

# 福岡市における下痢原性大腸菌による食中毒 2 事例について

馬場愛・瓜生佳世・樋脇弘・武田昭

福岡市保健環境研究所保健科学部門

## Two Cases of Food Poisoning Caused by Diarrheagenic *Escherichia coli* in Fukuoka City

Ai BABA, Kayo URYU, Hiroshi HIWAKI, Akira TAKEDA

Health Science Division, Fukuoka City Institute for Hygiene and Environment

### Summary

Two cases of food poisoning by Diarrheagenic *Escherichia coli* occurred in June to July 2003.

Colony-sweep-PCR method was applied to examine the presence of genes which code virulence of Diarrheagenic *Escherichia coli*, as food poisoning bacteria except *E. coli* were not detected from the patient's stools in these cases. As a result, LT and STp genes from the first case in June, and *eaeA* gene from another case in July were detected.

After a differential test of *E. coli* strains, ETEC (O6:H16 or O6:H UT; LT and ST gene +) from the first case, and LAEC (O UT:H-; *eaeA* gene +) from another case were isolated. It proved that colony-sweep-PCR method was an effective approach for the detection of Diarrheagenic *E. coli*.

PFGE is a general method for epidemiological analysis of *E. coli*, although it requires long time to obtain the result. In addition to PFGE, RAPD-PCR was applied to these cases, and the results of PFGE and RAPD-PCR were highly relative. Therefore, RAPD-PCR was an useful and prompt method for the analysis of Diarrheagenic *Escherichia coli*.

**Key Words :** 食中毒 food poisoning , 毒素原性大腸菌 ETEC  
腸管病原性大腸菌 EPEC , 局在性付着型大腸菌 LAEC ,  
コロニースイープ PCR 法 Colony-sweep-PCR , 福岡市 Fukuoka City

### はじめに

下痢原性大腸菌は、腸管毒素産生性・腸管細胞侵入性・腸管上皮細胞への付着性・血清型別により、腸管出血性大腸菌 (EHEC)・腸管毒素原性大腸菌 (ETEC)・腸管組織侵入性大腸菌 (EIEC)・既知の血清型に該当する腸管病原性大腸菌 (EPEC)・限局型付着性大腸菌 (LAEC)・凝集型付着性大腸菌 (EAggEC)・分散型付着性大腸菌 (DAEC) のカテゴリーに分類される<sup>1)</sup>。

福岡市においては、EHEC による単発的食中毒や集団

食中毒は毎年発生している<sup>2-3)</sup>が、EHEC 以外の下痢原性大腸菌による食中毒事例は非常に少ない<sup>4-6)</sup>。しかし、平成 15 年 6 月から 7 月にかけて、EHEC 以外の下痢原性大腸菌による食中毒が続けて発生したのでその概要と検査結果を報告する。

### 検査方法

食中毒菌の検査は、定法<sup>7)</sup>に準じて実施した。

下痢原性大腸菌のスクリーニングテストには、複数の

コロニーをまとめて掻き取り、PCR により病原遺伝子を検出する、いわゆる“コロニースイープ-PCR”法を用いた。スクリーニングテスト陽性となった検体から大腸菌コロニーを釣菌した。

大腸菌の病原性確認は、小林らの示した方法<sup>1)</sup>に基づき、血清型別試験と PCR による病原性遺伝子検出試験を組み合わせ実施した。

大腸菌の疫学解析は、PFGE に加えて RAPD を併用した。PFGE は常法どおり、*Xba* 処理を行い、RAPD プライマーは、Amersham Biosciences の RAPD プライマー 2, 3, および 4 の 3 種を使用し、添付文書にしたがって PCR を行なった。

### 事例 1 ETEC (O6 : H16 および O6 : H UT ; LT および STp gene +) による食中毒

#### 1 概要

平成 15 年 6 月 27 日 12 時頃、A 区の飲食店でランチを喫食した 16 名全員が、翌 28 日夜から食中毒様症状を呈し、うち 6 名が病院を受診した。

患者 16 名は専門学校生であり、共通食は飲食店のランチだけであった。

ランチの内容は、牛しゃぶ、生野菜とポテトサラダ、味噌汁、漬物 (キュウリ)、白飯であった。

喫食から発症までの潜伏時間は、喫食当日に体調不良を訴えた 1 名を除くと、40 時間 ~ 69 時間であり、平均 48 時間であった。

主な臨床症状は、水様性の下痢、吐き気、腹痛であった。

#### 2 検査結果

患者便 11 検体、従業員便 6 検体、および施設のふきとり 6 検体について、各食中毒菌の検査を実施した。

患者からは、大腸菌以外には有意菌が検出されなかったため、大腸菌のコロニースイープ-PCR を実施した。

その結果、LT 遺伝子と STp 遺伝子が検出された。その後、釣菌した大腸菌について調べた結果、患者便 9 検体および従業員便 4 検体由来株は、すべて O6 に該当し、いずれも LT 遺伝子と STp 遺伝子の両方を保有する ETEC であった。なお、これらの株の H 抗原は、一部の株が UT であったが大部分は 16 であった。

