

# STp遺伝子をもつ毒素原性大腸菌0169：H41による 食中毒に関する疫学的検討

樋脇 弘<sup>1</sup>・椿本 亮<sup>1</sup>・塩津 幸恵<sup>1</sup>

本田 己喜子<sup>1</sup>・栗原 淑子<sup>1</sup>・小田 隆弘<sup>1</sup>

## Survey on food poisonings caused by Enterotoxigenic *Escherichia coli* 0169:H41 strains that possess STp gene

Hiroshi HIWAKI, Makoto TSUBAKIMOTO, Sachie SHIOTSU  
Mikiko HONDA, Yoshiko KURIHARA and Takahiro ODA

平成5年7月から8月にかけて発生した食中毒2事例の患者から、0169：H41のST産生性ETECが検出された。これらのETECのST遺伝子を検査したところ、いずれもSTp遺伝子を保有しており、糖分解試験と薬剤感受性試験の結果から、これらの株は、同一の由来であると思われた。STp遺伝子をもつETECは、豚、牛、羊などの家畜から分離されており、本食中毒の汚染源としてこれら動物などの可能性が考えられた。

ETEC（0169：H41）の家畜における保有状況について、牛、豚および鶏の盲腸便をそれぞれ約100頭ずつ検査したが、0169に該当する大腸菌は見つからなかった。

当所において、下痢症患者から分離されたST産生性ETECの保存株33株について、そのST遺伝子を検査したところ、STh遺伝子を保有する株が23株、STp遺伝子を保有する株が10株に分類された。このSTp遺伝子を保有するETECの検出数は、平成3年より増加していることがわかった。

Key words：毒素原性大腸菌 Enterotoxigenic *Escherichia coli*, 耐熱性毒素 ST  
STp遺伝子 STp gene, STh遺伝子 STh gene, 0169：H41

### I はじめに

毒素原性大腸菌（ETEC）の産生するエンテロトキシンのうち、耐熱性毒素（ST）は、メタノール溶解性のST<sub>A</sub>と不溶性のST<sub>B</sub>に分けられる<sup>1)</sup>。ST<sub>A</sub>は、乳飲みマウスの胃内接種や乳飲みブタの腸管ループテストで活性を示し、仔ブタの腸管ループには活性がない<sup>1)</sup>。これに対しST<sub>B</sub>は仔ブタの腸管ループで活性を示し、乳飲みマウスや乳飲みブタの腸管ループテストでは活性が認められない<sup>1)</sup>。ETECによる下痢症において検査の対象となるのはST<sub>A</sub>であるが、ST<sub>A</sub>は、アミノ酸数およびアミノ酸配列の差異により、STp（ST<sub>A1</sub>）とSTh（ST<sub>A2</sub>）に区別され、その産生性はプラスミドに支配されてい

る<sup>2)</sup>。

平成3年、静岡県<sup>3)</sup>を最初に、千葉県<sup>4)</sup>、広島市<sup>5)</sup>の各地で、O抗原型別が不可能なST産生性のETECによる食中毒が続発した。同年、大阪府<sup>6)</sup>と鹿児島県<sup>7)</sup>で0169のETECによる食中毒が発生し、0169の市販抗血清に凝集しないETECであることも指摘された<sup>8)</sup>。平成4年においても愛媛県<sup>9)</sup>、北九州市<sup>10)</sup>、埼玉県<sup>11)</sup>で0169のETECによる食中毒が相次いで発生し、これらの事例の過半数は、大規模食中毒となった。

当所においても、平成5年の7月と8月に、2事例の集団下痢症患者を検査したところ、いずれの事例からも0169：H41のST産生性のETECが分離され、本菌はSTp遺伝子を保有していることが判明したので紹介する。

これらの食中毒の原因菌は、いずれも0169：H41の

1. 福岡市衛生試験所 微生物課

ST産生性のETECであると考えられるが、本菌は国内では今までに報告されていないETECの血清型であり、本菌の汚染源や汚染経路については不明である。そこで、家畜における本菌の保有状況について調査を行った。

また、ヒト由来ETECのST産生性は、STh遺伝子によるものか、またはSTp遺伝子によるものかは、今まで十分調べられていない。そこで、当所で分離された海外旅行者由来のETEC保存株について、そのST遺伝子タイプを調べ、0169:H41株と比較検討してみた。

