

山梨県で分離された病原大腸菌の血清型と薬剤感受性 (1970~1986)

中村美奈子 金子通治

Drug Susceptibility and Serovars of Enteropathogenic *E. coli* in Human Feces and Foods (1970~1986)

Minako Nakamura and Michiharu Kaneko

病原大腸菌による食中毒は毎年全国で30件前後の発生があり、全細菌性食中毒の3%にあたる¹⁾。しかし、その原因の多くが飲料水によるため、一回の発生で大規模な集団下痢症事件となり易く、患者数も多い。また近年、海外への旅行者や輸入食品等が増加し、海外由来株と思われる本菌に接触する機会が増えていることなどから、これら病原大腸菌に対する監視が強まっている。特に、海外渡航者より分離される毒素原性大腸菌 (ETEC) についての報告は数多く^{2~5)}その実態が明らかにされつつある。こうした状況の中で、山梨県においては病原大腸菌による食中毒、集団下痢症事例の占める割合が高く、'75~'84年の平均では全国の3%に比べ、13.5%と4.5倍も多く発生している¹⁾。

そこで私達は山梨県で分離された病原大腸菌の血清型、薬剤感受性および伝達性Rプラスミドの保有状況について、今後の防疫上の資料とするため検討したので報告する。

材料および方法

1. 供試菌株

1970年から1986年12月までの17年間に山梨県で分離された病原大腸菌408株のうち保存状態の良好な295株を供試菌株とした。295株の内訳は食中毒、集団下痢症のヒト由来209株、ヒト散発例由来74株、食品由来12株である。ヒト散発例由来には、'86年に実施した健康保菌者検索による分離株37株も含めた。

2. 検査方法

糞便、食品等の検査材料を問わず、増菌培地にはHIブイオンを用い分離培地にはマッコンキー寒天培地を使用した。分離培地地上に出現したコロニーを釣菌し、TSIおよびLIM培地により第一段階の性状を確認後、さら

にアミノ酸利用、糖分解能等の生化学的性状および市販の抗血清によって、菌の同定、血清型別を行った。

3. 薬剤感受性試験

日本化学療法学会法⁶⁾に基づき寒天平板希釈法にて最小発育阻止濃度 (MIC) を測定した。使用薬剤はストレプトマイシン (SM)、クロルテトラサイクリン (CTC)、クロラムフェニコール (CP)、カナマイシン (KM)、アミノベンジルペニシリン (ABPC)、セファロチン (CET)、ラタモキシセフ (LMOX)、ナリジキシム酸 (NA) およびサルファ剤 (SA) の9薬剤である。薬剤濃度はSM, CTC, CP, KM, CETについては3.1~200 μ g/ml, SA, ABPCは12.5~3,200 μ g/ml, LMOXは1.6~200 μ g/mlである。使用培地は感受性測定用ブイオンおよび寒天培地を用いた。

4. 伝達性Rプラスミドの検出

薬剤感受性試験の結果、SAは800 μ g/ml以上、その他の薬剤においては50 μ g/ml以上を耐性菌としてRプラスミドの検出を実施した。受容菌にはNA耐性付与*E. coli* 58-161を用い、37°C、18hr混合培養法で行った。

成 績

1. 分離株の由来および血清型

由来別年次別の分離株数を表1に示した。食中毒、集団下痢症のヒト由来株が70.8%を占め、食品由来はわずか12株にすぎず、うち8株が飲料水からの分離株である。海外渡航者より分離された株は14株であり、すべて'81年以降に分離されている。分離株が最も多いのは'81年であるが、この年には簡易水道が原因と考えられる患者数150人の集団下痢症事件や中学校での集団下痢症等

