

資料

## 広島県内の散発下痢症の最近の動向

— 下痢原性大腸菌, サルモネラ属菌, カンピロバクターおよび腸炎ビブリオの分離状況 —

竹田 義弘, 松田 花子, 東久保 靖\*, 小川 博美

### Recent Trends of Diarrheagenic *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Campylobacter* and *Vibrio parahaemolyticus* Isolated from Sporadic Diarrhea Cases in Hiroshima Prefecture

YOSHIHIRO TAKEDA, HANAKO MATSUDA, YASUSHI TOUKUBO\* and HIROMI OGAWA

(Received Sep. 29, 2005)

2002年4月～2005年3月に、県内5地区、10ヶ所の医療・検査機関において散発下痢症患者から分離された4種の食中毒起因菌の分離状況について検討した。①大腸菌からは下痢原性大腸菌の病原因子のうち、EPECのLT, STh, STp, EHECのVTおよびEPECの*eaeA*遺伝子が検出されたが、保有率は5.8%と低かった。このうちLT, SThおよびSTpは20歳以上の成人層、VTおよび*eaeA*は20歳未満の若年層からの検出頻度が高かった。病原遺伝子保有株は既知血清型が多く、特にO169はSTp, O157はVTの保有率が高かった。②サルモネラ属菌の血清型は38種に及び多彩化傾向がみられた。そのうち*S. Enteritidis*が65.3%を占めたが、年次別の分離率は減少傾向を示した。また、*S. Saintpaul*, *S. Virchow* および*S. Litchfield*の3種に増加傾向がみられた。患者は乳幼児(0～4歳)が多かった。③カンピロバクターは*C. jejuni*が93.1%を占めた。*C. jejuni*の血清型は25種に分類され、そのうちB群とD群の分離頻度が高かった。ナリジクス酸には*C. jejuni*の42.4%, *C. coli*の61.4%が耐性を示した。患者は他の菌種と比べて男性(1.49倍)が多かった。④腸炎ビブリオの血清型は15種に分類された。そのうちO3:K6が66.7%を占め、全て*tdh*遺伝子を保有していた。患者は他の菌種と比べて年齢層が高く、30歳以上からの分離頻度が高かった。

キーワード：散発下痢症, 下痢原性大腸菌, サルモネラ属菌, カンピロバクター, 腸炎ビブリオ

#### はじめに

厚生労働省の食中毒統計によると、広島県の食中毒事件数は、近年全国で最も多くなっている。その多くは一人の事例、いわゆる「散発下痢症」によるもので、2004(平成16)年には579件中541件、93.4%を占めている[1]。その病因物質は、細菌によるものが多く、全国(2004年)の散発事例においても678件中603件、88.9%を占めている[1]。また、1999年には、全国46都道府県に及んだ、乾燥イカ菓子を原因食品としたサルモネラ属菌によるdiffuse outbreak(潜在的集団発生)[2]も発生している。そのため散発下痢症を常時監視して、情報を収集・解析し、食中毒の拡大防止を講ずるシステムの構築が早急に望まれている。今回我々は、県内の細菌性下痢症の実態把握と、食中毒の発生予測および防止対策に資するため、県内の医療・検査機関で分離された大腸菌、サルモネラ属菌、カンピロバクターおよび腸炎ビブリオ

について疫学的検討を行ったので報告する。

#### 材料および方法

##### 1 供試株

県内の分離状況を調査するため2002年4月～2005年3月に県内5地区(広島, 呉, 尾三, 備北, 福山), 10ヶ所の医療・検査機関において患者便から分離された大腸菌(O抗原型別株)2,230株, サルモネラ属菌871株, カンピロバクター639株および腸炎ビブリオ129株の総計3,869株を収集して供試した。

##### 2 血清型別試験

供試株の血清型別は、それぞれ市販の診断用免疫血清(デンカ生研)を用いて実施した。

\*現食肉衛生検査所：Present Address, Hiroshima Prefectural Meat Sanitation Inspection Station

