

札幌市において3事例に検出した Vero 毒素産生大腸菌について

小野 准子 大木 忠士 清水 良夫 菊地由生子
渡部 敏江*

要 旨

1992年7月～10月の間に分離した3例の散発事例由来の *E. coli* 0157 について菌株の Vero 毒素産生性、生化学的性状及び薬剤感受性について調査を行った。その結果、Vero 毒素産生性、生化学的性状では米国で検出した *E. coli* 0157 H7 (EDL 931) と一致したが、薬剤感受性ではテトラサイクリン系感受性で異なるものがみられた。

1. 緒 言

Vero 毒素 (VT) 産生大腸菌は、出血性大腸炎や溶血性尿毒症症候群 (HUS) の起因菌として、近年関心が高まっている菌である。本市においても血清学的検査や Polymerase Chain Reaction (PCR) 法による VT 産生遺伝子の検出を行い本菌検出のための対応をしている。1993年7月、市内の医療機関より血清型別の依頼のあった散発下痢症例から初めて本菌を検出し、以降10月まで3例から本菌を検出したので分離菌株の各性状について調査し、米国で分離された VT 産生大腸菌 0157 H7 (EDL 931) 株と生物型及び薬剤感受性について比較を行ったので報告する。

2. 材料及び方法

1992年7月～10月にかけて市内の医療機関より血清型別の依頼のあった散発下痢症例3例からの分離菌株及び東京都立衛生研究所より分与された VT 産生大腸菌 0157 H7 (EDL 931) 株について、市販同定用キット (ID-EB20 (日水製薬)、バイオテスト1号 (栄研化学)、アピ20E (アスカ純薬)) による同定を行った。血清型別検査は病原大腸菌免疫血清 (デンカ生研) を用いた。炭水化物分解性試験は糖分解用半流動培地 (栄研化学) に各糖液を1%濃度に添加し、接種後37°C、7日間観察し判定を行った。 β -Glucuronidase 活性試験は Fluorocult[®]-BRILA-Broth (Merck) を用い、37°C、24時間培養後判定を行った。VT 産生遺伝子の存在は Karch & Meyer らのプライマーと小林のプライマーを用いた PCR 法^{1,2)} で調べ、後者ではテン

プレート DNA を 10 μ l とし、アニーリング温度は 57°C で行った。薬剤感受性試験はセンシディスク (BB-L) を用い、NCCLS ディスク法により行った。

3. 各散発下痢症の医療機関からの情報

症例1 菌株番号 723/92 8歳、女児、腹痛・下痢 (4～5回/日) のため発症2日目に受診。吐気・湿疹はない。体温は 36.6°C、下痢のため脱水症気味であった。便性状は軟便～水様便であり、*E. coli* 0157 H7 を検出した。7日後の再受診時の便培養検査は *E. coli* 0157 H7 陰性であった。

症例2 菌株番号 806/92 17歳、女性、下痢 (20回程度/日) のため発症3日目に受診。便性状は粘血便であり、*E. coli* 0157 H7 を検出した。

症例3 菌株番号 1024/92 9歳、女児、腹痛・下痢 (発熱はない) のため発症2日目に受診したが、その後腹痛・下痢が続いたため2日後に再受診し便培養検査を行い *E. coli* 0157 H7 を検出した。

3例とも HUS は続発しなかった。また、患者の家庭も学校も飲料水に市の水道水を用いており、井戸水を飲用した事実はなかった。

4. 結 果

分離菌株の同定キットによる数値プロファイルは、ID テストでは全ての株が 0151457 (オキシダーゼー) で *E. coli* としての同定確率が 34.2% であり、バイオテスト及びアピ20E では菌株番号 723/92・1024/92 が共に 2261527・5144172 でアピ20E での *E. coli* の同定

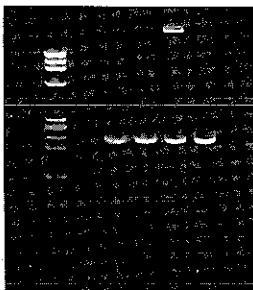
確率は64.1%と高かったが、菌株番号806/92はオルニチンの項目が陰性となり、2241527・5044172で*E. coli*の同定確率は低くなった。いずれのプロファイルも*E. coli*に典型的な生化学的性状を示しているが、Sorbitol分解性が陰性のため同定確率の比較的低い*E. coli*と確認された。糖分解性試験では、Dulcitol+, Rhamnose+, Raffinose+, Sucrose+, Lactose+, Cellobiose-, Sorbitol-を示し、 β -Glucuronidase活性は陰性を示した。糖分解性試験結果より分離株はKhakhriaらの分類³⁾では生物型Iに属し、Aleksicらの分類⁴⁾では生物型3であった。また、これらの性状及び生物型はEDL931株と一致した(表1)。VT産生遺伝子の検出についてはVT1及びVT2の両遺伝子を持つことが確認され(図1)、H血清、Sorbitol、 β -Glucuronidase活性との関連もEDL931株と一致し