表 2 年次別，血清型分布

血清型/年	'70	'71	'72	'73	'74	'75	'76	'77	'78	'79	'80	'81	'82	'83	'84	'85	'86	合計
O26 : K60	2	1	1	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	5
O86a : K61	0	0	0	0	1	0	1	1	0	0	1	2	1	0	0	0	0	4
O86 : K62	5	1	1	1	1	0	0	2	0	0	0	0	1	1	11	0	0	16
O127a:K63	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	3
O136 : K78	7	3	3	1	6	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2	5
O144 : Kx ₂																		0
O55 : K59					1					2		1		1			4	9
O111 : K58					1	2						2		1				6
O112 ^a _c : K66					1				2								1	4
O119 : K69						1						2		2			2	7
O124 : K72	1	1	1			1			1	1	2			1				9
O146 : K89						1		1	1								2	5
O28 ^a _c : K73	1						1						1					3
O44 : K74		3						7		3	1	3	1				1	19
O125 : K70		2			1			5			1	2	2	2	1			16
O126 : K71					1		2	1		1	1	3		1	7	1	1	19
O128 : K67			1	3	1		1		2		3		3	2	3	2	10	31
O143 : Kx ₁										1	2	1						4
O1 : K51										1	2	2	4	4	2	7		22
O6 : K15									1		2	20		1	2		2	28
O25 : K1										3	1	1	1				1	7
O27 : K+		1					1				3	7	3	7				22
O114 : K90											1	1		1		1	1	4
O142 : K+											6	2	1	1			9	19
O148 : K+										4	4	3		1			3	11
O152 : K+										2	1	2	2				3	10
O159 : K+														1	1			2
O164 : K+			1						1					1	1			5
合計	3	8	6	1	5	3	10	16	13	6	29	60	19	27	33	7	49	295

表 1 年次別、由来別の分離株数

由来	年度																	合計
	'70	'71	'72	'73	'74	'75	'76	'77	'78	'79	'80	'81	'82	'83	'84	'85	'86*2	
食中毒																		
集団下痢	3	2	6	1	3	3	10	15	2	2	27	54	15	24	31	2	9	
散発例*	0	6	0	0	0	0	0	1	11	4	0	1	0	0	0	37	60	
海外渡航者	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4	1	1	5	2	
食品等	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	4	0	2	1	0	1	
合計	3	8	6	1	5	3	10	16	13	6	29	60	19	27	33	7	49	

* 1 保健所・病院からの同定依頼株

* 2 '86年は12月までの集計

大規模な事件が3件も発生したため、この年に食中毒、集団下痢症由来株の1/4が集まっている。

'86年の散発例の急激な増加は、'86年より始めた健康保菌者検索による分離株を含めたためである。

年次別の血清型分布を表2に示した。使用した市販の抗血清は現在28種類であり、分離株の血清型はその内の27種に及んだ。最も多かった血清型は食中毒、集団下痢症のヒト由来から24株、散発例から5株、食品から2株分離されたO128:K67であった。また、この血清型は散発例由来株においても最多の株である。O128:K67は疫学調査において得られた株中最も多い血清型であったという報告⁷⁾もあり自然界での分布も高率であると思われる。そのほか比較的高率に分離された血清型は、O6:K15, O27:K+, O1:K51, O142:K+, O126:K71, O44:K74, でありこれらのうち、O128:K67, O6:K15, O27:K+は毒素原性大腸菌に見られる血清型であり、分離株295株のなかで1~3位を占める。

'79年からはそれまでの抗血清に新しい型が追加された。近年の海外渡航者の増加や輸入食品の増大に伴い海外由来とみられる血清型も増え、特に'80年以降急激に

その分離株が目立った。

病原大腸菌を腸管病原別に分けると、組織侵入性大腸菌(EIEC)、毒素原性大腸菌(ETEC)、狭義の病原大腸菌(EPEC)そして1982年にアメリカで報告のあった⁸⁾腸管出血性大腸菌(EHEC)の4種になる。これらを厳密に分類するためには複雑な試験が必要であるが、血清型でもある程度推測可能である。今回の分離株をそれらに分類したのが表3であり、3年ごとの年次変化をみた。なお、これらの分類はすべて市販の抗血清によった。

'79年~'81年を除いてどの年もEPECが半数近くを占めた。'79~'81年のETECはO6:K15による集団下痢症例により高率になっている。EIECについては'73~'75年以降10%台でやや減少傾向にある。'70年~'86年をまとめると分離株数はEPEC>ETEC>EIECの順であるが、'86年全国の成績ではETEC>EPEC>EIECであり、ETECの大部分(93%)が海外由来株となっている⁹⁾。本県では、海外渡航者由来株は合計でも14株と少ないが、今後は増加していくことが予想される。

