

腸管出血性大腸菌 O111 集団感染事例及び *Salmonella* Enteritidis 食中毒事例 のパルスフィールドゲル電気泳動による解析

熊谷奈々子 須釜久美子 平澤恭子 長沢正秋 渡部啓司
微生物グループ 細菌

要 旨

今年度県内で発生した事例について、パルスフィールドゲル電気泳動法による解析を行った。感染症事例 1 については、幼稚園児とその家族、小学校児童から分離された 5 株の腸管出血性大腸菌 O111 が同一パターンを示した。また事例 2 については、患者と従業員、そして食品から分離された *Salmonella* Enteritidis が同一パターンを示した。よって、それぞれ幼稚園と小学校、患者と食品との関連性がパルスフィールドゲル電気泳動法により確認された。

食中毒の原因究明や感染拡大の防止には、まず多くの疫学情報を集めることが必要である。そして、科学的根拠としてのパルスフィールドゲル電気泳動法の解析結果も併せて判断することによって、より確かな結論を導き出すことができると言える。

キーワード：PFGE, 腸管出血性大腸菌 O111, *Salmonella* Enteritidis

はじめに

パルスフィールドゲル電気泳動 (pulsed-field gel electrophoresis : PFGE) 法は、制限酵素を用いて細菌の染色体やプラスミド DNA を切断後、生じた大きな DNA 断片を特殊な電気泳動装置にかけて分離し、その泳動後の多型性を比較する方法である。

従来、食中毒や感染症の集団発生における原因究明には、喫食調査などの疫学調査の情報と統計的に解析する手法が用いられており、この疫学的手法を補うために種々の分子疫学的手法が開発されてきた。その中で、PFGE 法は現時点において最も優れた菌株比較方法といわれている^{1), 2)}。

そこで、2004 年度に県内で発生し PFGE 法による解析によって、その有用性が得られた 2 つの事例について報告する。

事例の概要

(事例 1) 幼稚園と小学校で発生した腸管出血性大腸菌 O111 による集団感染事例

2004 年 10 月 30 日、郡山市内の医療機関から VT1 および VT2 産生の腸管出血性大腸菌 O111 (EHEC O111) の患者発生届け出があった。患者は T 幼稚園に通う園児 (園児 A) で、

その後、園児 A の弟と T 幼稚園の別の園児 (園児 B) からも EHEC O111 が検出された。一方、11 月 10 日に同市内の T 小学校に通う 2 名 (児童 C, 児童 D) から同じ VT1 および VT2 産生の EHEC O111 が検出され、患者として届け出があった。児童 C の弟は T 幼稚園に通園しており、発症はしていなかった。これらのことから、T 幼稚園と T 小学校での患者発生の関連性を調査する目的で、郡山市保健所から PFGE の依頼を受け実施した。その後、本事例は EHEC O111 の病原体陽性者数が 26 名にのぼり、その内訳は園児 A・B を含む幼稚園児が 9 名 (患者 4 名、保菌者 5 名)、児童 C・D を含む小学生が 11 名 (患者 6 名、保菌者 5 名)、また、それらの家族が 6 名 (患者 4 名、保菌者 2 名) であった。なお、感染経路は不明であった。

(事例 2) 卵を使った焼き物を原因とした *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis (S.E) による食中毒事例

2004 年 12 月 12 日、県内の飲食店で会食した 22 人が下痢や発熱などの食中毒様症状を呈している旨の通報が保健所にあり、直ちに調査が開始された。

調査対象者は、10 日から 13 日の間に同店

で喫食した 230 名で、そのうち発症者は 114 名となった。検査を実施した結果、食品（焼き物原料）、従事者便、患者便から S.E が検出された。患者はそれぞれ所属グループが異なっており、共通点が同店での飲食（宴会料理）のみだったこと、また、そのメニューである卵を使った焼き物原料からも S.E が検出されていることから、当該施設を原因とする S.E による食中毒と断定された。

材料および方法

1 材料（使用菌株）

事例 1 については、幼稚園児（園児 A・B）と園児 A の弟、および小学生（児童 C・D）便由来の 5 株を使用した。

事例 2 については、患者便由来の 5 株と従事者便由来の 2 株、そして食品（焼き物原料）から検出された 2 株の計 9 株を使用した。

2 方法

PFGE 法により解析した。具体的には染色体 DNA を制限酵素で切断し、その断片を電気泳動してパターン解析を行った。

事例 1、EHEC O111 については制限酵素 *Xba*I を用い、泳動条件は電圧 6V/cm、パルスタイム 2.2 ~ 54.2 秒、泳動時間 19 時間、バッファー温度は 14 °C とした。

