

【調査研究】

岡山県における感染性胃腸炎起因菌の流行疫学調査（平成14年度）

中嶋 洋, 狩屋英明, 大島律子, 日笠芙美子（微生物科）

要 旨

岡山県下で分離された STEC 及びサルモネラ菌株について、各種疫学マーカーを検査して疫学的解析を行った。STEC の血清型は例年どおり O157：H7 の検出率が最も高く、次いで O26：H11 で他の O 抗原型は検出されなかった。STEC O157：H7, STX1, 2 株の PFGE 型は、近畿地区を中心に発生した焼肉チェーン店関連株の II a, II c, ND 型をはじめ、多種多様な PFGE 型の株が分離された。ヒト由来サルモネラはこれまでのように血清型 *S. Enteritidis* が高率に検出された。しかし、鶏からは *S. Infantis* の検出率が高く、今後 *S. Infantis* のヒトへの感染を予防する対策が必要と思われた。

[キーワード：志賀毒素産生性大腸菌, STEC, サルモネラ, PFGE 型, 疫学]

1 はじめに

近年問題となっている新興・再興感染症のうち、平成8年度に岡山県の邑久町で発生した志賀毒素産生性大腸菌（以下 STEC と略す）O157感染症は感染症の歴史に残る大発生の発端となり、平成9年度にも岡山市内の病院において集団発生を引き起こした。また、サルモネラ感染症では *S. Enteritidis*（以下 SE と略す）に汚染された鶏の輸入を契機に本菌感染症が全国で問題となっており、本県でも平成8年度に集団発生や散発例が頻発して以来、その後も本菌による発生が続いている。このように県下では両菌による感染症が多数発生しているにもかかわらず感染源が特定できたものは少なく、特に発生事例の多数を占め流行の指標となる散発例では感染源の究明は行われておらず、流行株の把握や散発例由来株相互あるいは集発例由来株との関連性は不明である。そこでこれら2菌種について感染源・感染経路の究明や感染症の発生予防に役立つため継続した調査を実施しているが、本報告では平成14年度に県下で分離された STEC やサルモネラ菌株の各種性状について菌株相互の関連性を検討した。

