社製キットを使用して調製し、泳動は既報¹⁾のとおり感染研が示したパラメーターにより実施した。

Ⅲ 結果および考察

1. 平成9年度に県内で発生した EHEC 感染事例

平成9年度に発生した EHEC 感染事例を表1に示した。EHEC が分離同定され、EHEC 感染者としての届出がなされた事例は EHEC O157 感染事例が12事例、Non-O157 EHEC 感染事例が15事例の計27事例であった。EHEC 感染事例の発生は7月と8月に集中したが、県内では従来発生をみなかった2月と3月にも感染事例

が発生し、EHEC 感染の発生が通年化する傾向がみられた。家族（職場の同僚、老人ホームの同室者を含む）内感染は O157 感染事例の9事例、Non-O157 感染事例の3事例に認められた。また、HUS の発症は EHEC O157 による2事例に認められ、1事例においては患者が DIC も発症したが、いずれも後に回復した。

15事例の Non-O157 EHEC 感染事例のうち、事例8と9は国内での分離報告がない EHEC O121 : H19 が原因であったことから注目すべき事例であった。EHEC O121 : H19 感染者は15歳女性と20歳男性であり、いずれも血便と強い腹痛を伴う比較的重篤な症状を呈した。両者はいずれも入院治療を必要とし、15歳女性は血尿も呈したが、両者ともに回復した。分離された EHEC O121 : H19 2株はいずれも市販血清キットにより加熱菌のみが O114 群に群別されたが、WHO に血清型の決定を依頼したところ、いずれも O121 : H19 であるとの回答を得た。なお、データは示さないが、2株の EHEC O121 : H19 分離株はいずれも VT-2 陽性 EHEC O157 と同様に eaeA、VT-2 遺伝子、CVD419 プロープとハイブリダイズする約60 MDa のプラスミド、およびエンテロヘモリジン産生能を有していた。また、2株の in vitro における VT-2 産生能も EHEC O157 と同程度であり、EHEC O121 : H19 が EHEC O157 と同等の Virulence property を保有していることを示すものと考えられた。Non-O157 EHEC に感染した場合、比較的軽症に推移するケースが多いとされている。しかし、EHEC O121 : H19 は感染者に血便や強い腹痛を惹起し、

表1 平成9年度に県内で発生した EHEC 感染事例一覧

番号	発生日	保健所	性別・年齢	血清型	ベロ毒素型	家族感染	備考	番号	発生日	保健所	性別・年齢	血清型	ベロ毒素型	家族感染	備考
1	4	秋田	女3歳	O128 : NM	VT-2	無		16	8	秋田市	女42歳	O157 : H7	VT-1&2	無	
2	4	鷹巣	女1歳	O26 : H11	VT-1	有4人		17	8	秋田市	女29歳	O157 : H7	VT-2	有1人	業態者
3	6	大曲	男1歳	O157 : H7	VT-2	有1人	血便	18	8	大曲	女2歳	O157 : H7	VT-1&2	有2人	
4	6	湯沢	女2歳	O26 : H11	VT-1	無		☆	8		男11歳	O157血清診断		不明	HUS
5	7	秋田市	女9歳	O157 : H7	VT-2	有1人		☆	8		男3歳	O157血清診断		不明	HUS
6	7	大館	男3歳	O26 : H11	VT-1	無		19	8	秋田市	女?	O128 : H2	VT-1	無	
7	7	本荘	男83歳	O8 : H19	VT-2	無		20	9	本荘	女79歳	O157 : H7	VT-1&2	有1人	HUS
8	7	横手	女15歳	O121 : H19	VT-2	無	血便	21	9	大曲	女?	O26	?	無	SRL
9	7	秋田市	男20歳	O121 : H19	VT-2	無	血便	22	9	秋田市	女44歳	O157 : NM	VT-2	有1人	業態者
10	7	能代	男11歳	O157 : H7	VT-1&2	有4人	血便	23	10	鷹巣	女2歳	O157 : H7**	VT-1&2	有2人	HUS
11	7	能代	女14歳	O157 : H7	VT-1&2	無	血便	24	11	大館	女55歳	O128 : H2	VT-1	無	業態者
12	7	鹿角	女58歳	O157 : H7	VT-1&2	無	血便	25	2	大曲	??	O8 : HNT	VT-1	無	業態者
13	7	湯沢	男3歳	O26 : H11	VT-1	有1人		26	2	男鹿	女?	O8 : HNT	VT-1	無	業態者
14	7	本荘	男61歳	O26 : NM	VT-1	有2人		27	3	横手	男?	O157 : H7	VT-1&2	無***	
15	8	本荘	男?	O26 : H11	VT-1	無		(事例25以降は平成10年に発生)							

* : 他に患者の同室者（老人ホーム）に感染者一人

** : 患者本人からは菌分離陰性、家族2人から菌分離

*** : 患者の職場の同僚2人が感染

☆ : 血清診断

且つ、EHEC O157 と同等の Virulence property を保有していると考えられたことから注目すべき Non-O157 EHEC である。今後も県内への本菌の侵淫状況を監視する必要があると考えられたが、O121 群は市販の血清キットに含まれていないことから通常の検査法では検出不可能であり、スクリーニング用血清の市販が望まれる。

一方、秋田県総合保健事業団が実施している業態者検便により、2名の EHEC O157 感染者を含む5名の EHEC 感染者が確認された。業態者は EHEC 集団食中毒の感染源となり得ることから、秋田県総合保健事業団が実施している業態者検便は EHEC 食中毒の予防に関して効果的に機能していると考えられた。なお、確認された EHEC 感染者については菌の陰性化が確認されるまで調査が実施された。