事例 2、S.E については制限酵素 *Bln*I を用い、泳動条件は電圧 6V/cm、パルスタイム 2.2 ~ 63.8 秒、泳動時間 19 時間、バッファー温度は 14 °C とした。

なお、DNA サイズマーカーとして *Salmonella* Braenderup H9812 を用いた。

結 果

事例 1 の EHEC O111 の PFGE パターンを図 1 に、事例 2 の S.E の PFGE パターンを図 2 に示す。

事例 1 については幼稚園児とその家族、小学生から分離された株が同一パターンを示した。

事例 2 については、3 グループの患者便 5 株と従事者便由来の 2 株、それに食品由来の 2 株が同一パターンを示した。

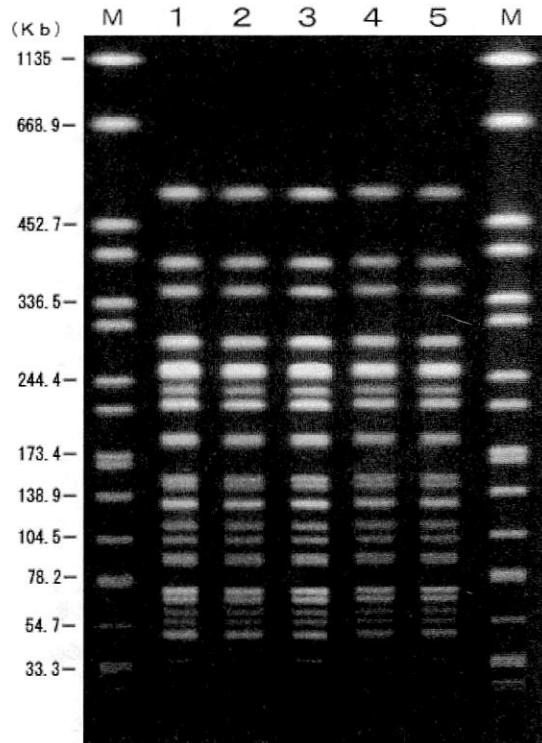


図 1 事例 1 : EHEC O111 の *Xba*I による PFGE パターン

M : *Salmonella* Braenderup H9812

1 : 8 歳、児童 C、T 小学校

2 : 8 歳、児童 D、T 小学校

3 : 5 歳、園児 A、T 幼稚園

4 : 1 歳、園児 A の弟

5 : 4 歳、園児 B、T 幼稚園

考 察

当県において、VT1 のみ産生の EHEC O111 による患者発生の報告はあるが、VT1 および VT2 産生の EHEC O111 による患者発生は、感染症法が施行されてから初めてである。全国的にみても、VT1 および VT2 産生の EHEC O111 分離株の報告は 2002 年に 11 株 (EHEC O111 総数 108 株中: 10 %)、2003 年には 4 株 (23 株中: 17 %) と少ない傾向にあった。

しかし 2004 年になると、VT1 および VT2 産生 EHEC O111 による大きな集団発生があり、今回の 26 株を含めて 128 株 (149 株中: 86 %) と大幅な増加が見られた。