## II 検査方法

### 1. 大腸菌の分離、性状検査

DHL寒天培地から赤色集落を釣菌し、TSI培地、LIM培地およびシモンズのクエン酸塩培地で性状を確認し、血清型別は市販の病原大腸菌免疫血清（デンカ生研）を用いて行った。

0169:H41の大腸菌の糖分解試験は、API 50 CH (API SYSTEM S.A.)を用いて実施した。

### 2. 大腸菌の病原性試験

毒素産生用培地にはリンコマイシン加CAYE培地を使用し、菌を一夜振とう培養後、ポリミキシンB処理した培養液の遠心上清から易熱性毒素(LT)はVERT-RPLA（デンカ生研）で、STはコリストEIA（デンカ生研）で検出した。

菌のST遺伝子は、polymerase chain reaction法で検査した。SThおよびSTp遺伝子検出プライマーは、ESH-1, 2およびESP-1, 2（島津製作所）<sup>12)</sup>を使用し、94℃1分間の熱変性、55℃1分間のアニーリング、74℃1分間の伸長の計35サイクルの増幅を行い、3%アガロース電気泳動で目的とした大きさのDNA断片(SThは136bp, STpは123bp)の検出を行った。

### 3. 薬剤感受性試験

アンピシリン、セファロチン、カナマイシン、ゲンタマイシン、クロラムフェニコール、テトラサイクリン、オレアンドマイシン、ナリジクス酸の8薬剤について、3濃度ディスク（栄研トリディスク）法で実施した。

## III 結 果

### 1. 2事例の集団下痢症について

#### 1) 事例1の概要

平成5年7月29日から8月3日にかけてS県のU町にある旅館を利用した人たちのうち100名以上が、1～2日の潜伏期間の後、水様の下痢症状を呈したもので、原因食品は不明であった。S県では、一部の発症者と調

理従業員から0169の血清型のETECを検出したため、8月9日、本市在住の発症者についての調査依頼があった。

当所で、7名の患者の検便を実施した結果、5名から共通して0169:H41の血清型の大腸菌が検出された。

#### 2) 事例2の概要

平成5年8月25日から8月29日にかけて北海道を周遊するツアーに参加したグループ43名中26名が、また、8月27日から8月30日にかけて北海道を周遊するツアーに参加した別のグループ25名中9名が、8月28日より下痢、腹痛症状を呈したもので、発生施設はO温泉にあるホテルであったが、原因食品は不明とのことであった。

調査依頼のあった8名の患者の検便を実施した結果、7名から共通して0169:H41の血清型の大腸菌が検出された。

3) 両事例から検出された0169:H41の大腸菌について

0169:H41の大腸菌の分離状況は、事例1においては、供試株5株中の2株が1名、同3株が2名、同4株が1名、同5株が1名であった。事例2では、7名とも供試株のすべてが0169:H41の大腸菌で、純培養状に検出された(表1)。

表1に示すように、両事例から分離された0169:H41の大腸菌は、ST単独産生のETECであり、PCRの結果、STp遺伝子を保有していることが判明した(図1, 2)。なお、事例1の患者No.3および事例2の患者No.10の2名から分離された0169:H41の大腸菌の中には、一部ST非産生株が見られた。

分離された12株のETEC(1名1株、計12名)と毒素非産生の0169:H41の大腸菌2株(1名1株、計

表1 ETEC(0169:H41、ST+)の検出状況

	患者 No	0169:H41 /分離株数	ST産生 株数	STh 遺伝子	STp 遺伝子
事例1	1	3/5	3	-	+
	2	5/5	5	-	+
	3	4/5	3	-	+
	4	2/5	2	-	+
	5	3/5	3	-	+
事例2	6	3/3	3	-	+
	7	3/3	3	-	+
	8	3/3	3	-	+
	9	3/3	3	-	+
	10	4/4	3	-	+
	11	4/4	4	-	+
	12	4/4	4	-	+