### 3 病原遺伝子の検索

大腸菌と腸炎ビブリオは、保有する病原遺伝子をPCR法で検出した。大腸菌は、腸管毒素原性大腸菌 (ETEC) の毒素遺伝子LT, ST (ヒト型STh, プタ型STp), 腸管侵入性大腸菌 (EIEC) の侵入因子遺伝子*invE*, *ipaH*, 腸管出血性大腸菌 (EHEC) のベロ毒素遺伝子VTおよび腸管病原性大腸菌 (EPEC) の局在性付着因子遺伝子*eaeA*の7種類である。腸炎ビブリオは、耐熱性溶血毒遺伝子*tdh*および耐熱性溶血毒類似毒遺伝子*trh*の2種類である。このうち*eaeA*の検索には、Patonら[3]のprimerをカスタム合成して使用した。その他はTaKaRaの特殊細菌検出用Primer Setを用いた。テンプレートDNAは、供試株を滅菌蒸留水に懸濁し、100°C, 10分間加熱して12,000rpm, 5分間遠心した上清を使用した。PCRの反応液組成およびDNAの増幅はTaKaRaの条件に従った。

### 4 薬剤感受性試験

カンピロバクターはセンシ・ディスク (BBL) を用いて1濃度ディスク法によりナリジクス酸 (NA) の薬剤感受性試験を実施した。

## 結 果

### 1 大腸菌の分離状況

#### 1) 血清型の推移

供試株の血清型は、型別不能 (UT) を除き43種に分類された。年次別では、2002年に30種, 2003年に40種, 2004年に35種, 2005年に25種が分離された。調査期間中, 10株以上が分離された26種の血清型を表1に示した。そのうち各年次に共通した血清型は16種であった。最も高頻度な血清型はO1 (738株; 33.1%) であった。次いでO18 (336株; 15.1%) の頻度が高く, この2血清型で48.2% (1,074/2,230株) を占めた。その他の血清型は年次間で格差がみられ, 2002年はO6, O111, O25, 2003年はO6, O25, O86a, 2004年はO6, O25, O15, 2005年はO25, O6, O86aの頻度が高かった。全体ではO1, O18, O6, O25, O86a, O15, O111, O153の8種が上位を占めた。

#### 2) 性別

患者の性別が確認できた2,221株 (99.6%) は, 男性が1,128株, 女性が1,093株と分離率 (1.03倍) に差は認められなかった。

#### 3) 年齢階級別分離状況

図1に年齢階級別の分離状況を示した。最も高頻度に分離されたのは0~4歳 (656株; 29.4%) であった。次いで5~9歳 (218株), 10~19歳 (193株) の頻度が高かったが, 5歳以上の階級間の分離頻度は平均142.1株, 標準偏差45.2と, 5歳未満と比べて低かった。

表1 散発下痢症患者から分離された大腸菌の年次別推移

血清型	2002年	2003年	2004年	2005年	合計
O1	46	210	411	71	738
O6	25	65	97	17	204
O8	6	18	20	2	46
O15	9	17	30	3	59
O18	31	112	157	36	336
O20		5	8	1	14
O25	11	47	81	21	160
O26		6	14	2	22
O27	1	3	5	1	10
O44		2	5	3	10
O55	3	4	6		13
O63	1	6	4		11
O78	3	6	6	1	16
O86a	7	24	29	9	69
O111	14	16	18	6	54
O119	3	5	7		15
O125	6	11	20	4	41
O126	5	16	13	5	39
O128	1	11	15	1	28
O153	8	16	22	5	51
O157		2	9		11
O159		6	6	2	14
O166	6	14	24		44
O167	1	11	4		16
O168	2	2	5	1	10
O169	3	13	13	3	32
その他	14	21	28	6	69
UT	6	40	41	11	98
合計	212	709	1,098	211	2,230