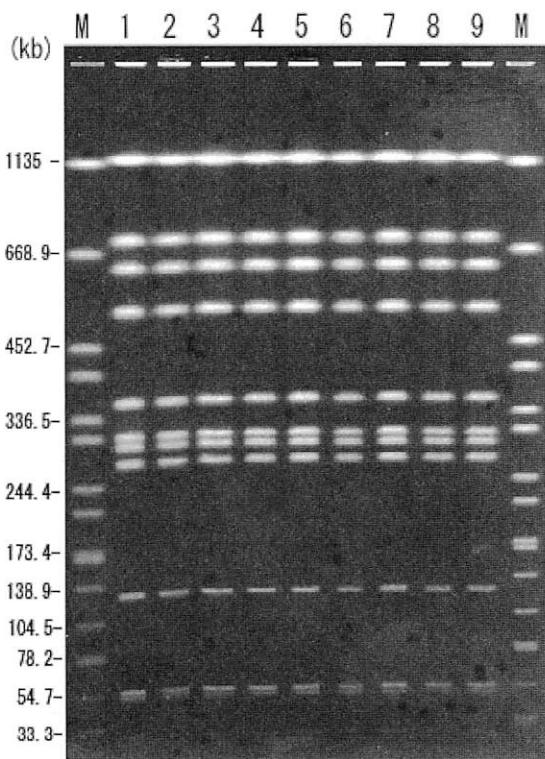


図2 事例2：*S. E*の*BlnI*による
PFGEパターン

M : *Salmonella* Braenderup H9812

- 1 : 42歳, 男, 患者 (グループA)
- 2 : 56歳, 男, 患者 (グループA)
- 3 : 70歳, 男, 患者 (グループB)
- 4 : 23歳, 男, 患者 (グループC)
- 5 : 82歳, 男, 患者 (グループB)
- 6 : 43歳, 女, 従業員
- 7 : 65歳, 女, 従業員
- 8 : 食品 (焼き物原料) 由来株
- 9 : 食品 (焼き物原料) 由来株

今回の26株は国立感染症研究所からの報告によると, PFGEにおいてほぼ同一のパターンを示し, 2005年7月現在, 他の地域でのPFGEによる同一パターンは検出されていないとのことであった。2002年, 2003年に引き続き2004年も保育所・幼稚園での集団発生が全国的に多くみられ, 保育所・小学校等の集団発生では施設内感染に留まらず, 家族への二次感染が報告される事例が多いのが特徴であるといわれている³⁾。事例1も同様の傾向を示し, 幼稚園と小学校においてそれぞれ発

症後, 同級生, その家族へと感染が広がった。各施設で最初に発症した幼稚園児と児童から分離された株が同一パターンを示したこととは, 同一の感染源であったか, 時間的な流れを考慮すると, 幼稚園から小学校へ何らかの感染経路があった事を強く示唆している。

一方, *S.E*による食中毒は過去5年間に10件(当県)起きており, 平均患者数127.8人と大型化する傾向にある。その原因食品は, ほとんどにおいて鶏卵が何らかの形で関与していると考えられている⁴⁾。事例2では焼き物原料である食品由来株と, 患者便由来株が同一パターンを示したことにより, この焼き物が今回の*S.E*感染の原因であったことが裏付けられた。この焼き物は, 卵黄を含んだタレを食材に塗って焼いた物で, そのタレは継ぎ足して使用されていた。そのため, 汚染された鶏卵由来の*S.E*が継ぎ足し中に増殖し, さらに十分に加熱されなかつたために起こったと推察される。以上2つの事例は, PFGE法によってそれぞれ幼稚園と小学校, 患者と食品とを関連づける事ができ, その有用性が確認された。

まとめ

今回PFGE法を実施した事例1については, 幼稚園児とその家族, 小学生から分離された株が同一パターンを示した。また, 事例2についても, 3グループの患者と調理従事者, そして食品から分離された株が同一パターンを示した。

食中毒の原因究明や感染拡大の防止には,多くの疫学情報を集めて総合的に判断することが重要である。そして, 科学的根拠としてのパルスフィールドゲル電気泳動法の解析結果も併せて判断することによって, より確かな結論を導き出すことができると推察する。

また, その結果を地域に還元することで行政, 食品営業者, 消費者等がそれぞれ対策を取事が可能となり, 食中毒や感染症の発生防止につながると考えられる。

引用文献

- 1)渡辺治雄, 寺嶋淳, 泉谷秀昌, 他. 分子疫学的手法に基づいた食中毒の監視体制; パ

- ルスネットの構築. 感染症学雑誌 2002 ;
76(10) : 842 - 848.
- 2)Tenover CF, Arbeit DR, Goering VR, et
al.Interpreting Chromosomal DNA Restriction
Patterns Produced by Pulsed-Field Gel
Electrophoresis : Criteria for Bacterial Strain
Typing.Journal of Clinical Microbiology 1995 ;
33 : 2233 - 2239.
- 3)国立感染症研究所, 厚生労働省健康局, 結
核感染症課. <特集>腸管出血性大腸菌感染
症 2005 年 5 月現在. 病原微生物検出情報 2005
; 26(6) : 137 - 138.
- 4)中村明子. 鶏卵を介する *Salmonella* Enteritidis
食中毒. 臨床検査 2003 ; 47 : 495 - 500.