

# 福岡市内保育園で発生した腸管出血性大腸菌 (O 157) の集団無症感染例

真子俊博<sup>1</sup>・中村恵子<sup>1</sup>  
川内良介<sup>2</sup>・尾崎延芳<sup>1</sup>

## An Outbreak of Serotype O 157 of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* on FUKUOKA CITY

Toshihiro MAKO, Keiko NAKAMURA, Ryouzuke KAWAUTI  
and Nobuyosi OZAKI

### 要 旨

1998年8月、福岡市内の保育園において腸管出血性大腸菌 O 157 (以下 O 157 と略) の集団感染が発生したが、初発患者を除き菌陽性者のすべてに下痢等の症状が全く見られない感染例を経験した。

8月26日に市内保育園児より O 157 (VT 2+) を検出したと医療機関からの届け出が福岡市博多保健所に入った。保健所では保育園の聞き取り調査を行うとともに、患者の同室園児および職員合計 128 名の検便を実施した。

翌日、直接分離培養平板より O157 の分離が相次ぎ集団発生が疑われたため、福岡市では 28 日に感染症危機管理対策委員会が設置された。終息の 9 月 7 日までに延べ 638 件の検便を行い、園児、職員、接触者・家族の 25 名より O157 が分離される集団感染例となった。しかし、調査の結果、初発患者を除き菌が分離された園児らはすべてに症状は見られなかった。

分離された O157 はパルスフィールド電気泳動により全ての株とも同一パターンを示し、同一暴露による感染と考えられたが、VT 2 毒素産生性は数 ng から数百 ng/ml と従来の O157 に比べ VT 毒素産生性は極めて低く、このことが発病しなかった原因の一つと考えられた。

**Key Words :** 出血性大腸菌 Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, 福岡市 Fukuoka city, 集団発生事例 Mass outbreak cases, O-157, 保育園 Nursery school

### 1 はじめに

堺市をはじめとする腸管出血性大腸菌 (Enterohemorrhagic *Escherichia coli*) 感染症特に、血清型 O 157 は、発病率や毒性の高さから、平成 8 年には腸管出血性大腸菌 (以下 EHEC と略) 感染症が法定伝染病として取り扱われるようになった。この O 157 は病原性や

発病率の高さから社会的な関心も高く、現在では下痢症などでは必ず O 157 の検査が行われている。

O 157 の病原性は本菌が産生するペロ毒素の作用により出血を伴う下痢や腹痛を引き起こすもので、ペロ毒素には赤痢菌 (A-1) の産生する志賀毒素と免疫学的に同一の VT 1 と志賀毒素抗体で中和されない VT 2 毒素の 2 種類を産生する<sup>1)</sup>。O 157 は VT 1, 2 同時産生株と VT 2 単独産生株が存在するが、VT 2 毒素は VT 1 に比べて毒素の活性が高く、産生性の高い O 157 では重い下痢や HUS 等の併発で死亡に至ることもあ

1. 福岡市保健環境研究所 微生物課

2. 福岡市保健環境研究所 微生物課

(現所属: 福岡市民病院 検査科)

る。

このように、O157はその病原性の高さや集団発生の多さから最も注目されている細菌であるが、今回福岡市の保育園内で発生したO157の集団感染例では初発患者を除いて、菌陽性者のすべてに全く症状を認めなかった事例を経験した。そこで、分離されたO157について毒素の産生性について検討を行ったので、その結果を報告する。

## II 概要および方法

表1に初発園児と事例の概要を示した。平成10年8月26日、福岡市博多保健所より市内保育園児1才女子の受診先病院からEHEC O157が検出されたとの報告があった。この園児は8月23日より発熱、下痢があり、24日に近医を受診し便の検査を受けたもので、26日O157が分離され保健所への届け出があった。

保健所では保育園の聞き取り調査を行うとともに園児・家族および接触者の検便を実施することになった。8月26日より患者の家族および保育園児・職員の128名の検便を実施し、終息の9月7日までに合計638件の検査を行った。

検査方法はシードスワブにより採便された便をCAYE培地にて振とう培養するとともに2.5mg/L 亜テルル酸加ソルビトールマッコンキー寒天（以下TS培地と略）、クロモアガーに直接分離培養を行った。