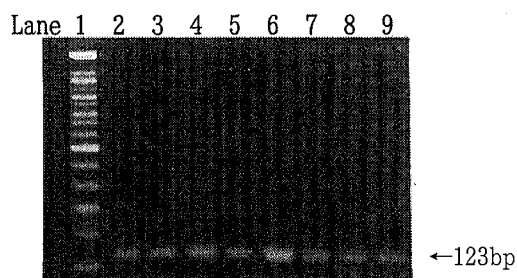


図1 STpプライマーによるPCR結果

レーン 1	100bp DNA Ladder
2	0169 : H 41 (患者No.1)
3	0169 : H 41 (患者No.2)
4	0169 : H 41 (患者No.3)
5	0169 : H 41 (患者No.4)
6	0169 : H 41 (患者No.5)
7	0169 : H 41 (患者No.6)
8	0169 : H 41 (患者No.7)
9	STp陽性コントロール

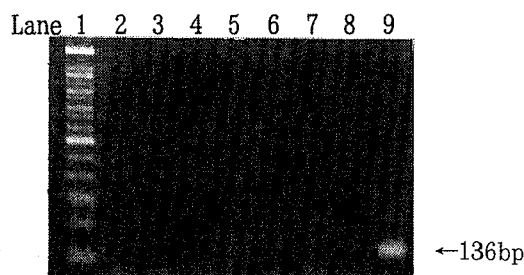


図2 STthプライマーによるPCR結果

レーン 1	100bp DNA Ladder
2	0169 : H 41 (患者No.1)
3	0169 : H 41 (患者No.2)
4	0169 : H 41 (患者No.3)
5	0169 : H 41 (患者No.4)
6	0169 : H 41 (患者No.5)
7	0169 : H 41 (患者No.6)
8	0169 : H 41 (患者No.7)
9	STth陽性コントロール

2名)の14株について実施した糖分解試験と薬剤感受性試験の結果を表2に示した。

糖分解試験では、事例2の患者1名から分離された1株のETECが、Amidonの分離性が+であったことを除き、残りの11株のETECと2株の毒素非産生の0169:H41の大腸菌の性状は同一であった。

薬剤感受性では、いずれの株もテトラサイクリン耐性であったが、残りの7薬剤には感受性を示した。

## 2. ETEC (0169:H41)の家畜における保有状況について

福岡市と畜場に搬入された牛および豚の盲腸便をそれぞれ100検体、および市内食鳥処理場で処理されたブロイラーの盲腸便の120検体、計320検体を検査に供した。

1検体あたり5株の大腸菌を分離し、0169の抗血清による凝集反応を行ったが、0169に該当する大腸菌は見つからなかった。

表2 分離された0169:H41の大腸菌の糖分解能と薬剤感受性

Glycerol	+	Mannitol	+	Melezitose	-	アンピシリン	++
Erythritol	-	Sorbitol	+	D-Raffinose	+	セファロリジン	+++
D-Arabinose	+	$\alpha$ Methyl-D-mannoside	-	Amidon	-	カナマイシン	+++
L-Arabinose	+	$\alpha$ Methyl-D-glucoside	-	(1株のみ+)		ゲンタマイシン	+++
Ribose	+	N Acetyl glucosamine	+	Glycogene	-	オレアンドマイシン	+++
D-Xylose	+	Amygdaline	-	Xylitol	-	クロラムフェニコール	+++
L-Xylose	-	Arbutine	-	$\beta$ Gentiobiose	+	テトラサイクリン	-
Adonitol	-	Esculine	-	D-Turanose	-	ナリジクス酸	+++
$\beta$ Methyl-xyloside	-	Salicine	-	D-Lyxose	-		
Galactose	+	Cellobiose	-	D-Tagatose	-		
D-Glucose	+	Maltose	+	D-Fucose	+		
D-Fructose	+	Lactose	+	L-Fucose	-		
D-Mannose	+	Melibiose	+	D-Arabitol	-		
L-Sorbose	+	Saccharose	+	L-Arabitol	-		
Rhamnose	+	Trehalose	+	Gluconate	+		
Dulcitol	+	Inuline	-	2 ceto-gluconate	-		
Inositol	-			5 ceto-gluconate	-		