2. 薬剤感受性試験

寒天平板希釈法で測定したMICの結果を図に示した。縦軸は各MIC値における株数の占める割合を%で示したものである。LMOXについては295株すべてが1.6μg/ml以下の感受性菌であり、耐性菌は全く見られなかったため図は省略した。

各薬剤における耐性株の割合の高い順に見ると、CTC(16.9%), SA(16.3%), SM(15.9%), ABPC(11.5%), CP(5.1%), KM(4.7%), CET(3.0%), NA(0.3%)およびLMOX(0.0%)となりサルモネラのMIC分布¹⁰⁾とほぼ同率であるが、ABPCについては若干病原大腸菌の耐性率が高い傾向にあった。

MICの分布についてみると、SAは感受性域では100μg/mlにピークがあり、耐性域では3,200μg/ml以上の

表 3 腸管病原性大腸菌の年次別分離株数

年	EIEC* (%)	ETEC* (%)	EPEC* (%)
'70~'72	5 (29.4)	5 (29.4)	7 (41.2)
'73~'75	1 (11.1)	2 (22.2)	6 (66.7)
'76~'78	7 (18.0)	4 (10.3)	28 (71.8)
'79~'81	17 (17.9)	42 (44.2)	36 (37.9)
'82~'84	10 (12.7)	23 (29.1)	46 (58.2)
'85~'86	7 (12.5)	18 (32.1)	31 (55.4)
合計	47 (15.9)	94 (31.7)	154 (52.2)