UT: 型別不能

#### 4) 病原遺伝子の検出状況

表2, 表3に病原遺伝子の検出状況を示した。病原遺伝子は5.8% (130/2,230株) から検出された。検出された遺伝子はLT, STh, STp, VTおよび*eaeA*の5種類で, それぞれを単独または複数で保有していた。その中で最も高頻度に検出されたのは*eaeA*で, 単独保有 (73株; 3.3%) が多かった。次いでSTp (26株; 1.2%), STh (16株; 0.7%), VT/*eaeA* (11株; 0.5%), LT (3株; 0.1%), LT/STh (1株; 0.04%) の順であった。*eaeA*単独保有株は全ての年齢階級から検出されたが, 20歳未満が60.3% (44/73株) を占めた。特に0~4歳 (26株) からの検出頻度が高かった。また, VTも20歳未満から検出され, いずれも*eaeA*との複数保有であった。一方, LT, SThおよびSTpは20歳以上の年齢層が71.7% (33/46株) を占めた。特に, STpは40歳以上からの検出頻度が高かった。

病原遺伝子保有株の血清型は, LTはO25とO167の2種から検出された。STのうちSThはO6, O15, O25, O78, O152, O153およびO159の7種から検出された。STpはO27, O159およびO169の3種から検出され, そのうちO169が76.9% (20/26株) を占めた。*eaeA*はUTを含めて

21種から検出され、そのうちO157, O128, O153, O26, O55, O119, O167, O63の8種が多かった。このうちO157は全てVTとの複数保有であった。また、最も高頻度に分離されたO1からは*eaeA*が検出されたが、保有率は0.3% (2/738株) と低かった。LTとSThの複数保有は、O6から検出された。

## 2 サルモネラ属菌の分離状況

### 1) 血清型の推移

表4に供試株の血清型を示した。年次別では、2002年に232株、2003年に343株、2004年に284株、2005年は調査

期間が短く12株が分離された。O群型は、型別不能(UT)を除き9種に分類された。そのうちO9群の分離頻度が最も高く66.0% (575/871株) を占めた。次いでO7群 (125株), O4群 (118株), O8群 (32株) の頻度が高かった。血清型は、型別不能(UT)を除き38種に分類された。最も高頻度な血清型は*S. Enteritidis* (SE) で、65.3% (569/871株) を占めた。次いで*S. Infantis* (48株), *S. Typhimurium* (41株), *S. Agona* (32株), *S. Thompson* (21株), *S. Saintpaul* (16株), *S. Virchow* (14株), *S. Litchfield* (13株) の7種の頻度が高かった。年次別では、2002年に18種、2003年に24種、2004年に24種、2005年に7種が分離された。

表2 病原遺伝子保有株の血清型

血清型	病原遺伝子						合計
	LT	STh	STp	<i>eaeA</i>	LT/STh	VT/ <i>eaeA</i>	
O1				2			2
O6		2		1	1		4
O15		3		1			4
O18				2			2
O20				2			2
O25	1	2		1			4
O26				8			8
O27			5				5
O55				8			8
O63				5			5
O78		1		1			2
O114				1			1
O115				3			3
O119				7			7
O126				1			1
O128				9			9
O142				2			2
O152		3					3
O153		2		9			11
O157						11	11
O159		3	1				4
O166				1			1
O167	2			7			9
O169			20				20
UT				2			2
合計	3	16	26	73	1	11	130