### 3. ETECのもつST遺伝子について

昭和56年以降、当所で分離したヒト由来ST産生性ETECについて、そのST遺伝子を調べた。検査に供した菌株は1事例から1株を選び、31事例の海外旅行者下痢症由来の31株と前述の2事例の食中毒患者由来の2株の計33株の検査結果を表3に示した。

検査した33株中、STh遺伝子をもつETECは23株であり、STp遺伝子をもつETECは10株であった。

昭和56年から平成2年にかけて分離されたETEC

は21株であったが、STh遺伝子をもつ株は17株と多く、STp遺伝子をもつ株はわずか4株であった。平成3年以降に分離されたETECは12株であったが、STh遺伝子をもつ株は6株、STp遺伝子をもつ株は6株と同数であった。なお、0169:H41のETECは、平成5年以前には分離されることがなかった。

表4に、ETECのO抗原型とST遺伝子の組み合わせを示した。ST産生性のETECのO抗原型は、型別不能を含めると10種類であり、型別不能が11株と最も

表3 ST産生性ETECの保存株のST遺伝子

事例No.	血清型	由来	分離年月	毒素産生性		STh遺伝子	STp遺伝子
1	O UT	海外旅行者	S56/3月	LT+	ST+	+	-
2	O 27	海外旅行者	S57/5月		ST+	-	+
3	O 26	海外旅行者	S57/8月		ST+	+	-
4	O 128	海外旅行者	S57/8月	LT+	ST+	+	-
5	O 8	海外旅行者	S57/8月	LT+	ST+	+	-
6	O UT	海外旅行者	S57/8月	LT+	ST+	-	+
7	O UT	海外旅行者	S57/11月		ST+	+	-
8	O 6	海外旅行者	S59/4月	LT+	ST+	+	-
9	O UT	海外旅行者	S61/9月	LT+	ST+	+	-
10	O 148	海外旅行者	S61/6月		ST+	+	-
11	O 6:H 16	海外旅行者	S62/1月	LT+	ST+	+	-
12	O 148	海外旅行者	S62/1月		ST+	+	-
13	O UT	海外旅行者	S62/6月	LT+	ST+	+	-
14	O UT	海外旅行者	S63/4月		ST+	+	-
15	O 6	海外旅行者	S63/4月	LT+	ST+	+	-
16	O 25	海外旅行者	H元/3月		ST+	+	-
17	O UT	海外旅行者	H元/6月		ST+	-	+
18	O 148	海外旅行者	H元/12月		ST+	+	-
19	O 159	海外旅行者	H2/3月		ST+	-	+
20	O 148	海外旅行者	H2/3月		ST+	+	-
21	O 6	海外旅行者	H2/4月		ST+	+	-
22	O UT	海外旅行者	H3/1月	LT+	ST+	+	-
23	O 148:H 28	海外旅行者	H3/2月		ST+	+	-
24	O 6	海外旅行者	H3/6月		ST+	-	+
25	O 148	海外旅行者	H3/8月		ST+	+	-
26	O UT	海外旅行者	H4/3月		ST+	-	+
27	O 25:H 42	海外旅行者	H5/6月		ST+	+	-
28	O 169:H 41	国内食中毒	H5/8月		ST+	-	+
29	O 169:H 41	国内食中毒	H5/8月		ST+	-	+
30	O 6:H 16	海外旅行者	H5/9月	LT+	ST+	+	-
31	O UT	海外旅行者	H5/11月	LT+	ST+	-	+
32	O 6:H 16	海外旅行者	H6/3月	LT+	ST+	+	-
33	O UT	海外旅行者	H6/3月	LT+	ST+	-	+

UT: 型別不能

多く、次いで06が7株、0148が6株であった。

STh遺伝子をもつ23株のETECのO抗原型は、7種類と多く、特に06、0148、型別不能の3種類にそれぞれ6株と集中していた。

STp遺伝子をもつ10株のETECのO抗原型は、5種類であり、型別不能が5株と最も多く、0169が2株、06、027、0159がそれぞれ1株であった。

表4 O抗原型とST遺伝子

O抗原	株数		合計
	STh遺伝子	STp遺伝子	
06	6	1	7
08	1		1
025	2		2
026	1		1
027		1	1
0128	1		1
0148	6		6
0159		1	1
0169		2	2
0UT	6	5	11
計	23	10	33