* 市販抗血清による

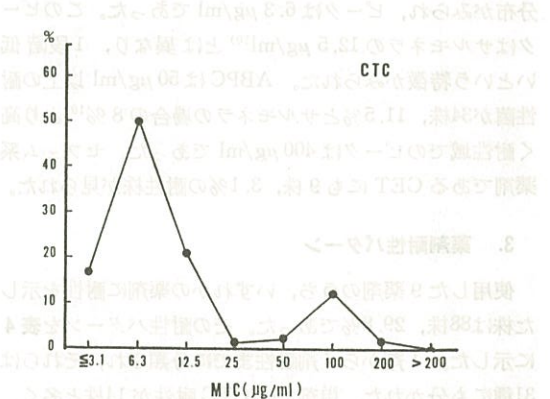
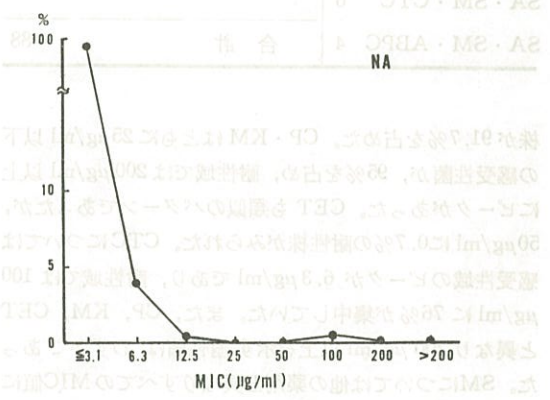
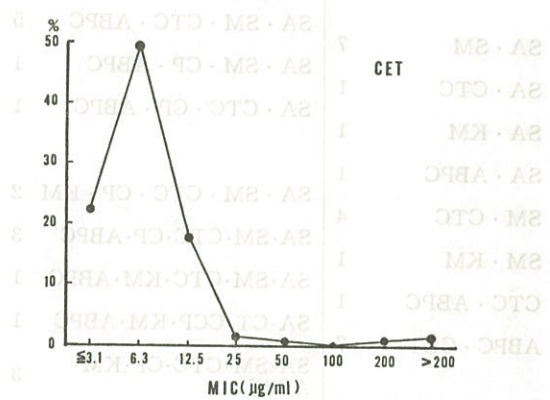
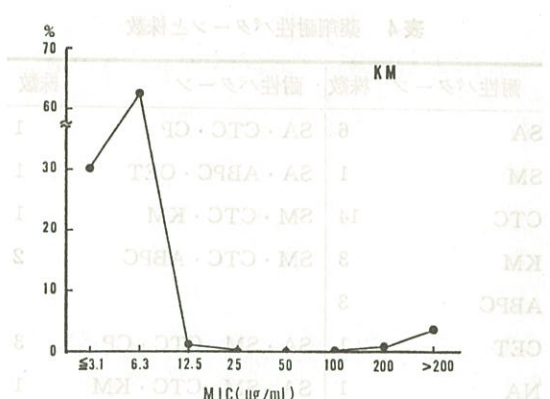
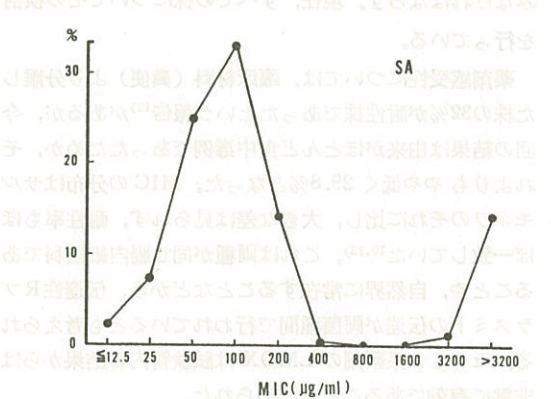
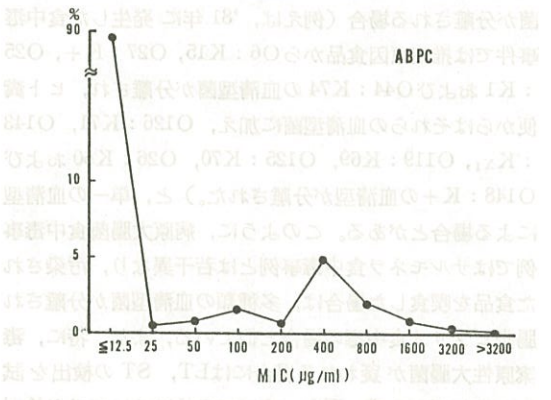
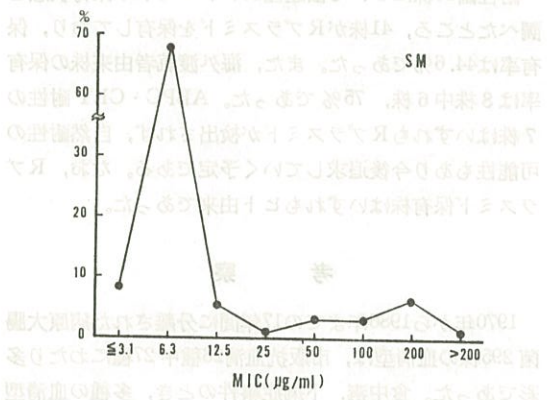
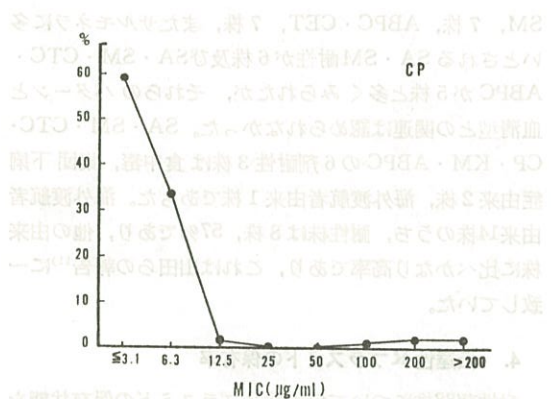