CAYE培地は37℃一夜振とう培養後、ベロ毒素特異モノクロナール抗体を利用したELISAキット（BIO-RAD）にて毒素の検出を行った。OD値0.15以上を陽性と判定して、陽性の検体ではPCR（TAKARA: One shot PCR Typing kit）にてVT毒素遺伝子の型別を行った。

TS培地およびクロモアガー上で疑わしいコロニーは生化学的検査や血清型別を行うと共に、PCR法にて毒素遺伝子の型別を行った。また、毒素の定量はCAYE培地で一夜振とう培養後、最終濃度5000単位になるようにポリミキシンB処理した遠心上清について、逆受け身ラテックス凝集反応（デンカ生研）にて定量を行った。菌株のバルスフィールド電気泳動は常法に従い、XbaI制限酵素を用いて判定した。

## III 結果

表2に検査結果を示した。26日の128名中O157が検出されたのは15名で、すべて園児であった。27日の検体では園児4名と職員1名から菌が分離された。保育園児の2回目の検査では園児2名と家族1名が陽性で、29

表1 初発患者および事例の概要

8/23	1才女子が発熱、下痢出現
24	近医を受診（受診時検便）
26	出血性大腸菌O157（ベロ毒素産生）の決定 同日職員、保育園児128名の検便実施。
27	園児11名よりO157およびベロ毒素を確認。 保育園の残り57名の検便実施。
28	26日検査分15名陽性。 保育園の再検査と接触者検便169名の検便実施。
29	27日検査分57名中7名より菌分離。 保育園の3回目の検便実施（204名）。
30	28、29日検査分5名が陽性。
31	再検13名の検便実施。
9/1~7	家族、接触者の検便（80名）
8	終息

表2 検査の概要と検査結果

月日	計	園児	職員	家族・接触者
8/26	128(15)	101(15)	27	
8/27	57(5)	42(4)	15(1)	
8/28	169(3)	137(2)	4	28(1)
8/29	204(2)	136(1)	40	18(1)
8/31	13			13
9/1	26	24		2
9/2	10	10		
9/3~7	31	10		21
総計	638(25)	460(22)	86(1)	82(2)

日の第3回目の検査では園児1名と家族1名より菌が分離された。終息の9月7日までのべ638件の検査において、園児22名、職員1名、家族2名の合計25名よりO157が分離された。検出された保育園児の内訳を表3に示した。同じフロアで同じプールを使用している0才児から2才児に集中していた。4、5才児は兄弟で家族内感染と考えられた。

O157の菌株はすべてVT2単独産生株で、Hは7であった。得られた菌株はPCRにてVT2毒素遺伝子を確認し、生化学的性状および血清型によりO157と同定した。また、XbaI制限酵素を用いたバルスフィ

表3 保育園児の感染状況

	対象人数	26日	27日	28日	29日	30日	陽性者数
0歳クラス	15	4		1			5
1歳クラス	20	3	4				7
2歳クラス	29	6	1	1			8
3歳クラス	24						
4歳クラス	34				1		1
5歳クラス	31	1					1
職員	45		1				1
家族	59			1	1		2