表1 *E. coli* 0157:H7の生物型

菌数番号	Dulcitol	Rhamnose	Raffinose	Sucrose	生物型	
					A*1	B*2
723/92	+	+	+	+	3	I
806/92	+	+	+	+	3	I
1024/92	+	+	+	+	3	I
EDL931	+	+	+	+	3	I

37°C, 1~4日間観察
 *1 Aleksicらによる
 *2 Khakhriaらによる

(A) Karch & Meyer
 らのプライマーPCR
 M 1 2 3 4 5



(B) 小林のプライマー
 PCR
 M 1 2 3 4 5

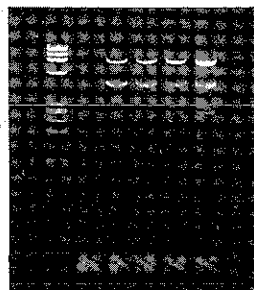


図1 PRC法によるVT産生遺伝子の検出

M: size marker ($\lambda\phi$ /Hind III)
 1: normal control
 2: 菌株番号 723/92
 3: 菌株番号 806/92
 4: 菌株番号 1024/92
 5: 菌株番号 EDL931

た(表2)。薬剤感受性試験は表3に示したとおり、菌株番号723/92, 806/92及びEDL931はErythromycin以外の薬剤に高い感受性を示した。菌株番号1024/92は前3菌株とは異なり、Erythromycinに加えてTetracycline及びMinocyclineに耐性であったがそれら以外の薬剤には高い感受性を示した。

5. 考 察

VT産生大腸菌は1990年埼玉県で発生した集団事例を契機として全国的に調査研究がなされている。本市においては、今回3例の散発事例より本菌を検出し、VT産生大腸菌による感染症が確認された。

今回の事例は、散発症例のため感染源や原因食品に

表2 *E. coli* 0157:H7の性状

菌株番号	血清型	Sorbitol*1	β -Glucuronidase*1	VT*2産生性
723/92	0157:H7	-	-	I・II
806/92	0157:H7	-	-	I・II
1024/92	0157:H7	-	-	I・II
EDL931	0157:H7	-	-	I・II

*1 37°C, 24時間後判定

*2 PCR法で確認

表3 *E. coli* 0157:H7の薬剤感受性試験結果

(センチディスク)

	723/92	806/92	1024/92	EDL931
Ampicillin	S	S	S	S
Cefazolin	S	S	S	S
Cefotaxime	S	S	S	S
Kanamycin	S	S	S	S
Gentamycin	S	S	S	S
Erythromycin	R	R	R	R
Tetracycline	S	S	R	S
Minocycline	S	S	R	S
Ofloxacin	S	S	S	S
Ciprofloxacin	S	S	S	S
Nalidixic acid	S	S	S	S
Norfloxacin	S	S	S	S
Pipemidic acid	S	S	S	S
Chloramphenicol	S	S	S	S
Fosfomycin	S	S	S	S
Colistin	S	S	S	S

S: 感受性, R: 耐性

については不明であり各事例の関連性はみられなかった。分離菌株については、VT 産生性及び生化学的性状において EDL 931 株と一致しており全国的にも多くみられる型⁹⁾であったが、薬剤感受性でテトラサイクリン系感受性に異なるものがみられたことから、プラスミドプロファイルやファージ型別など他の疫学マーカーの試験を実施し菌株間の関連性を検討する必要があると考える。

本菌は出血性大腸炎や HUS を続発することで臨床上重要な菌であるばかりでなく、感染源として家畜や畜産食品との関わりが示唆されているなど食品衛生の立場からも重要になってきている。

以上から、本菌感染症の適切な予防対策を図るため、各事例の感染源や原因食品の調査を行うばかりでな

く、分離株についても疫学マーカーとなる試験を実施し、更に他事例での検索を重ねることにより感染源追求に活用していきたいと考える。

6. 文 献

- 1) Karch & Meyer: J Clin. Microbiol., 27, 2751-2757, 1989.
- 2) 小林一寛: 臨床と微生物, 18, 4, 507-513, 1991.
- 3) Rasik Khakhria: AN INTERNATIONAL SYMPOSIUM and WORKSHOP ON VTEC INFECTIONS, 1987.
- 4) S. Aleksic, et al: Zbl. Bakt. 276, 221-230, 1992.
- 5) 伊藤武: モダンメディア, 39, 307-322, 1993.

Isolation of Vero Toxin-producing *Esherichia coli* 0157 from 3 sporadic cases in Sapporo City

Noriko Ono, Tadashi Ooki, Yoshio Shimizu,
Yuko Kikuchi and Toshie Watanabe*

From July to November in 1992, we isolated *E. coli* 0157 in 3 sporadic instances.

We investigated the formation of Vero Toxin-production, biotyping and drugresistance of *E. coli* 0157 strains.

These strains were seen to be similar to *E. coli* 0157:H7(EDL931) which was isolated in the United States. Of the three instances, one strain was noted to differ from EDL931 in terms of drugresistance of tetracyclines.

*Ogyu Clinical Testing Laboratory