図 各薬剤におけるMIC分布

表4 薬剤耐性パターンと株数

耐性パターン	株数	耐性パターン	株数
SA	6	SA・CTC・CP	1
SM	1	SA・ABPC・CET	1
CTC	14	SM・CTC・KM	1
KM	3	SM・CTC・ABPC	2
ABPC	3		
CET	1	SA・SM・CTC・CP	3
NA	1	SA・SM・CTC・KM	1
SA・SM	7	SA・SM・CTC・ABPC	5
SA・CTC	1	SA・SM・CP・ABPC	1
SA・KM	1	SA・CTC・CP・ABPC	1
SA・ABPC	1		
SM・CTC	4	SA・SM・CTC・CP・KM	2
SM・KM	1	SA・SM・CTC・CP・ABPC	3
CTC・ABPC	1	SA・SM・CTC・KM・ABPC	1
ABPC・CET	7	SA・CT・CCP・KM・ABPC	1
SA・SM・CTC	6	SA・SM・CTC・CP・KM・ABPC	3
SA・SM・ABPC	4		
		合計	88

株が91.7%を占めた。CP・KMはともに25 μ g/ml以下の感受性菌が、95%を占め、耐性域では200 μ g/ml以上にピークがあった。CETも類似のパターンであったが、50 μ g/mlに0.7%の耐性株がみられた。CTCについては感受性域のピークが6.3 μ g/mlであり、耐性域では100 μ g/mlに76%が集中していた。また、CP、KM、CETと異なり200 μ g/ml以上を示す耐性菌は、わずかであった。SMについては他の薬剤と異なりすべてのMIC値に分布がみられ、ピークは6.3 μ g/mlであった。このピークはサルモネラの12.5 μ g/ml¹⁰⁾とは異なり、1段階低いという特徴がみられた。ABPCは50 μ g/ml以上の耐性菌が34株、11.5%とサルモネラの場合の8%¹⁰⁾より高く耐性域でのピークは400 μ g/mlであった。セフェム系薬剤であるCETにも9株、3.1%の耐性株が見られた。

3. 薬剤耐性パターン

使用した9薬剤のうち、いずれかの薬剤に耐性を示した株は88株、29.8%であった。その耐性パターンを表4に示した。1剤から6剤耐性までに分類され、それらは31種にも分かれた。単剤ではCTC耐性が14株と多く、ついでSA耐性が6株であった。2剤以上では、SA・

SM、7株、ABPC・CET、7株、またサルモネラに多いとされるSA・SM耐性が6株及びSA・SM・CTC・ABPCが5株と多くみられたが、それらのパターンと血清型との関連は認められなかった。SA・SM・CTC・CP・KM・ABPCの6剤耐性3株は食中毒、集団下痢症由来2株、海外渡航者由来1株であった。海外渡航者由来14株のうち、耐性株は8株、57%であり、他の由来株に比べかなり高率であり、これは山田らの報告¹¹⁾に一致していた。

4. 伝達性Rプラスミドの保有率

耐性菌88株について伝達性Rプラスミドの保有状態を調べたところ、41株がRプラスミドを保有しており、保有率は44.6%であった。また、海外渡航者由来株の保有率は8株中6株、75%であった。ABPC・CET耐性の7株はいずれもRプラスミドが検出されず、自然耐性の可能性もあり今後追求していく予定である。なお、Rプラスミド保有株はいずれもヒト由来であった。

考 察

1970年から1986年までの17年間に分離された病原大腸菌295株の血清型は、市販抗血清28種中27種にわたり多彩であった。食中毒、下痢症事件のとき、多種の血清型菌が分離される場合（例えば、'81年に発生した食中毒事件では推定原因食品からO6:K15, O27:K+, O25:K1およびO44:K74の血清型菌が分離され、ヒト糞便からはそれらの血清型菌に加え、O126:K71, O143:Kx1, O119:K69, O125:K70, O26:K60およびO148:K+の血清型が分離された。）と、単一の血清型による場合とがある。このように、病原大腸菌食中毒事例ではサルモネラ食中毒事例とは若干異なり、汚染された食品を喫食した場合は、多種類の血清型菌が分離され腸炎ブリーオ食中毒の場合と似ている、また、特に、毒素原性大腸菌が疑われる場合にはLT、STの検出を試みなければならず。現在、すべての株についてその検討を行っている。