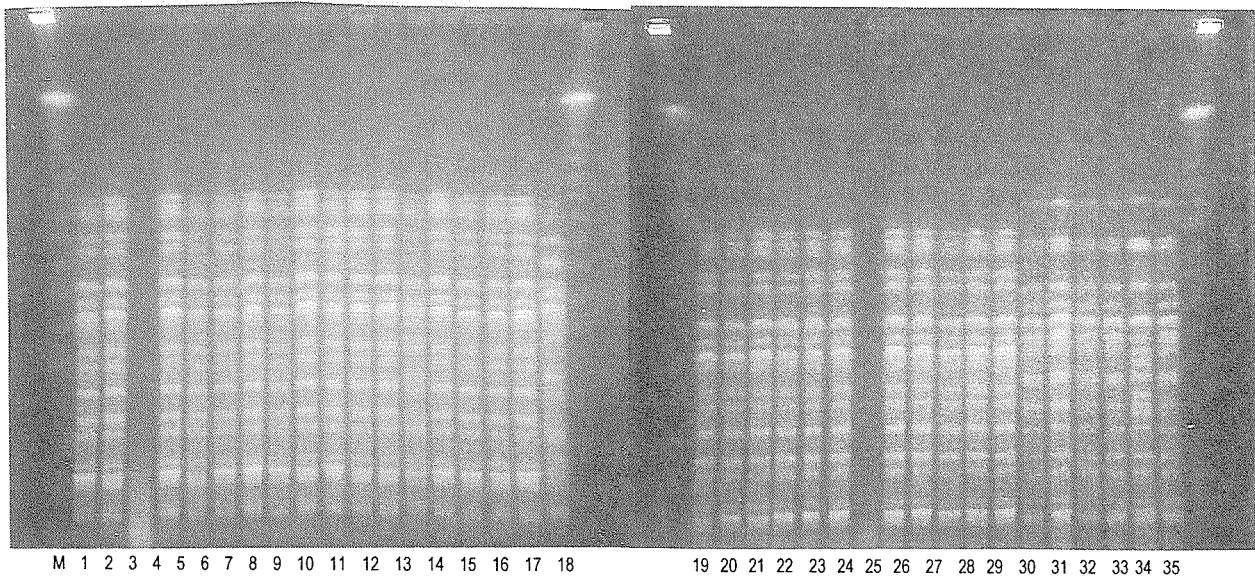


図1. 分離したO157のパルスフィールド電気の泳動パターン  
 1～17, 19～30; 集団感染株 (3と25は泳動なし)  
 18, 31～36; 他の散発事例株

ールド電気泳動により初発患者を含む全ての株で同一のパターンを示した (図1)。

表4に得られたO157の株についてRPLA法によるペロ毒素定量値と検便時のELISA値の結果を示した。初発患者の分離株を含む19株では定量値が128倍であったが、3株は2倍以下の極めて低い産生で、残りの2株は32倍と64倍を示した。また、ペロ毒素特異モノクロナール抗体を利用したELISA法ではTS培地上でO157が陽性であるにもかかわらず56%が陰性であった。

保育園内での感染経路は同じフロアで同じのプールを使用していた低年齢児に集中していたことから、プールが疑われたが検査当日までに清掃されていたことから菌の分離はできず不明のままであった。

#### IV 考 察

EHEC感染症では本菌の産生するペロ毒素により激しい下痢や血便を引き起こすが<sup>2)</sup>、本毒素は一方で血中に入った場合、溶血が起こり腎臓に大きな負担がかかる<sup>3)</sup>。

EHECの中でもO157は毒素の産生が高く、その結果溶血性尿毒症 (HUS) などになりやすく、しかも、O157は少量の菌量で感染することから、集団発生につながりやすく、1996年から頻りに各地で発生を見ている。このように、O157の感染例は大きな関心となっているが、今回経験した事例ではO157であるにもかかわらず、初発患者を除いて菌陽性者に症状が見られない特異な事例であった。

表4 分離株のペロ毒素定量値とCAYE培地（検便）のELISA値の比較

VT No.	毒素定量値	年齢	性別	VT 2 遺伝子	ELISA (OD)
1	128	1	F	+	NT
3	2>(+)	2	F	+	0.055
4	128	2	M	+	0.134
6	128	1	M	+	3.071
7	128	1	M	+	4.015
8	128	1	M	+	0.036
10	128	1	M	+	0.071
11	128	1	F	+	0.065
12	128	2	M	+	1.773
13	128	5	M	+	3.566
14	128	1	M	+	0.061
15	128	1	M	+	0.038
16	128	0	M	+	0.58
17	128	2	M	+	1.257
18	128	2	F	+	0.086
19	128	65	F	+	0.155
20	128	0	M	+	0.023
21	2>(+)	3	M	+	0.051
22	2>(+)	5	F	+	0.025
23	128	35	F	+	0.071
24	32	32	F	+	0.052

そこで、分離したO157について性状を比較検討したが、分離株の性状はすべて一致し、PCRによるVT 2 遺伝子・eae遺伝子<sup>4)</sup>は両方認められ、さらにXba I 制限酵素によるパルスフィールド電気泳動でも同一のDNAパターンであったことから遺伝子レベルでも同じ株であると考えられた。しかし、分離菌の毒素産生について検討を行ったところ、従来より報告されているペロ毒素産生に比べ、極めて低いことが判明した。定量値で128倍の20株のグループと最低の2倍以下の3株とに分かれ、毒素産生性の比較では同一株の流行とは思われなかった。また、発病しなかった原因もこれまでのO157に比べて約1/100から1/1000の毒素量であることから、このことが発病しなかった一要因であろうと考えられた。