2 材料及び方法

2.1 菌 株

岡山県下で平成14年度に分離された STEC, サルモネラ菌株を用いた。

2.2 各種性状試験

各種性状試験は、以下の方法で実施した。

2.2.1 生化学的性状試験

ID テスト EB20（日水）を用いて、菌の同定を行った。

2.2.2 血清型別

分離菌の血清型別は、STEC は病原性大腸菌免疫血清（デンカ生研）を、サルモネラはサルモネラ免疫血清（デンカ生研）を用いて実施した。

2.2.3 毒素型別

STEC の毒素型別は、ラテックス凝集反応による大腸菌ベロ毒素検出用キット（デンカ生研）および PCR 法¹⁾により実施した。

2.2.4 パルスフィールドゲル電気泳動法による遺伝子型別

STEC のパルスフィールドゲル電気泳動法による遺伝子型別（PFGE 型）は、国立感染症研究所に依頼して実施した。

また、サルモネラの PFGE は制限酵素 *Bln* I で処理後、泳動条件パルスタイム 5～50秒, 13℃, 200V, 22時間で実施した。

3 結果および考察

平成14年度の STEC 月別検出率を、図1に示した。

STEC は5月に27.3%と最も検出率が高く、また気温の高い時期を中心に高率に検出された。本年度は施

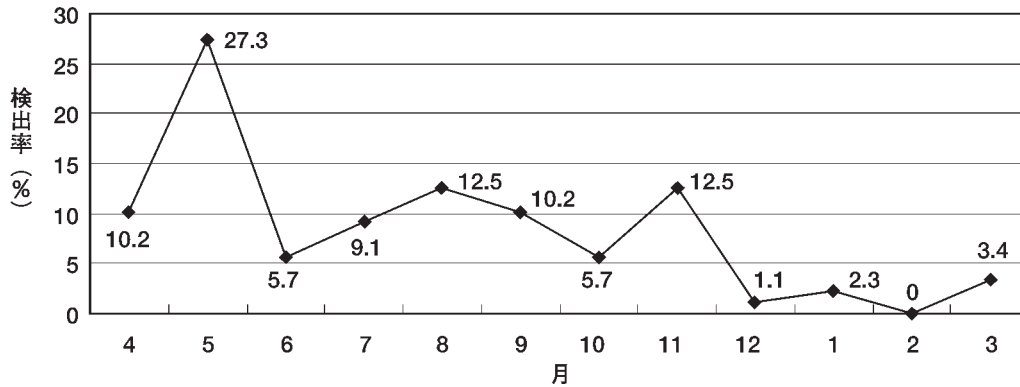


図1 STEC 月別検出率

設内での感染事例に加えて家族内での感染例が多く発生しており、4月～11月の比較的長い期間にわたって高い検出率を示した一因であると思われる。

検出された STEC の血清型・毒素型を、表1に示した。

血清型・毒素型は7種類検出され、最も検出率が高かったのは O157 : H 7, STX 1, 2 の48.9%で、次いで O157 : H 7, STX 2 の22.7%、O26 : H11, STX 1 の19.3%の順に高率に検出され、これらの血清型・毒素型の株が全分離株の90.9%を占めた。本年度は他の O 抗原型は検出されず、O157及び O26株のみ検出された。

散発事例から検出された STEC 株の PFGE 型は多様であったが、家族内及び施設内感染事例と焼肉チェーン店関連株について、事例内分離株間の PFGE 型の異同を表2に示した。

18事例中同じ事例内で分離された株の PFGE 型が一致した事例は11事例(61.1%)で、他の事例では PFGE パターンの一部が異なっていたり、PFGE 型が違う株も見られた。このような同一事例内分離株の PFGE パターンの変化は以前より観察されており、疫学調査から同一感染源あるいは同じ菌による感染が疑われるような事例でも、ヒトからヒトへの感染の過程あるいは何らかの原因で遺伝子の変異が容易に起こるものと思われることから、疫学解析にあたっては他の疫学情報を踏まえて総合的に判断する必要がある。

一方、平成14年度にヒト、鶏および拭き取り材料から分離されたサルモネラの血清型を、表3に示した。

34血清型と型別不能の株が検出され、このうちヒトから検出された血清型で最も検出率が高かったのは例

表1 検出された STEC の血清型と毒素型

血清型	毒素型	株数	検出率 (%)
O157 : H-	1, 2	2	2.3
O157 : H 7	1	1	1.1
O157 : H 7	2	20	22.7
O157 : H 7	1, 2	43	48.9
O26 : H-	1	1	1.1
O26 : H11	1	17	19.3
O26 : H11	1, 2	4	4.5
計		88	

年通り SE の119株(45.6%)で、次いで S. Agona(10.3%), S. Saintpaul (9.2%), S. Infantis (5.0%; 以下 SI と略す) 等の検出率が高かった。他の血清型の検出率はいずれも2.5%以下と低率であった。鶏検体からは盲腸内容150検体中26検体、鶏肉1検体の計27検体から SI が検出され、鶏由来株のうち87.1%が本血清型の株であった。松下ら²⁾は東京都で1995～1999年に人散発事例から分離したサルモネラの血清型について報告しており、いづれの年次でも SE の検出率が最も高かったことを報告している。しかし一方で、国内事例の SI 検出率は暫時増加傾向にあり、1995年に4位、1996、1997年には3位、1999年には SE に次いで2位を示したと報告している。また、干場ら³⁾は1997～2001年に高知県内の食鳥処理場で採取した採卵鶏903羽についてサルモネラの検査を行い、SI (29羽) は S. Corvallis (50羽) に次いで検出されたと報告しており、他県においても SI による人への感染の増加や鶏の高率な保菌が示されている。鶏検体では卵及びその加工品で SE の汚染が

表2 家族および施設内感染事例における PFGE 型の相異

事例	血清型	毒素型	PFGE 型	株数	事例における関連	PFGE 型の異同
1	O157:H7	1,2	II b, ND, I	2	家族	同一
2	O157:H7	1,2	II b, ND, I	2	同一会社	同一
3	O157:H7	1,2	II a, II c, ND	2	家族	同一
4	O157:H7	1,2	II a, II c, ND	2	家族, 焼き肉チェーン店関連	同一
5	O157:H7	1,2	II a, II c, ND	2	家族, 焼き肉チェーン店関連	同一
6	O26:H11	1	ND, ND, ND	2	家族	2バンド相異
			ND, ND, ND	3		
7	O26:H11	1	ND, ND, ND	1	家族	1バンド相異
			ND, ND, ND	1		
8	O26:H11	1	ND, ND, ND	2	家族	2バンド相異
	O26:H11	1	ND, ND, ND	1		
9	O26:H11	1,2	ND, ND, ND	4	家族	同一
10	O157:H7	1,2	II j, II a, I	2	保育園児と家族	3バンド相異
	O157:H7	1,2	II j, II a, ND	1		
11	O157:H7	2	ND, V', III	1	家族	2バンド相異
			ND, V', III	1		
			V b', V'', III	2		型相異
12	O26:H11	1	ND, ND, ND	2	家族	同一
13	O157:H7	1,2	II a, II a, I	2	家族	同一
14	O157:H7	1,2	II a, II b, I	1	家族	型相異
	O157:H7	1,2	ND, II a, I	1		
15	O26:H11	1	ND, ND, ND	2	家族	同一
16	O157:H-	1,2	II g, IV, ND	2	家族	同一
17	O157:H7	1,2	II b, II c, ND	3	家族	同一
18	O157:H7	1,2	II a, II a, I	2	家族	同一