薬剤感受性については、臨床材料（糞便）より分離した株の32%が耐性株であったという報告¹²⁾があるが、今回の結果は由来がほとんど食中毒例であったためか、それよりもやや低く29.8%となった。MICの分布はサルモネラのそれに比し、大きな差は見られず、耐性率もほぼ一致していた^{10,12)}。これは両種が同じ腸内細菌科であることや、自然界に常在することなどから、伝達性Rプラスミドの伝達が両菌種間で行われているとも考えられる。セフェム系薬剤のLMOXは試験管内の結果からは非常に有効であることが認められた。

年次別の分離頻度の検討から、今後も毒素原性大腸菌

(ETEC)の増加が予想されるが、一方、多種の血清型のうち組織侵入性大腸菌(EIEC)にも注目していく必要がある。

県内においては、病因物質のうち飲料水による患者の発生が多く、特に簡易水道施設の多い本県ではその衛生管理に十分な注意が必要であろう。

ま と め

1970年から1986年12月までの17年間に、山梨県で分離された病原大腸菌 408 株のうち 295 株を供試菌株としてその血清型分布、薬剤感受性および伝達性Rプラスミド保有率について検討した。その結果、

1) 分離された血清型は27種類であり、最多の型はO128:K67の10.5%、ついでO6:K15の9.4%、O27:K+とO1:K51の7.4%であった。また、O128:K67、O6:K15、O27:K+の3型はいずれも毒素原性大腸菌(ETEC)であり、他の報告と同様に県内においても増加の傾向がうかがわれた。特に、'81年以降は、顕著であった。

2) 薬剤感受性試験の結果、何らかの薬剤に耐性を示したのは295株中88株、29.8%であり、最も耐性率が高かった薬剤は16.9%のCTCであった。また、海外渡航者由来株については14株中8株、57%が耐性株であった。

3) 薬剤耐性パターンは1剤から6剤耐性まで計31種にもわたり単剤耐性ではCTCが最も多く(14株)その他SA・SM7株、ABPC・CET7株、サルモネラに多いとされるSA・SM・CTCが6株であった、4剤耐性以上のパターンは計21株みられた。

4) Rプラスミドの保有状況は、耐性株88株中41株(44.6%)であった。特に、海外渡航者由来株は8株中6株からRプラスミドが検出され75%という高率を示した。

稿を終るにあたり、Rプラスミド検出の際に御協力いただきました当所、植松香星技師に感謝いたします。

文 献

- 1) 金子通治: 山梨衛公研年報, 28, 18~21 (1984)
- 2) 工藤泰雄: モダンメディア, 27: 299 (1980)
- 3) 阿部久夫, 神田輝雄, 柳井慶明, 橋本 智, 小川良治, 宮田義人, 新保真澄, 原田七寛, 塚本定三, 木下喜雄, 有田美知子, 竹田美文, 三輪俊夫: 感染症誌, 55, 679~690 (1981)
- 4) 工藤泰雄: 日細菌誌, 35, 38 (1980)
- 5) 工藤泰雄: 東京都衛生局学会誌, No.70, 3(1983)
- 6) 日本化学療法学会: 最小発育阻止濃度(MIC)測定法, Chemotherapy, 29, 76~79 (1981)
- 7) 大久保忠敬: 日本公衛誌, 16, 541~548 (1969)
- 8) 小林一寛, 原田七寛, 中務光人, 神野逸郎, 石井経康, 下辻常介, 田村和満, 坂崎利一: 感染症誌, 59, 1056~1060 (1985)
- 9) 東京都病原微生物情報: 都衛研, 7 (13), 1~6 (1986)
- 10) 金子通治: 山梨衛公研年報, 27, 1~3 (1983)
- 11) 山田三紀子, 武藤哲典, 北爪晴恵, 鈴木正弘, 荒井一二, 母里啓子, 日本公衛誌, 31, 171~176 (1984)
- 12) 金子通治, 中村美奈子: 山梨衛公研年報, 30, 26~30 (1986)

表式むもは科科村

科 菌 科 科

1984年12月までの3年間に計31種にもわたり単剤耐性ではCTCが最も多く(14株)その他SA・SM7株、ABPC・CET7株、サルモネラに多いとされるSA・SM・CTCが6株であった、4剤耐性以上のパターンは計21株みられた。