

## Atypical 腸管病原性大腸菌(a-EPEC)O128 : H2 が原因 と考えられた集団食中毒事例

国井 悦子 田中 寛子 末永 朱美 花木 陽子  
蔵田 和正\* 毛利 好江 石村 勝之 池田 義文  
笠間 良雄 吉岡 嘉暁

### はじめに

特定の血清型の腸管病原性大腸菌(EPEC)は、開発途上国においては、乳幼児下痢症の重要な原因菌であるが、先進国では、乳幼児下痢症の重要な原因とみなされていない。日本においても、発症頻度は高くないが、下痢症患者から散発的に分離されるとともに、EPECによる集団食中毒もみられる。EPECは、EAFプラスミドを有するものはtypical EPEC、EAFプラスミドを欠いているものはatypical EPECに細分類され、それはEAFプラスミド上の付着関連遺伝子 *bfpA* の確認によって行える。従来、開発途上国では、typical EPECが優勢と思われてきたが、最近では、発展途上国、先進国ともにatypical EPECがより多く分離されることが認められている<sup>1)4)5)</sup>。今回、広島市において、atypical EPECと考えられた腸管病原性大腸菌O128:H2を原因とする食中毒事例を経験したので報告する。

### 方 法

#### 1 検査材料

広島市保健所より当所に搬入された患者便3検体および調理従事者便2検体の計5検体について食中毒菌およびウイルスの検索を行った。保存検食42検体については、食中毒菌の検索を行った。

#### 2 分離方法

食中毒起因菌の検査は、常法に準じて行った。大腸菌に関しては、検食はDHL寒天培地(日水製薬)に、患者糞便および調理従事者便は、DHL寒天培地およびGNブロス(Difco)10mlに接種した。37°C、一夜培養後、DHL寒天培地の大腸菌を疑うコロニーをTSIおよびLIMに釣菌し、37°C、一夜培養後、スクリーニングした。

#### 3 大腸菌の同定・血清型別

スクリーニングで大腸菌の性状を示した分離菌株の生化学的性状を市販の培養同定キット

Api20E(日本ビオメリュー社)で、血清型別は市販の抗血清(デンカ生研)を用いて調べた。

#### 4 大腸菌の病原遺伝子確認試験

糞便のGNブロス増菌液については、EXEC-PCR<sup>2)</sup>でLT, ST, *stx*, *invE*の病原遺伝子の有無を確認した。分離大腸菌O128:H2については、上記遺伝子の他、*eaeA*, *bfpA*, *espB*の各遺伝子をPCR法で検討した。

#### 5 薬剤感受性試験

分離大腸菌O128:H2の、12薬剤(ABPC, KM, CP, TC, NA, SM, CPF, CTX, SXT, TMP, GM, FOM)に対する感受性を一濃度ディスク法で測定した。

#### 6 分子疫学的解析

分離した大腸菌O128:H2を*Xba*I消化によるパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)により解析した。

#### 7 ウイルスの検索

患者便、従事者便について、当部ウイルス担当において、ノロウイルス、サポウイルス、アストロウイルス、アデノウイルスはPCR法により、ロタウイルスはイムノクロマト(IC)法により検出を試みた。また、患者便については、電子顕微鏡検査を併用した。

### 結 果

#### 1 発生概要

2008年9月、市内の保育園で、園児15名が下痢などの症状を訴えている旨、広島市保健所に連絡が入った。当所で食中毒および感染症の両面で検査をしたところ、有症の園児3名の便から腸管病原性大腸菌O128:H2(atypical EPEC)を検出した。薬剤耐性試験の結果も同一のABPC耐性を示した。また、給食の検食(南京サラダ)からも、同一菌が検出されたことから、給食を原因とする腸管病原大腸菌O128:H2(atypical EPEC)による食中毒と断定された。

#### 2 糞便の病原検索

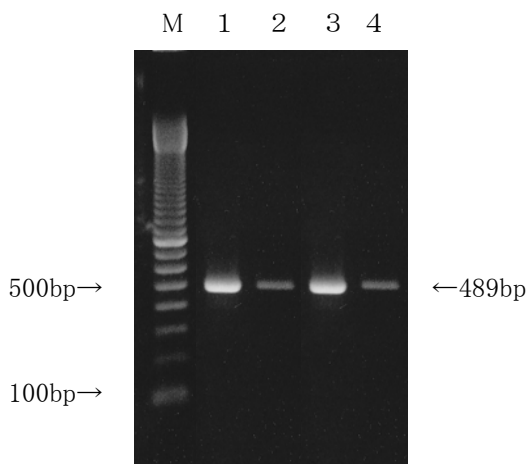
検体搬入初日に搬入された患者便2検体、調理従事者2検体のGNブロス増菌液について、PCR法