EHECの産生するペロ毒素はVT 1とVT 2が知られているが、O157は特にVT 2産生が高くそのため強い病害を引き起こすと考えられている。著者らもO157感染者ではHUSを含む強い症例を経験している。そこで、当研究所で保存しているO157株についてVT 2毒素の定量を行ったところ、ほとんどの株(72%)では1000倍(最高20480)以上の値を示したが、20倍以

下の株が5%にみられ、O157でもペロ毒素産生の低い株の存在が判明した。いずれの株もPCRにてVT 2毒素遺伝子が確認されており、今後VT 2毒素の免疫学的な違いや遺伝子レベルなどの検討を行っていくとともに、毒素の定量を行う必要があるものと思われた。

また、O157の感染経路や疫学調査に遺伝子レベルでの比較を行うため最近パルスフィールド電気泳動法が検討されている<sup>5)</sup>。今回の事例では分離された全ての株で同一のパターンを示し同一暴露による感染と思われた。しかし、限定された範囲内での調査では有効性を認めているものの、全国規模の調査ではその有効性が疑われてきている。O157の遺伝子切断には現在Xba I 制限酵素が用いられ約20の切断DNAを比較しているが、切断DNAのバンド数がやや多いため泳動パターンでの比較は疫学調査にはやや無理と思われ、他の方法が必要であろうと考えている。今回の事例においてもパルスフィールド電気泳動パターンは同一であったが、毒素産生を見るがぎり2グループに大きく分かれていることから、切断DNAの比較だけでは不十分と思われた。

今回の事例では従来より行われている菌を分離する方法以外に、ペロ毒素産生性の有無から菌を検索する方法を併用した。ペロ毒素特異モノクローナル抗体を利用したELISA(BIO-RAD法)で、糞便をCAYE培地で増菌後、培地中に産生されたペロ毒素をELISAで検出する方法である。本方法は多数検体処理が可能で、約2.5時間で結果が出ることからスクリーニングに適している。著者らは以前よりELISA法を用いて、EHECの検査に併用しているが、血清型不明のEHEC検出が向上することを認めている。血清型不明のEHECでは直接分離培地上のコロニーを多数検査してPCR法などで確認しているが、ELISA法はペロ毒素の産生があった検体ではEHECである可能性が高く、その上で検索するので菌分離が容易となる。しかも、翌日には血清型別と同時にペロ毒素の産生が確認できることから、緊急を要する集団発生の際に有効な方法であると言える。しかし、今回のようなペロ毒素の産生の弱いEHECでは約半数近くの検体が陰性であったことから、微量な菌の検査を行える方法の併用が必要であろう。

O157の病原性はペロ毒素によるものであることは明らかであるが、最近VT 2毒素の研究によりいくつかのViriantの存在が知られている。VT 2毒素はVT 1毒素に比べマウス致死活性も高く、HUSもVT 2毒素が関与しているとされている。しかし、O157にもVT 2産生遺伝子を保有しながらも、産生しない株が存在することから、免疫学的検査であるRPLAのみの検査では不十分であろう。今後、毒素をほとんど産生しないEHECはどのような扱いとするのか動物実験などの

検討や遺伝子レベルからの検討を行う必要があると思われた。

#### IV 文 献

- 1) 竹田 美文, 山崎伸二: 出血性大腸菌とペロ毒素, 臨床と微生物, 18, 443 ~ 455, 1991
- 2) 本田 武司: 病原性大腸菌と溶血性尿毒症症候群, 臨床検査, 36(13), 1317 ~ 1322, 1992
- 3) 内田 寛, 他 8 名: 抗体検査により O 165 血清型腸管出血性大腸菌が原因と思われた 4 例の溶血性尿毒症症候群, 感染症誌, 69(6), 687 ~ 683, 1995
- 4) 塚本 定三, 河合 高生: 下痢症から分離した大腸菌の eae 遺伝子と細胞付着および血清型について, 感染症誌, 69(1), 85 ~ 89, 1997
- 5) パルスフィールド・ゲル電気泳動法—原理と方法—: 臨床と微生物, 23 (11), 621 ~ 625, 1996