

## 岡山県における食中毒及び感染症起因菌の疫学的解析

① 下痢症・呼吸器感染症起因菌の疫学調査と検査法の検討（平成24年度）

中嶋 洋, 大島律子, 河合央博, 榎原幸二\*, 仲 克巳\*\*（細菌科）

\*岡山赤十字病院第一小児科, \*\*くらしき作陽大学食文化学部現代食文化学科

【調査研究】

## 岡山県における食中毒及び感染症起因菌の疫学的解析

① 下痢症・呼吸器感染症起因菌の疫学調査と検査法の検討（平成24年度）  
Epidemiological Studies on Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli*,  
*Legionella* and *Corynebacterium ulcerans* in Okayama Prefecture (FY2011)

中嶋 洋, 大島律子, 河合央博, 檜原幸二\*, 仲 克巳\*\* (細菌科)

\*岡山赤十字病院第一小児科, \*\*くらしき作陽大学食文化学部現代食文化学科  
Hiroshi Nakajima, Ritsuko Ohata, Manabu Ishii, Kouji Narahara\*  
and Katsumi Naka\*\* (Department of Bacteriology)

\*Department of Pediatrics, Okayama Red Cross General Hospital

\*\*The Department of Contemporary Food Culture, Kurashiki Sakuyo University

### 要 旨

志賀毒素産生性大腸菌（STEC）感染症およびレジオネラ症の予防対策に資するため、平成24年度に県内で分離されたSTEC、レジオネラの疫学調査を実施した。STECは、散発事例の減少から株数の減少傾向が見られ、ヒト由来株57株を収集した。このうちの32株、56.1%がO血清群157で、例年どおり分離株において多数を占めた。県内でヒトから分離され、その遺伝子型に地域特異性が見られた*L.pneumophila*血清群3の感染源究明のために、浴槽水等101検体についてレジオネラの汚染実態を調査した。また、保健所等で分離されたレジオネラ菌株133株を収集し、血清型別を行った。分離あるいは収集した*L.pneumophila*血清群3の遺伝子解析の結果、いずれもヒト由来株と遺伝子型が異なっており、感染源の究明には至らなかったことから、継続して汚染実態調査を実施する必要があると考える。

[キーワード：志賀毒素産生性大腸菌，レジオネラ，PFGE，疫学]

[Key words ; shiga toxin-producing *Escherichia coli*, *Legionella*, PFGE, epidemiology]

## 1 はじめに

岡山県下で発生した志賀毒素産生性大腸菌（以下STEC）感染症やレジオネラ症の感染源・感染経路の究明や発生予防を目的として、長期間の調査を実施している。本報告では、平成24年度に収集したヒト由来株と、動物および浴槽水等から分離した菌株を用いて疫学解析を実施したので、報告する。

## 2 材料及び方法

### 2.1 菌株及び検体

STECの検査は、県内で平成24年度にヒトから分離されたSTEC株57株と、牛直腸便50検体を用いた。

レジオネラの検査には浴槽水等101検体と、保健所が浴槽水等から分離したレジオネラ属菌133株および患者由来株3株を用いた。

### 2.2 検査法

各菌種の検査は、以下の方法で実施した。

#### 1) 生化学的性状試験

STECの性状試験は、IDテストEB20（日水）を用い

て菌の同定を行った。

#### 2) 血清型別

STEC及びレジオネラの血清型別は、病原性大腸菌免疫血清（デンカ生研）及びレジオネラ免疫血清（デンカ生研）を用いて実施した。

#### 3) STECの毒素（STX）型別

STECの毒素型別は、ラテックス凝集反応による大腸菌ペロ毒素検出用キット（デンカ生研）及びPCR法<sup>1)</sup>により実施した。

#### 4) パルスフィールドゲル電気泳動法によるDNAパターンの解析

STECのパルスフィールドゲル電気泳動（以下PFGE）法は、寺嶋ら<sup>2)</sup>のプロトコールにより実施し、DNAパターンによる型別（以下PFGE型別）は、国立感染症研究所に依頼して実施した。レジオネラのPFGE法は、常らの改良法<sup>3)</sup>により実施した。