UT: 型別不能

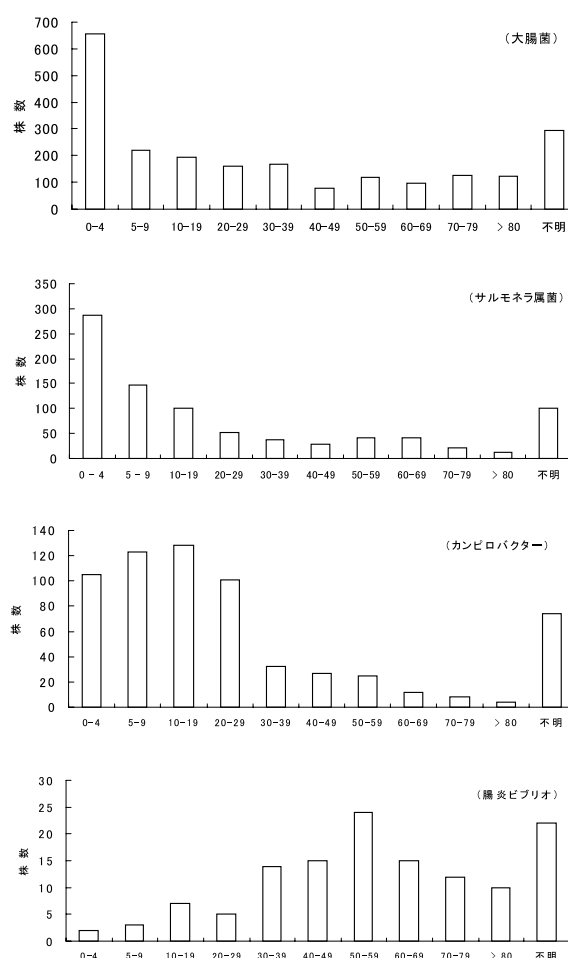


図1 年齢階級別分離状況

表3 病原遺伝子保有株の年齢階級別分離状況

病原遺伝子	年齢階級											合計
	0-4	5-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	>80	不明	
LT				1	1			1				3
STh	1		1	3	1	1	1	1	2		5	16
STp	1		1	3	1	4	5	3	4		4	26
<i>eaeA</i>	26	12	6	3	3	2	3	3	1	1	13	73
LT/STh					1							1
VT/ <i>eaeA</i>	1	4	6									11
合計	29	16	14	10	7	7	9	8	7	1	22	130

そのうち調査期間が短かった2005年を除いた年次に共通した血清型は9種と少なかった。各年次で最も高頻度な血清型はSEで、2002年は77.2% (179/232株)、2003年は67.6% (232/343株)、2004年は53.5% (152/284株)、2005年は50.0% (6/12株) を占めた。その他の血清型は年次間で格差がみられ、2002年は*S. Typhimurium*, *S. Agona*, *S. Infantis*, *S. Thompson*, *S. Bareilly*の5種、2003年は*S. Typhimurium*, *S. Agona*, *S. Saintpaul*, *S. Infantis*, *S. Thompson*, *S. Singapore*, *S. Newport*の7種、2004年は*S. Typhimurium*, *S. Agona*, *S. Saintpaul*, *S. Paratyphi B*, *S. Infantis*, *S. Thompson*, *S. Virchow*, *S. Bareilly*, *S. Montevideo*, *S. Litchfield*の10種の頻度が高く、このうち*S. Saintpaul*, *S. Virchow*および*S. Litchfield*の3種は、年次毎に増加傾向を示した。

2) 月別分離状況

図2に月別分離状況を示した。サルモネラ属菌は、年間を通じて分離され、5月頃から増加傾向を示した。最も高頻度に分離されたのは、2002年は9月(52株)、2003年は7月(51株)、2004年は8月(57株)であった。いずれも気温の高い季節に高頻度に分離され、その後、減少したが、急激な減少は認められず、12月～4月にも多くの株が分離された。

3) 性別

患者の性別が確認できた862株(99.0%)は、男性が441株、女性が421株と分離率(1.05倍)に差は認められなかった。

4) 年齢階級別分離状況

図1に年齢階級別の分離状況を示した。最も高頻度に分離されたのは0～4歳(287株;33.0%)であった。次いで5～9歳(149株)、10～19歳(100株)の頻度が高く、20歳未満が61.5%(536/871株)を占めた。一方、20歳以上の階級間の分離頻度は平均33.6株、標準偏差13.8と低かった。表5に年齢階級別の分離状況を示した。最も多様な血清型が分離されたのは5～9歳の22種であった。次いで0～4歳の21種、10～19歳の13種が多かった。全ての年齢階級から高頻度に分離されたのはSEであった。また、*S. Typhimurium*, *S. Agona*, *S. Thompson*および*S. Litchfield*の4種は幅広い年齢階級から分離された。