\*: 現 環境局施設部施設課

表 1 分離大腸菌 0128 の細菌学的検討結果

項目	患者由来菌株 (3株)	検食由来菌 (1株)
TSI 培地性状	Y/Y	Y/Y
	Gas+, H <sub>2</sub> S-	Gas+, H <sub>2</sub> S-
LIM 培地性状	リジン脱炭酸+	リジン脱炭酸+
	インドール+	インドール+
	運動性+	運動性+
API20E コード	5144572	5144572
	( <i>Escherichia coli</i> )	( <i>Escherichia coli</i> )
H 抗原	2	2
薬剤耐性	ABPC 耐性	ABPC 耐性
PFGE( <i>Xba</i> I)	同一パターン	
病原性遺伝子		
LT 遺伝子	-	-
ST 遺伝子	-	-
<i>stx</i>	-	-
<i>invE</i>	-	-
<i>eaeA</i>	+	+
<i>bfpA</i>	-	-
<i>espB</i>	+	+

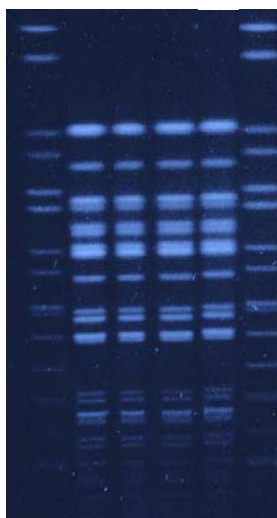
により LT, ST, *stx*, *invE* の各病原遺伝子の検索を行ったが検出されなかった。しかし, DHL 寒天培地に培養した患者糞便 3 検体より, 市販病原大腸菌抗血清 0128 に凝集する大腸菌が分離された。すべての検体において, 他の食中毒菌およびウイルスは検出されなかった。



レーン M : 100pb ラダー  
 レーン 1~3 : 患者由来株  
 レーン 4 : 検食由来株

図 1 分離大腸菌 0128 : H2 の *eaeA* 遺伝子の PCR 増幅結果

M 1 2 3 4 M



レーン M :  
 分子量マーカー  
 レーン 1~3 :  
 患者由来株  
 レーン 4 :  
 検食由来株

図 2 分離大腸菌 0128 : H2 の PFGE 解析 (*Xba* I 消化)

### 3 検食の病原検索

DHL に培養した検食の南京サラダより, 市販病原大腸菌抗血清 0128 に凝集する大腸菌が 400CFU/g 分離された。

### 4 分離大腸菌 0128 の薬剤感受性および血清型

患者由来 3 株および検食由来 1 株の大腸菌 0128 の 4 株すべてが ABPC 耐性を示した。H 抗原は 4 株とも H2 抗血清に凝集した。

### 5 分離大腸菌 0128 : H2 の病原遺伝子検索

分離大腸菌 0128:H2 の 4 株について *eaeA*, *bfpA*, *espB* 遺伝子の有無を調べた結果, *eaeA*, *espB* 遺伝子が 4 菌株とも検出された (図 1)。

### 6 分離大腸菌 0128 : H2 の分子疫学的解析

患者および南京サラダより分離した大腸菌 0128 : H2 *eaeA*(+), *espB*(+) 株は PFGE 解析において, 同一パターンを示した (図 2)。

### 7 総合評価

以上の結果より, 今回の事例は, 患者および検食から同一の PFGE 像を示す大腸菌が分離され, かつそれらは保有遺伝子が *eaeA*(+), *espB*(+), *bfpA*(-) であることから, LEE (Locus of Enterocyte Effacement) を有するが, 集束線毛を有しない atypical EPEC に分類される a-EPEC 0128:H2 による食中毒事例と考えられた。

### 文 献

1) 伊藤健一郎: 付着性大腸菌の検査法と判定について, Infectious Agents Surveillance Report, 29, 224~226 (2008)

- 2) 伊藤文明 他：混合プライマーを用いた PCR 法による下痢原生大腸菌の病原因子の同時検出法, 日本臨床, 50, 343～347(1992)
- 3) 坂崎利一：新訂 食水系感染症と細菌性食中毒, 237～253(2009)
- 4) Theresa J.Ochoa et al : New insights into the epidemiology of enteropathogenic *Escherichia coli* infection, Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 102, 852～856(2008)
- 5) Rang N. Nguyen et al : Atypical enteropathogenic *Escherichia coli* infection and prolonged diarrhea in children , Emerging infectious Diseases, 12, 597～603(2006)