#### 5) IS-printing systemによる疫学解析

STEC O157株の疫学解析は、IS-printing system（TOYOBO）を用いて実施した。

## 6) Sequence-Based Typing (SBT)

レジオネラ株のSBT法を用いた型別 (Sequence Type (ST))<sup>4), 5)</sup>は、国立感染症研究所細菌第一部に依頼して実施した。

## 3 結果及び考察

### 3.1 岡山県内で分離されたSTECの疫学調査

平成24年度にヒトから分離されたSTECの月別検出状況を、表1に示した。

本年度収集した57株は、4月と2、3月を除いたすべての月で検出された。6月～8月はいずれも17.5%と高率に検出され、9月も14.0%と検出率が高かった。本年度は7月に倉敷市保健所管内の保育園でO26:H11 STX1による集団事例が発生し、菌陽性者は105名にのぼった (集計は医療機関分離株のみ)。また、12月を中心にO157:H7 STX1, 2による患者が県下の複数の地域で同時多発的に発生したため、この時期には珍しく検出率が14.0%と高い値を示した。

ヒトから検出されたSTECの血清型・毒素型を、表2に示した。

STECの血清型・毒素型は17種類に分類され、O血清群157は32株 (56.1%)、O血清群26は9株 (15.8%)で、これらが分離株全体の71.9%を占めた。また、本年度もこれら以外のO血清群が多数検出され、O103, O111, O113,

O121, O145, O165, O174, O91, OUTであった。

STEC O血清群157及び26のPFGE型を、表3-1及び表3-2に示した。

O血清群157は15種類、O血清群26は3種類に型別され、特にO157:H7は多種類のPFGE型に分類された。12月を中心に多発したO157:H7 STX1, 2による感染事例において、IS-printing systemおよびPFGE法を用いて菌の分子疫学解析を行った結果、すべての株がIS-printing systemで同じ遺伝子パターンを示し、PFGE型も1株 (未実施)を除いてすべてh426で同じであった。このことから、何らかの共通した感染源の存在が考えられたが、疫学調査の結果からは共通の感染源と考えられるものはなく、原因は究明できなかった。7月に保育園で発生したO26:H11 STX1による集団事例由来株のPFGE型は、h68であった。

牛直腸便から検出されたSTECの血清型・毒素型を、表4に示した。

牛直腸便50検体中18検体 (36.0%) からSTECが検出されたが、ヒトから高率に検出されるO血清群157および26は検出されず、多くはOUT (O血清群型別不能)であった。

今までの調査でも、牛のO血清群157および26保菌状況は調査年により変動が見られ、検出率は低率であった。一方、OUTは例年どおり牛の保菌するSTECのなかで主な血清群であり、本年度も例年同様の傾向を示した。

表1. ヒト由来STEC月別検出状況

月	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	計
分離株数	0	1	10	10	10	8	4	4	8	2	0	0	57
(%)	0.0	1.8	17.5	17.5	17.5	14.0	7.0	7.0	14.0	3.5	0.0	0.0	

表2. ヒトから検出されたSTECの血清型・毒素型

血清型	毒素型	株数	(%)
O103:H-	1	1	1.8
O103:H2	1	2	3.5
O103:H11	1	1	1.8
O111:H-	1	1	1.8
O113:H21	2	1	1.8
O121:H19	2	1	1.8
O145:H-	1	2	3.5
O157:H-	1,2	1	1.8
O157:H7	2	7	12.3
	1,2	24	42.1
O165:H-	1,2	2	3.5
O174:H8	2	1	1.8
O26:H11	1	9	15.8
O91:H49	2	1	1.8
OUT:H5	2	1	1.8
OUT:HUT	1	1	1.8
	2	1	1.8
計		57	

表3-1. ヒト由来STEC O157のPFGE型

血清型	毒素型	PFGE型	株数	備考
O157:H-	1,2	h61	1	
O157:H7	2	h173	1	
		h408	1	
		h409	1	
		h410	2	
		h62	2	家族由来株
	1,2	g107	1	
		g332	4	
		h107	1	
		h305	1	
		h412	1	
1,2	h416	1		
	h426	12	11月～1月に同時多発した株 (感染源不明)	
	h63	1		
	h64	1		
計		未実施	1	
計			32	