問題となっているが、昨年度と本年度実施した鶏盲腸内容の検査の結果、SIの検出率が高率であったことから、今後はSIについても鶏の保菌や鶏肉・卵等への汚染に対する予防策が重要になると考える。

ヒト由来サルモネラの月別検出率を、図2に示した。

ヒト由来サルモネラは7月から11月まで比較的長い期間高い検出率を示した。特に気温の低くなる10月、11月の検出率は夏期以上に高かったが、これは10月の下旬から11月にかけて飲食店でのSEによる集団発生があり、これに伴って検出率が上昇したものである。最近、SEによる鶏の保菌や鶏卵汚染については、その予防対策あるいは卵の流通・保管対策として、鶏への

ワクチン接種や卵の輸送時及び店舗での陳列時の温度管理、消費期限の表示等が実施されている。われわれの鶏盲腸内容の検査ではSEは分離されず、また本年度のSEによる集団発生の事例数も、前年度に比べて減少している。このような傾向は村瀬ら⁴⁾や干場ら³⁾も指摘している。村瀬らは神戸市で過去14年間に発生したSEによる集団事例について、1999年以降は発生件数の減少傾向を指摘しており、干場らも高知県内の散発事例から1997年に80株を分離したが、その後は40株前後で推移していることから、やはりSEによる感染事例の減少を示している。しかし、予防対策の効果が十分に現れるまでにはさらに長い期間をかけた対策と

表3 サルモネラ分離株の血清型

血清型	ヒト由来株数	鶏由来株数	拭き取り由来株数
S. Agona	27 (10.3)		
S. Bardo/S. Newport	1 (0.4)		
S. Bradford		1 (3.2)	
S. Braenderup	5 (1.9)		
S. Brandenburg	6 (2.3)		
S. Cerro/II/III a	1 (0.4)		
S. Chester	1 (0.4)		
S. Chomedey/S. Glostrup	1 (0.4)		
S. Corvallis	5 (1.9)	2 (6.5)	
S. Emek	1 (0.4)		
S. Enteritidis	119 (45.6)		
S. Infantis	13 (5.0)	27 (87.1)	1 (100)
S. Istanbul/S. Hadar	5 (1.9)		
S. Kiambu/II	1 (0.4)		
S. Kingston	1 (0.4)		
S. Lindenburg	1 (0.4)		
S. Manchester	3 (1.1)		
S. Menston/II	1 (0.4)		
S. Montevideo	1 (0.4)		
S. Newport	1 (0.4)		
S. Ohio	1 (0.4)		
S. Pakistan/S. Litchfield	2 (0.8)		
S. Paratyphi B	2 (0.8)		
S. Potsdam	1 (0.4)		
S. Saintpaul	24 (9.2)		
S. Schwarzengrund	1 (0.4)		
S. Senftenberg/S. Dessau	7 (2.7)		
S. Singapore	7 (2.7)		
S. Tennessee/II	1 (0.4)		
S. Thompson	7 (2.7)		
S. Typhi	2 (0.8)		
S. Typhimurium	7 (2.7)		
S. Virchow	1 (0.4)	1 (3.2)	
S. Miyazaki	2 (0.8)		
型別不能	2 (0.8)		
計	261 (100)	31 (100)	1 (100)

* () 内の数字は%

監視の徹底と継続が必要であると思われる。

表3で検出率の高い上位4血清型について、7月から11月の期間の検出状況を表4に示した。

SEは平均的に検出されているが集団発生により10月、11月に多く検出され、S. Saintpaulは7～9月の検出率が高かったが、SIではどの月も検出率が低かった。S. Agonaは夏期よりも10月、11月に高率に検出され、何らかの同一感染源による流行が推察された。

SIのPFGEパターンは、昨年度分離された鶏及び人由来株を比較した結果、一部の株間で関連性が見られた。そこで、本年度分離された株と1999年以降に本県で分離された株についてPFGEパターンを比較し、表5に示した。