2. EHEC O157 感染症の血清診断

8月に発生した2名の HUS 患者は、抗生物質投与のために EHEC の分離が不可能であったことから、O157 と O26 に対する血清抗体価の測定をウィザール法に準じた凝集法により試みた。患者の1名は3病日に40倍であった O157 抗体価が4病日に640倍まで上昇したことから、O157 に感染したものと考えられた。一方、他1名の患者はペアー血清が入手できなかったものの、7病日に採取された血清が1280倍の O157 抗体価を示したことから O157 に感染したことが強く示唆された。なお、いずれの患者の血清も O26 に対する抗体価は20倍未満であった。このように、2名は O157 に感染したものと考えられたが、いずれの患者も EHEC O157 が分離されなかったために指定伝染病患者としての届出はなされなかった。この場合、患者家族に EHEC 感染者が存在し、その家族が新たな感染源となる可能性が否定できない。実際、事例23の HUS 患者は菌分離が陰性であったものの、医療機関が自主的に実施した検査によりその家

族に O157 感染者が確認された。今後、血清診断された EHEC 感染者の取り扱いについて検討を要すると考えられた。

3. 平成9年度に分離された EHEC O157 の PFGE パターン解析

平成9年度に分離された EHEC O157 のうち、表2に示す VT-2 単独産生株と VT-1&2 産生株についてそれぞれ PFGE パターンを比較した。図1に示すように EHEC O157 : H7 VT-1&2+ を原因とする8事例のうち、表1に示す事例10、11、12、18に由来する4株の PFGE パターンが同一であることが明らかとなった。このことは、同一起源から派生した EHEC O157 が7月から8月にかけて県内で相次いで感染事例を惹起したことを示唆しており、見かけ上散発事例であるが、実際は共通起源に由来する菌により惹起された一種の集団感染事例、いわゆる Diffused Outbreak が県内で発生していたものと考えられた。一方、VT-2 単独産生株4株のパターンはお互いに顕著に異なっており、これらの VT-2 単独産生株はそれぞれ異なる起源から派生して県内に侵淫したものと考えられた。

Diffused Outbreak 事例においてはこれまでに焼き肉店、カイワレダイコン、イクラなど、感染源が解明された事例がある。このように、Diffused Outbreak 事例を詳細に調査することは、通常困難を極める O157 感染事例の感染源解明の突破口となり得るものと考えられ、今後とも県内において EHEC 分離株の PFGE パターンを比較検討することを通して Diffused Outbreak の発生を継続して監視する必要があるものと考えられた。

表2 PFGE 供試株

PFGE レーン	VT型	事例(表1)	血清型	担当保健所	発症月日	備考
1	1 & 2	10	O157 : H 7	能代	7月20日	
2	1 & 2	11	O157 : H 7	能代	7月20日	
3	1 & 2	12	O157 : H 7	鹿角	7月23日	
4	1 & 2	16	O157 : H 7	秋田市	8月18日	
5	1 & 2	18	O157 : H 7	大曲	8月20日	
6	1 & 2	18	O157 : H 7	大曲	—	鶏舎の鶏糞
7	1 & 2	20	O157 : H 7	本荘	8月24日	
8	1 & 2	23	O157 : H 7	鷹巣	10月23日	
9	2	3	O157 : H 7	大曲	6月10日	
10	2	5	O157 : H 7	秋田市	7月5日	
11	2	17	O157 : H 7	秋田市	8月20日	
12	2	22	O157 : NM	秋田市	9月21日	

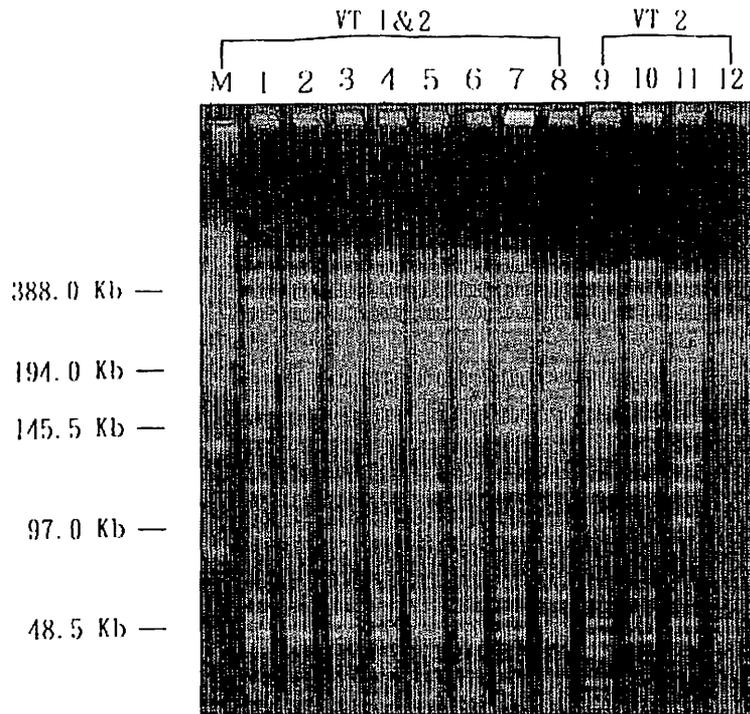


図1 平成9年度に秋田県内で分離された EHEC O157 の XbaI PFGE パターン

IV 文 献

- 1) 八柳 潤, 他. 平成8年度に秋田県内で発生した腸管出血性大腸菌感染事例について. 秋田県衛生科学研究所報, 1997 ; 41 : 31~34.
- 2) 小林一寛, 他. 下痢患者におけるベ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, 1996 ; 70 : 80~86.