表3-2. ヒト由来STEC O26のPFGE型

血清型	毒素型	PFGE型	株数	備考
O26:H11	1	h13	1	
		h139	1	
		h68	7	保育園集発株
計			9	

### 3.2 浴槽水等のレジオネラ汚染調査

浴槽水等101検体について実施したレジオネラ汚染調査結果を、表5に示した。

培養法により検査した結果、浴槽水67検体中6検体(9.0%)、原水6検体中2検体(33.3%)、冷却塔水6検体中5検体(83.3%)から、レジオネラが検出された。浴槽水は*L.pneumophila* (以下、*Lp*) 血清群2、3、5、6、10とレジオネラ属菌が、原水は*Lp*血清群1、6が、冷却塔水では*Lp*血清群1、13とレジオネラ属菌が検出された。浴槽水由来株は多様な血清群の*Lp*が分離されたが、冷却塔水では*Lp*血清群1の検出率が高かった。

保健所の検査で浴槽水等から検出されたレジオネラ菌株133株を収集し、血清群別を実施した結果を、表6に示した。

浴槽水由来株は、*Lp*血清群1、2、3、5、6、8、9、10、12群とUTおよびレジオネラ属菌、原水由来株は*Lp*血清群1、3、プール水およびフローミル水由来株は*Lp*血清群3、冷却

塔水由来株は*Lp*血清群1、13であった。

*Lp*血清群3のうち、44株についてPFGE法による解析を行った結果を、表7に示した。

PFGEパターンは14パターンに分類され、同時期に同一施設の複数の検体から分離された株同士は、同じPFGEパターンを示す傾向が見られた。一方、これら44株のPFGEパターンは、本年度県内で発生したレジオネラ症患者のうち、1名から分離された*Lp*血清群3のパターンと異なっていた。また、過去に分離された患者由来の*Lp*血清群3も含め、これらすべての*Lp*血清群3株が同一のPFGEパターンで、同じST93に型別された。さらに、他県では今のところ同じ遺伝子型株の分離例がなく、地域特異的な菌株であるため、感染源の究明に向けて継続した汚染実態調査を行う必要があると考える。

なお、レジオネラの調査については、平成24年度厚生労働科学研究費補助金(健康安全・危機管理対策総合研究事

表4. 牛直腸便由来STECの血清型・毒素型

血清型	毒素型	陽性検体数	検出率(%)
O8:H19	2	3	6.0
O103:H2	1	1	2.0
O124:H19	2	1	2.0
OUT:H-	2	3	6.0
OUT:H-	1,2	1	2.0
OUT:H2	2	2	4.0
OUT:H11	2	1	2.0
OUT:H18	2	1	2.0
OUT:H19	2	2	4.0
OUT:H21	2	1	2.0
OUT:HUT	1	1	2.0
OUT:HUT	2	1	2.0
計		18	

表5. 浴槽水等のレジオネラ検査結果

検体名	検体数	陽性検体数(%)	菌種	血清群	株数
浴槽水	67	6(9.0)	<i>L.pneumophila</i>	2	1
				3	2
				5	2
				6	2
				10	2
			<i>Legionella spp.</i>		1
原水	6	2(33.3)	<i>L.pneumophila</i>	1	1
				6	1
プール水	7	0			
冷却塔水	6	5(83.3)	<i>L.pneumophila</i>	1	3
				13	1
			<i>Legionella spp.</i>		1
下水処理場合流水	3	0			
水たまりの水	1	0			
池水	3	0			
堰水	1	0			
患者宅付近の用水の水	4	0			
ホテル内の噴水の水	1	0			
谷川水	1	0			
湧水	1	0			
計	101	13(12.9)			17

表6. 保健所等から収集したレジオネラ株

検体名	菌種	血清群	株数
浴槽水	<i>L.pneumophila</i>	1	12
		2	4
		3	29
		5	4
		6	27
		8	1
		9	7
		10	10
		12	1
		UT	1
	<i>Legionella spp.</i>		1
原水	<i>L.pneumophila</i>	1	1
		3	6
プール水	<i>L.pneumophila</i>	3	10
フローミル水	<i>L.pneumophila</i>	3	9
冷却塔水	<i>L.pneumophila</i>	1	9
		13	1
計			133

