

astA 保有大腸菌が原因と考えられた食中毒事例

杉谷和加奈 中田恵子* 森田美加 杉岡由美子

*平成19年3月31日退職

1 はじめに

下痢原性大腸菌の病原性発現については、毒素遺伝子や細胞接着因子の関与が知られているが、他にも未知の病原因子の存在を示唆する報告もあり¹⁾、下痢発症については未解明の部分が多い。下痢原性大腸菌の毒素遺伝子として報告された耐熱性毒素遺伝子である *astA* を単独保有する大腸菌についても下痢原性を否定する意見がある一方で、同菌よる集団下痢症事例の報告は各地でされている²⁾。今回、熊本市においても *astA* 単独保有大腸菌 O166 : H15 による食中毒事例が発生したのでその概要を報告する。

2 概要

平成18年8月2日、熊本刑務所から8月1日夕食後から8月2日昼にかけて下痢、腹痛等の症状を訴える入所者が多数発生したとの届出があった。(図1)

当該施設は矯正施設という特殊な施設であるため、入所者747名は当該施設内の厨房で入所者によって調理された給食を喫食しており、そのうち147名(発症率19.7%)が食中毒症状を呈した。(表1) また、刑務所職員は別の食事を摂っているということであった。

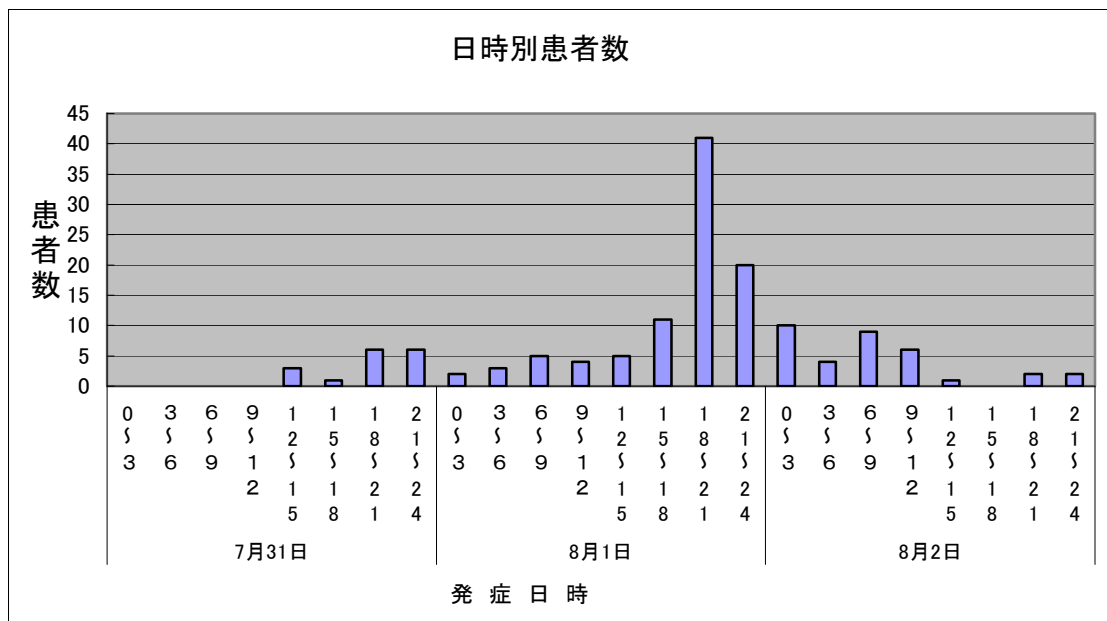


図1 日時別患者数

表1 症状別患者数

症状	腹痛	下痢	発熱	嘔気	嘔吐	頭痛	倦怠感	脱力
患者数(名)	142	147	72	68	29	77	6	1
発現率(%)	96.6	100	49.0	46.3	19.0	52.4	4.1	0.7

3 材料及び方法

(1) 当所持込検体

当所持込検体は有症者便 20 検体、無症者便（調理従事者及び炊場監視職員）25 検体、7 月 30 日から 8 月 1 日までの検食 65 検体等、総数 127 検体であった。（表 2）