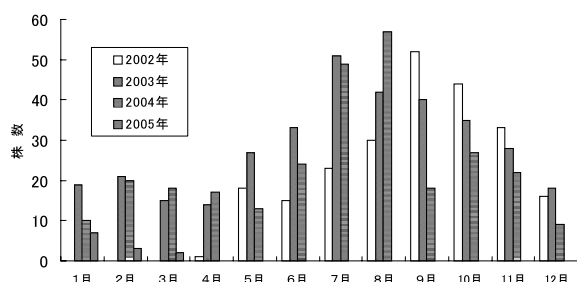


図2 サルモネラ属菌の年次別・月別分離状況

表4 散発下痢症患者から分離されたサルモネラ属菌の年次別推移

血清型	2002年	2003年	2004年	2005年	合計
O4群					(118)
<i>S. Typhimurium</i>	6	11	24		41
<i>S. Agona</i>	4	21	7		32
<i>S. Saintpaul</i>	1	7	8		16
<i>S. Paratyphi B</i>			7		7
<i>S. Stanley</i>	2	2	2		6
<i>S. Chester</i>		1	2		3
<i>S. Sandiego</i>	1		1		2
<i>S. Bredeney</i>		1			1
UT	1	4	5		10
O7群					(125)
<i>S. Infantis</i>	10	20	17	1	48
<i>S. Thompson</i>	9	6	5	1	21
<i>S. Virchow</i>		3	11		14
<i>S. Bareilly</i>	4	2	5		11
<i>S. Montevideo</i>		2	4		6
<i>S. Singapore</i>	1	5			6
<i>S. Ohio</i>			3		3
<i>S. Braenderup</i>	1	1			2
<i>S. Mikawasima</i>	1		1		2
<i>S. Daytona</i>			1		1
<i>S. Isangi</i>	1				1
<i>S. Oranienburg</i>	1				1
<i>S. Rissen</i>		1			1
<i>S. Tennessee</i>			1		1
UT		4	3		7
O8群					(32)
<i>S. Litchfield</i>		1	11	1	13
<i>S. Newport</i>	3	5	1	1	10
<i>S. Manhattan</i>	3			1	4
<i>S. Narashino</i>		1			1
UT		1	3		4
O9群					(575)
<i>S. Enteritidis</i>	179	232	152	6	569
<i>S. Javiana</i>		1	2		3
<i>S. Miyazaki</i>	1				1
UT		2			2
O3, 10群					(7)
<i>S. Anatum</i>		2	1		3
<i>S. London</i>			1		1
<i>S. Weltevreden</i>	1				1
<i>S. Zanzibar</i>			1		1
UT			1		1
O1, 3, 19群					(7)
<i>S. Senftenberg</i>		3	3		6
<i>S. Krefeld</i>		1			1
O13群					(3)
<i>S. Havana</i>		1			1
UT	2				2
O16群					(1)
<i>S. Hvittingfoss</i>				1	1
O21群					(1)
<i>S. Minnesota</i>		1			1
その他		1	1		(2)
合計	232	343	284	12	871