#### 3 菌の疫学解析結果

患者由来 3 株 (O6 : H16 を 2 株、O6 : H UT を 1 株) および従業員由来 3 株 (O6 : H16 を 2 株、O6 : H UT を 1 株) の計 6 株について、RAPD および PFGE による遺伝

子解析を行った。

RAPD の場合、プライマー 2 および 3 (図 1) では 6 株間に差異が認められなかったが、プライマー 4 (図 2) では、従業員由来 H UT 株のパターンが異なった。

PFGE (図 3) の場合も、プライマー 4 による RAPD と同様に、従業員由来 H UT 株のパターンが異なった。

患者および従業員由来の O6 : H16 株と患者由来の O6 : H UT 株は、遺伝子パターンが共通であったが、保健所側の疫学調査結果を検討しても、食品への汚染経路は解明できなかった。

### 事例 2 LAEC (O UT : H - ; *eaeA* gene +) による食中毒

#### 1 概要

平成 15 年 7 月 21 日、B 区で開催された中学生のスポーツ競技大会に参加した 1 グループ (中学校教員、生徒および保護者) 31 名が、同区内の弁当店で調整されたおにぎり弁当を 14 時から 15 時にかけて喫食し、同日夕刻から 20 名が食中毒様症状を呈し、5 名が病院を受診した。

共通食はおにぎり弁当だけであり、内容は昆布・梅干し・高菜のおにぎり、鶏の唐揚げ、コロッケ、卵焼き、ウインナー、ポテトサラダ、漬物であった。おにぎり弁当は、当日の早朝 6 時頃に作られていた。

喫食から発症までの潜伏時間は、喫食前や喫食当日に体調不良を訴えた患者を除くと 16 時間 ~ 18 時間であり、主な臨床症状は、腹痛、水様性下痢または軟便、発熱 (38 台) であった。

#### 2 検査結果

患者便 11 検体、従業員便 1 検体、同一ロットの参考食品 (弁当のおかず) 4 検体、および施設の拭き取り 8 検体について細菌検査を実施した。

その結果、通常見られる乳糖分解性の大腸菌を含めて、病原性細菌は検出されなかった。しかし、一部の患者便を塗抹した DHL 寒天や SS 寒天に白色不透明なコロニーが目立ったため、赤色コロニーと白色コロニーに分けて、コロニースイープ-PCR を実施した。

その結果、患者便 6 検体の白色コロニーから、共通して *eaeA* 遺伝子が検出された。このため、白色コロニーに絞って釣菌し、その性状を調べた結果、本菌は、乳糖遅分解性、非運動性、O 抗原が型別不能大腸菌であることがわかり、付着関連遺伝子として *eaeA* 遺伝子だけを保有していた。

本菌は、血清型別試験から non-EPEC であり、*eaeA* 遺

伝子のみを保有していることから LAEC と判定した。

### 3 菌の疫学解析結果

患者由来 6 株について、RAPD および PFGE による遺伝子解析を行った結果、6 株とも同一パターンを示した（図 1, 2, 3）が、事例 1 と同様に、保健所側の疫学調査結果から、食品への汚染経路は解明できなかった。