なお、無症者便の炊場監視職員は当該給食を食したものではない。

表 2 当所持込検体数

		検体数
有症者便		20
無症者便	（調理従事者）	15
	（炊場監視職員）	10
検食		65
施設拭取り		17

(2) 検査項目

(a) 病原性大腸菌のスクリーニング

便検体：DHL 寒天培地から sweep 法で *LT*、*ST*、*invE* 遺伝子を標的とした PCR を実施した。同遺伝子が陰性であった検体について、*eaeA*、*aggR*、*bfpA* および *astA* 遺伝子を追加して再度 PCR を実施した。また、DHL 寒天培地より、3 - 5 個、大腸菌の典型的なコロニーを TSI 培地、LIM 培地、シモンズのクエン酸塩培地及び普通寒天培地に釣菌した。検出された大腸菌は再度 *astA* 遺伝子検出用 PCR を行った。大腸菌の生化学的性状確認は、API20E（バイオメリュー）を用いた。

施設拭取り及び検食

DHL 寒天培地より、3 - 5 個、大腸菌の典型的なコロニーを TSI 培地、LIM 培地、シモンズのクエン酸塩培地及び普通寒天培地に釣菌した。

大腸菌の性状を示したものについては、*LT*、*ST*、*invE* 遺伝子及び、*eaeA*、*aggR*、*bfpA*、*astA* 遺伝子を標的とした PCR を実施した。大腸菌の生化学的性状確認は、API20E（バイオメリュー）を用いた。

(b) 血清型別検査（O：H 型別試験）

検出された大腸菌について O 型別試験を市販血清（デンカ生研）を用いて行った。

また、有症者便から検出された *astA* (+) 大腸菌、21 検体と無症者便から検出された *astA* (-) 大腸菌 0166、1 検体について H 型別試験を市販血清（デンカ生研）を用いて行った。型別不能だった検体については、国立感染症研究所へ依頼した。

(c) 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は *astA* (+) 大腸菌 0166 : H15、11 検体及び、*astA* (-) 大腸菌 0166 : H15、1 検体について行った。方法は、センシディスク（日本ベクトン・ディッキンソン）、ミューラーヒントン培地（日本ベクトン・ディッキンソン）を用いて 1 濃度ディスク法で行った。使用薬剤は、TC, SM, KM, CEZ, ABPC, CPF, NA, CP, OFLX, ST, FOM, CTX の 12 薬剤である。

(d) パルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）法による遺伝子解析

PFGE は *astA* (+) 大腸菌 0166:H15、11 検体及び、*astA* (-) 大腸菌 0166:H15、1 検体について行った。

「大腸菌のパルスフィールド電気泳動法による解析 九州ブロック統一マニュアル」の方法により実施した。制限酵素は *Xba* I を使用し、コントロールマーカには *S.Braenderup* H9812 株を同様に処理した検体を用いた。

4 結果

有症者便 20 検体から大腸菌 O166:H15 (11 検体)、O55:H32 (7 検体)、O169:H5 (1 株)、O169:HNT (1 株)、OUT:H10 (1 検体) が検出された (一部重複分離)。その全てが *astA* を保有していたが、接着因子である *eaeA*、*aggR*、*bfpA* は全ての検体から検出されなかった。一方、無症者便 (調理従事者及び炊場監視職員) 25 検体から、大腸菌 O166 を 2 株分離したが、いずれも *astA* は陰性であった (表 3)。

astA (+) 大腸菌 O166 の API20E のコードは (5144562) で一致した。

薬剤感受性試験は *astA* (+) 大腸菌 O166:H15、11 検体全てが TC, SM, AM, NA, CP, SXT の 6 剤に耐性であった。*astA* (-) 大腸菌 O166:H15、1 検体は AM のみの耐性であった。