UT: 型別不能

表5 サルモネラ属菌の年齢階級別分離状況

血清型	年齢階級										不明	合計
	0-4	5-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	>80		
O4群												(118)
<i>S. Typhimurium</i>	12	8	6	2	1	1	3	2		1	5	41
<i>S. Agona</i>	14	6	4	1	1		1	2			3	32
<i>S. Saintpaul</i>	6	3	3					1			3	16
<i>S. Paratyphi B</i>	2	3	2									7
<i>S. Stanley</i>	3	1	2									6
<i>S. Chester</i>	1	1			1							3
<i>S. Sandiego</i>	1	1										2
<i>S. Bredeney</i>											1	1
UT	5	2		1		1					1	10
O7群												(125)
<i>S. Infantis</i>	28	4	3	3				1			9	48
<i>S. Thompson</i>	3	2	2	2	2			4	1		5	21
<i>S. Virchow</i>	3	4				2	1			2	2	14
<i>S. Bareilly</i>	3	5	1		2							11
<i>S. Montevideo</i>	1	1	1				1				2	6
<i>S. Singapore</i>	2	1									3	6
<i>S. Ohio</i>	2						1					3
<i>S. Braenderup</i>		1						1				2
<i>S. Mikawasima</i>									1		1	2
<i>S. Daytona</i>											1	1
<i>S. Isangi</i>				1								1
<i>S. Oranienburg</i>			1									1
<i>S. Rissen</i>											1	1
<i>S. Tennessee</i>		1										1
UT					2	1	2	1			1	7
O8群												(32)
<i>S. Lichfield</i>	4	1	3	2	2			1				13
<i>S. Newport</i>	1	1	1	1				1			5	10
<i>S. Manhattan</i>	2	1			1							4
<i>S. Narashino</i>	1											1
UT	1	1					1	1				4
O9群												(575)
<i>S. Enteritidis</i>	186	97	71	39	25	23	30	24	18	8	48	569
<i>S. Javiana</i>	1	2										3
<i>S. Miyazaki</i>											1	1
UT	1									1		2
O3, 10群												( 7)
<i>S. Anatum</i>	1							1			1	3
<i>S. London</i>		1										1
<i>S. Weltevreden</i>											1	1
<i>S. Zanzibar</i>							1					1
UT	1											1
O1, 3, 19群												( 7)
<i>S. Senftenberg</i>							1	1			4	6
<i>S. Krefeld</i>								1				1
O13群												( 3)
<i>S. Havana</i>											1	1
UT						1			1			2
O16群												( 1)
<i>S. Hvitvingfoss</i>		1										1
O21群												( 1)
<i>S. Minnesota</i>											1	1
その他	2											( 2)
合計	287	149	100	52	37	29	42	42	21	12	100	871

UT：型別不能

20歳未満からはS. Saintpaul, S. Paratyphi B, S. Stanley, S. Infantis, S. Virchow, S. Bareilly, S. MontevideoおよびS. Newportの8種が高頻度であった。

### 3 カンピロバクターの分離状況

#### 1) 血清型の推移

供試株は*C. jejuni*と*C. coli*の2菌種に分類された。そのうち*C. jejuni*が93.1% (595/639株) を占め、*C. coli* (44株) は少なかった。*C. jejuni*の血清型 (Penner型) は型別不能 (UT) を除き25種に分類された。殆どが単味型であったが、J/L, B/Z, B/Z5の複合型も検出された。年次別では、2002年に13種、2003年に22種、2004年に17種、2005年に9種が分離された。分離頻度の高かった13種の血清型を表6に示した。そのうち各年次に共通した血清型は8種であった。最も高頻度な血清型はB群 (147株; 24.7%) であった。次いでD群 (66株; 11.1%) が多く、この2種で35.8%を占めた。その他の血清型は年次間で格差がみられ、2002年はL群, R群, 2003年はO群, A群, Y群, 2004年はA群, Y群, O群, 2005年はR群, O群の頻度が高かった。全体ではB群, D群, O群, A群, Y群の5種が上位を占めた。

#### 2) 性別

患者の性別が確認できた638株 (99.8%) は、男性が382株、女性が256株と分離率 (1.49倍) に差を有し、男性からの分離頻度が高かった。

#### 3) 年齢階級別分離状況

図1に年齢階級別の分離状況を示した。最も高頻度に分離されたのは10~19歳 (128株; 20.0%) であった。次いで、5~9歳 (123株), 0~4歳 (105株), 20~29歳 (101株) の頻度が高く、30歳未満が71.5% (457株) を占めた。一方、30歳以上の階級間の分離頻度は平均18.0株、標準偏差11.5と低く、また、年齢階級の上昇と共に低下した。