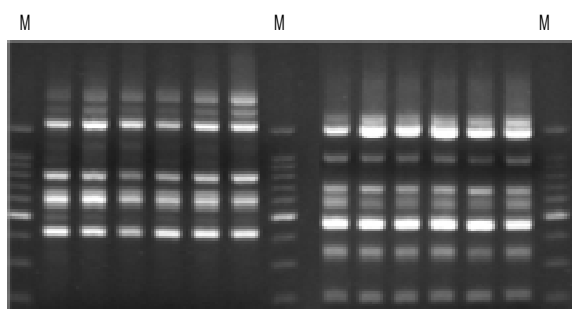


図 1 ETEC・LAEC の RAPD パターン  
（プライマー 3）

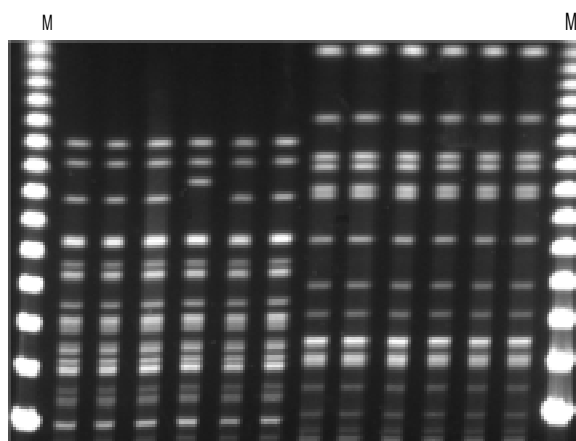


図 3 ETEC・LAEC の PFGE パターン

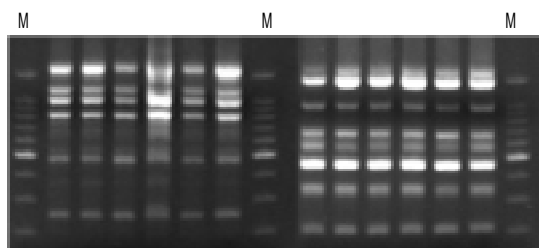


図 2 ETEC・LAEC の RAPD パターン（プライマー 4）

M は、DNA マーカー

（RAPD は 100bp ラダー、PFGE は マーカー）

～ は、ETEC 株

（ および は H UT, は従業員由来, は患者由来）

～ は、LAEC 株（患者由来）

### 考察

食中毒の検査においては、通常 O157 以外の大腸菌の検査は後回しになってしまう。

LT と ST の両毒素を産生する ETEC による食中毒の場合、潜伏時間は 24 時間から 72 時間と長く、水様性下痢であることが特徴であり、事例 1 における患者の症状と一致する。患者情報が少なかったこともあり、受付時は ETEC をあまり疑わなかったが、今回改めて、患者情報の大切さを痛感した。

今回の両事例については、大腸菌以外の有意菌が検出されなかったため、下痢原性大腸菌のスクリーニングテストとして、コロニースイープ-PCR を行った。

EIEC は乳糖非分解または遅分解の性状を示す株が多

いため、事例 2 では EIEC を予想して、白色コロニーのコロニースイープ-PCR を行ったが、検出されたのは侵入性遺伝子（*invE*, *ipaH* 遺伝子）でなく、*eaeA* 遺伝子を保有し、既知の病原大腸菌抗血清で型別できない LAEC であった。

したがって、下痢原性大腸菌の検査を迅速にかつ確実に実施するためには、病原大腸菌抗血清を用い複数のコロニーについて型別試験を行うより、コロニースイープ-PCR をスクリーニング試験として実施し、病原遺伝子の検出を行う方が効果的であると考えられた。

大腸菌の疫学解析としては PFGE が一般的であるが、結果を得るのに時間を要する。今回、PFGE に加えて RAPD を併用したが、PFGE と RAPD の成績は相関性が高かった。このことから、迅速性が要求される食中毒発生時の菌の疫学解析には、RAPD が非常に有効であるこ

とがわかった。

## 文献

## ま と め

福岡市では、平成 15 年の 6 月と 7 月に、EHEC 以外の下痢原性大腸菌による食中毒が続けて発生した。

患者便からは、大腸菌以外の食中毒菌は検出されなかった。大腸菌の病原因子の検出をコロニースイープ-PCR で行った結果、6 月の事例では LT および STp 産生遺伝子が検出され、ETEC (O6:H16, O6:H UT) が分離された。7 月の事例では *eaeA* 遺伝子が検出され、LAEC (O UT:H-; *eaeA* 遺伝子+) が分離された。

下痢原性大腸菌の検査を迅速に進めるためには、スクリーニング試験として、コロニースイープ-PCR により病原遺伝子の検出を行なうことが効果的であった。

両事例における大腸菌の疫学解析には、PFGE に加えて RAPD を実施したが、PFGE と RAPD の成績は相関性が高く、大腸菌の迅速な疫学解析には、RAPD が非常に有効であった。

- 1) 小林 一寛ほか：下痢原性大腸菌における付着因子保有状況とそれに基づく大腸菌検査法の一考察，感染症学雑誌，第 76 巻，第 11 号，911-919，2002
- 2) 尾崎延芳ほか：福岡市内某保育園で発生した腸管出血性大腸菌 (O26:H11) の集団感染事例，福岡市保健環境衛生研究所報，26，158-162，2001
- 3) 尾崎延芳ほか：「キュウリの浅漬け」が原因と推察された腸管出血性大腸菌 O157 の集団感染事例，福岡市保健環境衛生研究所報，28，120-124，2003
- 4) 平成 12 年度 食中毒・苦情検査結果，福岡市保健環境衛生研究所報，26，211-217，2001
- 5) 平成 13 年度 食中毒・苦情検査結果，福岡市保健環境衛生研究所報，26，208-213，2002
- 6) 平成 14 年度 食中毒・苦情検査結果，福岡市保健環境衛生研究所報，28，203-210，2003
- 7) 食品衛生検査指針微生物編，厚生省生活衛生局監修，社団法人日本食品衛生協会，1990