PFGE は *astA* (+) 大腸菌 O166 の PFGE の結果は全て同一パターンを示した (写真 1)。

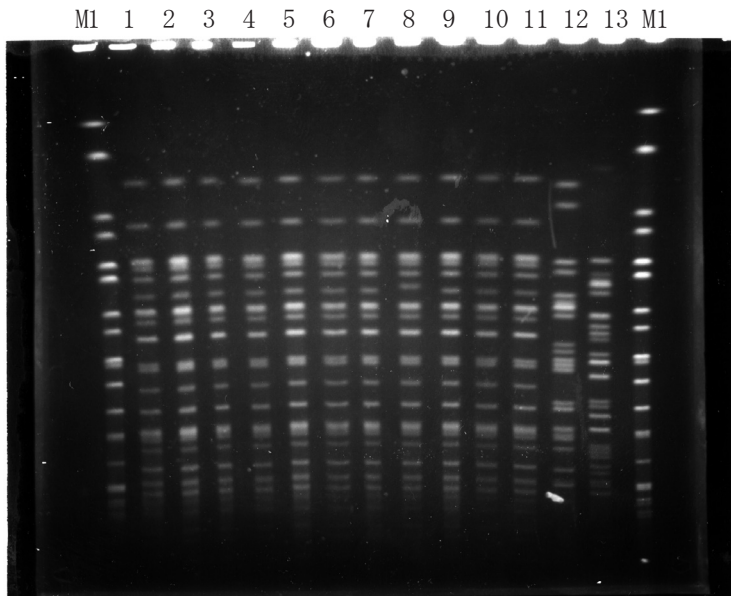
なお、無症者便、検食及び調理場拭取りから食中毒起因菌としてその他の有意な菌は検出されなかった。

表 3 検出結果

検出された大腸菌血清型		無症者		
血清型	<i>astA</i> 遺伝子	有症者	調理従事者	炊場監視職員
		(入所者 20 名)	(入所者 15 名)	(職員 10 名)
O55:H32	+	7	0	0
O166:H15	+	11	0	0
	-	0	0	1
O166:HNT	-	0	0	1
O169:H5	+	1	0	0
O169:HNT	+	1	0	0
OUT:H10	+	1	0	0
	+	0	1	1
OUT:HNT	-	0	4	2
	NT	0	5	5
O1:HNT	-	0	0	3
O6:HNT	-	0	0	1
O8:HNT	-	0	1	0
O18:HNT	-	0	1	0
O86a:HNT	-	0	1	0
O114:HNT	-	0	0	1
O125:HNT	-	0	0	1
大腸菌陰性		0	2	0
		21*	15	16**

* 1 名から複数の血清型の大腸菌検出

** 複数の血清型の大腸菌検出



レーン No	
M1	S. Braenderup H9812 株
1 ~ 11	0166 : H15 <i>astA</i> (+) (有症者由来株)
12	0166 : H15 <i>astA</i> (-) (無症者由来株)
13	0166 : HUT <i>astA</i> (+) (当所保有別事例株)

写真1 PFGE 解析結果

5 考察

今回の食中毒事例では有症者便 20 検体中 11 検体から *astA* 保有大腸菌 0166 : H15 が検出されたが、無症者便から同菌は検出されなかったことから、熊本市保健所は本事例を大腸菌 0166 : H15 による食中毒と判断した。

また、有症者便から分離された *astA* 保有大腸菌 0166 : H15 の PFGE 解析が同一パターンを示したことより、これらの分離株は疫学的観点から見ても同一由来株である可能性が高いことが示唆された。

大腸菌の病原性については、毒素遺伝子や接着因子の検査から判断されることが多いが *astA* を単独で保有する場合は、健常者からも検出されていることや、*astA* が病原性を発現しないケースもあり、PCR による *astA* の検出だけで下痢原性があると決定するべきではないとされている。

しかし、大阪、福井、広島などで *astA* 単独保有大腸菌 0166:H15 による集団下痢症が報告されている。同様に当市での今回の食中毒事例も *astA* 単独保有大腸菌 0166 : H15 によるものであることが、検査や疫学調査から強く示唆された。今後、同菌による集団下痢症事例報告の疫学情報の集積及び分離株の病原性解析が同菌の下痢症機序の解明につながることを期待される。

本事例の原因食品は不明であったが、検食から病因物質が検出されなかったことより、配膳後の食品が汚染された可能性があると考えられ、熊本市保健所は調理から喫食までの調理時間の見直し、食品の低温管理等の衛生指導を実施した。

6 謝辞

本稿をまとめるにあたり指導いただいた国立感染症研究所 情報センター 第七室伊藤先生と大腸菌 H 血清型別を調査していただいた国立感染症研究所 細菌第一部 伊豫田先生に深謝いたします。

参考文献

- 1) 石村 勝之他：広島市の散発性下痢症由来大腸菌の病原遺伝子保有調査 広島市衛生研究所年報 第 23 号 102-104 平成 15 年度
- 2) 病原微生物検出情報 2002 年 Vol. 23, 229-230 2003 年 Vol. 25, 101-102 2004 年 Vol. 25, 262-263