

astA 遺伝子保有大腸菌 OUT:H33 が原因菌と考えられた 集団下痢症事例

石村 勝之 毛利 好江 橋渡 佳子 古田 喜美
山本美和子 佐々木敏之 萱島 隆之 河本 秀一
平崎 和孝 荻野 武雄

はじめに

下痢原性大腸菌は、血清型、病原因子（遺伝子）あるいは細胞付着性の有無などの研究結果から、現在のところ、4~5 種類に分けられている。その過程で、astA 遺伝子のみが陽性となる大腸菌が多く存在することが認められてきた。しかし、この遺伝子保有菌の病原性に関しては不明の部分が多い。このような状況の中、広島市においては、1998 年に血清型 O166:H15 の astA 陽性大腸菌による集団食中毒を経験した。その後、2002 年に astA 陽性大腸菌が原因と考えられた本市において 2 回目の集団下痢症事例が発生したので、その概要と検査結果を報告する。

方法

1 供試材料

広島市保健所より当所に搬入された有症者便 24 検体、調理従事者便 6 検体、検食 42 検体、スワブ 20 検体、飲用水 2 検体、冷却水 4 検体、プール水 2 検体の計 100 検体について食中毒菌を検索した。

2 血清型別

市販抗血清(デンカ生研)を用いて型別を試みた。その後、東京都健康安全研究センター(旧都衛研)微生物部へ依頼し O:H 型別を決定した。

3 病原遺伝子の PCR 検出

分離菌株は EXEC-PCR で(LT, ST, stx, invE) 遺伝子を確認した後、astA, aggR, eaeA, espB, bfpA 遺伝子の有無を調べた。さらに irp2, aspU 遺伝子についても追加し検討した。分離菌株の astA 遺伝子はダイレクトシーケンス法により部分的塩基配列を調べた。

4 分子疫学的解析

薬剤感受性試験(10 薬剤:AM, TC, NA, KM, GM, SXT, TMP, CPX, CTX, FF), plasmid profile, および XbaI 消化によるパルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE)により解析した。

結果

1 発生概要

2002 年 6 月、市内の研修施設において研修生 26 名が 6 月 4 日から 6 月 21 日までの間、下痢、腹痛を訴えた。検査の結果、供試した検食や飲用水などからは原因菌と考えられる一般的な食中毒菌は分離されなかったが、患者 18 名(69%)から乳糖遅分解の同一生化学的性状を示す大腸菌が分離され、薬剤耐性試験の結果も同一の 6 剤耐性(AM, TC, NA, GM, STX, TMP)を示した。市販血清による血清型別では血清型は不明であった。後日、都衛研での型別結果から本菌は OUT:H33 と決定された(表 1)。しかし、他の検体から本菌は分離されなかった。

2 分離大腸菌の病原遺伝子検出状況

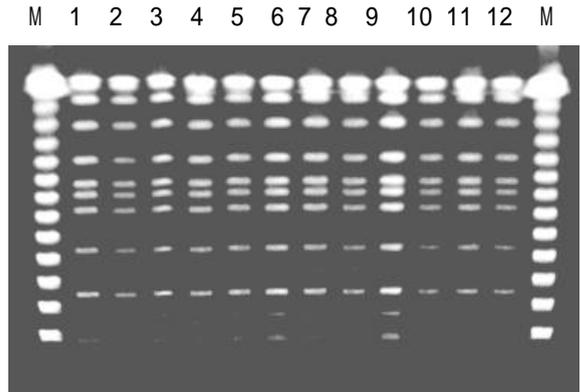
大腸菌 OUT:H33 の 18 株は EXEC-PCR により行った LT, ST, stx, invE の病原遺伝子検索では全て陰性であったが、astA, aggR, eaeA, espB, bfpA 遺伝子の有無を調べた結果、astA 遺伝子のみがすべての菌株から検出された。さらに irp2 および aspU 遺伝子を追加検討したところ、すべて irp2 陽性、aspU 陰性を示した。一方、astA 遺伝子の塩基配列を解析したところ、同一配列を示した(表 1)。

3 分子疫学的解析

分離 astA 陽性 E.coli OUT:H33 株は同一の plasmid profile を示し、PFGE 解析も同一パターンを示したことから、これらの分離大腸菌菌株は同一菌と考えられた。以上の疫学的状況および検査結果から、この大腸菌が本下痢症事例を引き起こした原因菌であると考えられた。

表 患者から分離された大腸菌の諸性状

検討項目	結 果
TSI 培地性状	斜面部上部赤色, 高層部黄変, Gas+, H ₂ S-
LIM 培地性状	リジン脱炭酸+, インドール+, 運動性+
API-20E コード	5044512 (Escherichia coli)
血清型	OUT: H33
薬剤耐性	ABPC, TC, NA, GM, STX, TMP 耐性
プラスミド	同一 2 バンド (> 25 kb)
PFGE(XbaI)	同一パターン
PCR :	
astA	+
eaeA	
aggR	
stx	
LT	
ST	
invE	
irp2	+
aspU	
astA 塩基配列	同一配列 (21 番コドン : -gca (Ala)-)



レーン M: 分子量マーカー
レーン 1 ~ 12 : 患者便由来株

図 分離大腸菌 OUT:H33 の PFGE 解析 (XbaI 消化)