1999年に分離された4株、2000年の2株、2001年の6株、2002年の20株、2003年の2株の計34株について解析した。すべての株は大きくA～Dの4パターンに分類され、もっとも多くの株が示したパターンAとそのバリエーション(A-v1～A-v8:1～3バンドの相違でパターンが似ているもの)は34株中30株(88.2%)を占めた。他のパターン(B, C, D)において

表4 4血清型の月別検出株数

血清型	7月	8月	9月	10月	11月
S. Agona	1			9	8
S. Enteritidis	11	18	13	27	19
S. Infantis		2		1	1
S. Saintpaul	6	6	7	4	

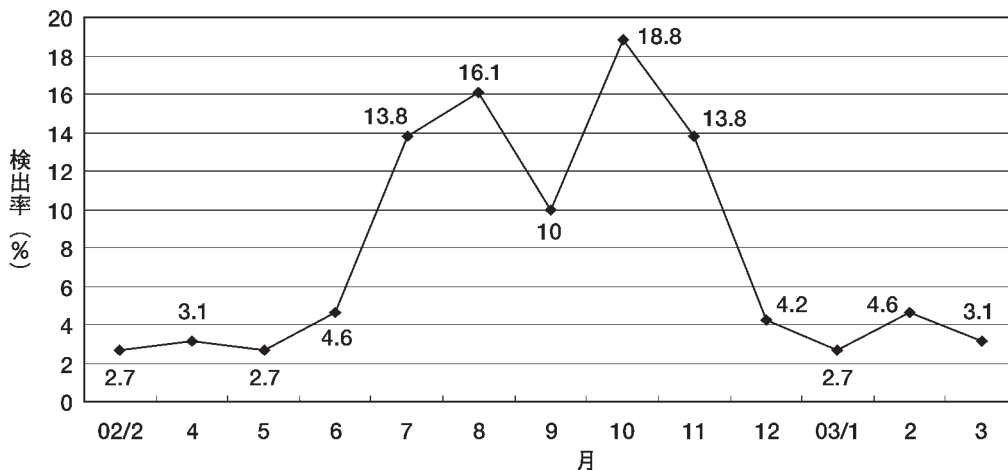


図2 ヒト由来サルモネラの月別検出率

表5 分離された *S. Infantis* の PFGE パターンによる分類

検体名	分離年	PFGE 型	検体数
鶏ミンチ	1999	A	1
	1999	B	1
鶏肉	2001	A-v 4	1
拭き取り (まな板)	2002	A	1
ブロイラーと体	1999	A	1
	1999	A-v 1	1
	2000	A-v 7	1
	2000	C	1
ブロイラー盲腸	2002	A	5
	2002	A-v 1	3
若鶏皮ゴボウ	2002	A	1
人	2001	A	2
	2002		
	2001	A-v 1	6
	2002		
	2002		
	2002		
	2002		
	2003		
	2003	A-v 2	3
	2002		
	2002		
	2001	A-v 3	1
	2002	A-v 5	1
	2002	A-v 6	1
	2001	A-v 8	1
	2002	B	1
2001	D	1	

も A と 6 バンドの相違があったパターン B を除き、C と D (パターン A と 4 バンド相違) は全体的なパターンがやや A と似ている。このことから、本県で分離さ

れた SI 株は遺伝子においてかなり類似しており、同一感染源由来の株により感染が拡大している可能性が示された。本菌による感染予防のためには、今後もさらに多くの株について PFGE による遺伝子解析を継続実施していくことが重要と考える。また、岡山県は全国的にみて鶏卵の出荷量が多い県であり、鶏から分離されるサルモネラのうち特に SE や SI については今後もその検出傾向を監視して、さらにファージ型や PFGE 等の疫学マーカーを用いたデータ解析により、感染源の究明を実施していく必要があると思われる。

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 淳先生をはじめ、菌株の分与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) 松下 秀, 河村真保, 高橋正樹, 横山敬子, 小西典子, 柳川義勢, 甲斐明美, 山田澄夫, 諸角 聖：東京において最近 5 年間 (1995~1999 年) に分離された国内及び輸入事例由来サルモネラの血清型と薬剤耐性. 感染症誌, 75, 116-123, 2001
- 3) 干場 浩, 安岡富久, 谷口昌子, 松本紀子, 小松照子, 長崎英二：ニワトリから分離されたサルモネラ, 第 4 回 (H12 年度) 高知県地域保健研究会演題 No. 30.
- 4) 村瀬 稔, 黒川 学, 栗原健志, 池田律子, 泉谷秀昌, 渡辺治雄：神戸市における過去 14 年間 (1989~2002 年) の *Salmonella Enteritidis* による食中毒事例のファージ型による疫学解析, 日食微誌, 19, 195-199, 2002