表7. 浴槽水等由来*L.pneumophila*血清群3株の分子疫学解析結果

No	採取年月日	検体名	地域一施設No	菌数cfu/100ml	PFGE型
12-2	H24.6.4	浴槽水	MA-1	20	12i
12-3	H24.6.4	浴槽水	MA-5	40	11e
12-4	H24.5.30	浴槽水	OC	20	12g
12-5	H24.7.4	浴槽水	OC	15	11b
12-6	H24.7.4	浴槽水	OC	<10?	12e
12-7	H24.7.4	浴槽水	OC	10	12e
12-8	H24.7.4	浴槽水	OC	5300	12d
12-9	H24.7.4	浴槽水	OC	5500	12d
12-10	H24.7.4	浴槽水	OC	3000	12b
12-11	H24.7.24	浴槽水	BI-2	200	12a
12-12	H24.7.18	浴槽水	OC		12b
12-14	H24.9.24	浴槽水	MA-1	10	11e
12-15	H24.9.25	浴槽水	MI-3	240	12u
12-16	H24.9.25	浴槽水	MI-2	30	12b
12-17	H24.11.21	浴槽水	KC-3	6250	12i
12-13	H24.8.27	浴槽水	MA-2	230	12c
LZ 12-1	H24.8.20	浴槽水	OC	10	12e
LZ 12-10	H24.9.25	フローミル水	OC-2	170	12s
LZ 12-11	H24.9.25	フローミル水	OC-2	170	12s
LZ 12-12	H24.9.25	フローミル水	OC-2	170	12s
LZ 12-13	H24.10.5	フローミル水	OC	10	12s
LZ 12-14	H24.10.10	浴槽水	OC	430	12t
LZ 12-15	H24.10.10	プール水	OC	10	12r
LZ 12-16	H24.10.10	プール水	OC	10	12r
LZ 12-17	H24.10.16	原湯	MA	60	11e
LZ 12-18	H24.10.16	原湯	MA	60	12i
LZ 12-19	H24.10.16	原湯	MA	60	12m
LZ 12-2	H24.8.20	浴槽水	OC	10	11b
LZ 12-20	H24.11.5	ろ過水	OC-3	170	12r
LZ 12-21	H24.11.5	ろ過水	OC-3	170	12r
LZ 12-22	H24.11.5	ろ過水	OC-3	170	12r
LZ 12-23	H24.11.5	ろ過水	OC-3	170	12r
LZ 12-24	H24.11.8	プール水	OC-1	30	12r
LZ 12-25	H24.11.8	プール水	OC-1	30	12r
LZ 12-26	H24.11.8	プール水	OC-1	30	12r
LZ 12-3	H24.8.20	浴槽水	OC	10	11b
LZ 12-4	H24.8.24	プールろ過水	OC-1	10	12r
LZ 12-5	H24.9.25	フローミル水	OC-2	170	12s
LZ 12-6	H24.9.25	フローミル水	OC-2	170	12s
LZ 12-7	H24.9.25	フローミル水	OC-2	170	12s
LZ 12-8	H24.9.25	フローミル水	OC-2	170	12s
LZ 12-9	H24.9.25	フローミル水	OC-2	170	12s
研 12-20	H24.6.11	浴槽水	BH-2	60	12b
研 12-59	H24.7.23	浴槽水	BI-3	640	12a

業)「公衆浴場等におけるレジオネラ属菌対策を含めた総合的衛生管理手法に関する研究」の研究班による調査の一環として実施したものである。

### 謝 辞

本調査の実施に際して、PFGE型別をお願いしました国立感染症研究所の寺嶋 淳先生、ST型別をお願いしました国立感染症研究所の前川 純子先生、菌株の分与や検体採取にご協力いただきました関係機関の先生方に深謝いたします。

### 文 献

- 1) 小林一寛：腸管出血性大腸菌の同定法 2. PCR法. 臨床検査, 36, 1334~1338, 1992
- 2) 寺嶋 淳, 泉谷秀昌, 三戸部治郎：食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース化に関する研究. 新興・再興感染症研究事業平成15年度総括・分担研究報告書2004, 10~21, 2004
- 3) 常 彬, 前川 純子, 渡辺 治雄：レジオネラを解析するパルスフィールド・ゲル電気泳動 (PFGE) 法の改良. IASR 2008 : 29 : 333-334.
- 4) Gaia V, Fry NK, Afshar B, Lück PC, Meugnier H, Etienne J, Peduzzi R, and Harrison TG. : Consensus sequence-based scheme for epidemiological typing of clinical and environmental isolates of *Legionella pneumophila*, J.Clin.Microbiol., 43, 2047-52, 2005
- 5) Ratzow S, Gaia V, Helbig JH, Fry NK, Lück PC. : Addition of neuA, the gene encoding N-acetylneuraminyl transferase, increases the discriminatory ability of the consensus sequence-based scheme for typing *Legionella pneumophila* serogroup 1 strains, J.Clin.Microbiol., 45, 1965-1968, 2007