UT：型別不能

#### IV まとめおよび考察

平成5年7月から8月にかけて発生した食中毒2事例の患者便から、0169：H41の大腸菌が共通して検出された。この菌のほとんどは、ST産生性のETECであったが、一部に毒素非産生性の株が認められた。

両事例から分離されたST産生性のETECのST遺伝子を検査したところ、本菌はSTp遺伝子を保有していることが判明した。

これらの0169：H41のETECは、糖分解試験と薬剤感受性試験の結果、1株のETEC以外は、同一の生化学性状と薬剤感受性パターンを示した。このことから、今回、2事例から分離された0169：H41のETECは、その由来が同一であろうと推測され、またSTp遺伝子をもつETECは、ヒト以外に、豚、牛、羊、ヤギの家畜から分離されることから、その汚染源としてこれら動物などの可能性も考えられた。

本菌の家畜における保有状況について、牛、豚それぞれ100頭、鶏120羽の盲腸便を検査したが、0169に該当する大腸菌は見つからなかった。しかし、今回の調査では、検体についての地域的な片寄りがあることと、検体数が少ないことから、国内の家畜には本菌の保有がな

いと断定できず、本菌の分布状況については、さらに食品や環境を含めて幅広い実態調査が必要と考えられた。

それぞれ事例の異なる海外旅行者下痢症および食中毒患者から分離された当所保存株33株のST産生性ETECについて、ST遺伝子を調べたところ、STh遺伝子保有株は23株、STp遺伝子保有株が10株と、ヒト由来ETECにおいては、STh遺伝子保有株のほうが多かった。

STh遺伝子保有の23株では、大半の17株がO抗原による型別が可能であったが、STp遺伝子保有の10株では、半分の5株が型別不能であった。

昭和56年から平成2年にかけて分離された21株のETECについては、STh遺伝子をもつ株が17株と多くSTp遺伝子をもつ株はわずか4株であった。

しかし、平成3年以降に分離された12株のETECについては、STh遺伝子をもつ株が6株、STp遺伝子をもつ株が6株とそれぞれ同様であり、STp遺伝子保有のETECの検出数の増加傾向が伺われた。今後、0169：H41のETECを含めて、STp遺伝子保有のETECによる集団下痢症の増加が危惧され、監視体制の強化が必要と考えられた。

なお、牛および豚の盲腸便の採取にご協力を頂きました福岡市食肉衛生検査所の皆様に深謝いたします。

#### 文 献

- 1) 竹田美文：毒素原性大腸菌のエンテロトキシン、蛋白質、核酸、酵素、31、4、324～352、1984
- 2) 山本達男ら：大腸菌エンテロトキシン-遺伝子とプラスミド、化学と生物、22、5、297～304、1984
- 3) 国立予防衛生研究所 厚生省保健医療局疾病対策課結核・感染症対策室、病原菌検出情報、12、6、1991
- 4) 国立予防衛生研究所 厚生省保健医療局疾病対策課結核・感染症対策室、病原菌検出情報、12、9、1991
- 5) 国立予防衛生研究所 厚生省保健医療局疾病対策課結核・感染症対策室、病原菌検出情報、12、11、1991
- 6) 国立予防衛生研究所 厚生省保健医療局疾病対策課結核・感染症対策室、病原菌検出情報、12、12、1991
- 7) 国立予防衛生研究所 厚生省保健医療局疾病対策課結核・感染症対策室、病原菌検出情報、13、3、1992
- 8) 平川浩資ら：毒素原性大腸菌について、第18回九州衛生公害技術協議会、1992
- 9) 国立予防衛生研究所 厚生省保健医療局疾病対策課

結核・感染症対策室，病原菌検出情報，13，7，  
1992

- 10) 加野成明ら：集団下痢事件から分離された毒素原性大腸菌について，第40回福岡県公衆衛生学会講演集，1993
- 11) 国立予防衛生研究所 厚生省保健医療局疾病対策課

結核・感染症対策室，病原菌検出情報，13，11，  
1992

- 12) 西村直行ら：PCR法による耐熱性エンテロトキシン（ST）産生性大腸菌の検出，感染症誌，66（臨時増刊），216，1992