#### 4) 薬剤感受性

図3に10株以上が分離された*C. jejuni*の血清型と*C. coli*のNAに対する薬剤感受性を示した。供試株の43.7% (279/639株) がNAに耐性を示した。菌種別では*C. jejuni*の42.4% (252/595株), *C. coli*の61.4% (27/44株) が耐性を示した。また、*C. jejuni*はB群が最も耐性率 (68.7%; 101/147株) が多く、次いでL群 (50.0%; 6/12株), O群 (50.0%; 18/36株) が高かった。一方、R群 (20.0%; 4/20株), D群 (24.2%; 16/66株), Y群 (27.6%; 8/29株) の耐性率は低かった。

### 4 腸炎ビブリオの分離状況

#### 1) 血清型の推移

表7に供試株の血清型と病原遺伝子の検出状況を示した。血清型は15種に分類された。年次別では、2002年に

表6 散発下痢症患者から分離されたカンピロバクターの年次別推移

菌種	2002年	2003年	2004年	2005年	合計
<i>C. jejuni</i>	69	239	229	58	595
Penner型 A群	2	14	12	1	29
B群	13	41	86	7	147
C群	2	5	9	3	19
D群	5	28	22	11	66
E群		3	2		5
F群		3	2		5
G群	2	7	4		13
J群		8	2		10
L群	4	6	1	1	12
O群	2	20	9	5	36
R群	4	6	3	7	20
Y群	1	14	12	2	29
J, L群	2	3			5
その他	3	15	6	1	25
UT	29	66	59	20	174
<i>C. coli</i>	3	15	23	3	44
合計	72	254	252	61	639

UT: 型別不能

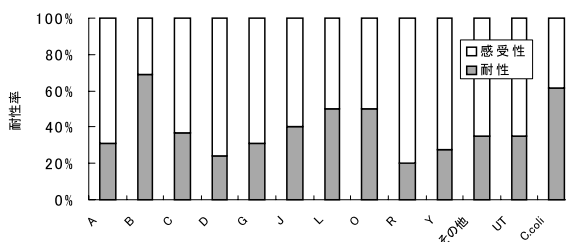


図3 カンピロバクターのナリジスル酸に対する感受性

5種、2003年に12種、2004年に8種、2005年に1種が分離された。そのうち、調査期間が短かった2005年を除いた年次に共通した血清型はO1:K25, O3:K6およびO4:K8の3種と少なく、年次毎に多彩な血清型が分離された。最も高頻度な血清型はO3:K6で、66.7% (86/129株) を占めた。年次別においてもO3:K6は2002年に62.5% (25/40株), 2003年に65.8% (25/38株), 2004年に72.0% (36/50株) を占めた。その他の血清型は年次間で格差がみられ、2002年はO4:K8, O1:K25, O4:K9, 2003年はO1:KUT, O4:K8, 2004年はO1:K25, O1:KUT, O5:K15, O4:K68の頻度が高かった。このうちO4:K8は、年次毎に減少した。また、O1:K25は毎年分離され、調査期間の短かった2005年にも1株が分離された。全体ではO3:K6, O1:K25, O4:K8, O1:KUT, O5:K15, O4:K68の6種が上位を占めた。

病原遺伝子は99.2% (128/129株) から検出された。検出された遺伝子は*tdh*と*trh*で、そのうち*tdh*の単独保有が95.3% (122/128株) を占めた。その他はいずれも*tdh*と*trh*の複数保有で、*trh*の単独保有は認められなかった。*tdh*単独保有株の血清型は12種で、そのうちO3:K6が最も多く、次いでO1:K25, O4:K8が多かった。*tdh*, *trh*複数保

有株の血清型はO1:K1, O1:KUT, O3:KUT, O5:K15の4種で, そのうちO1:KUTが多かった。また, O1:KUTとO5:K15には, *tdh*単独保有株と*tdh*, *trh*複数保有株が認められ, そのうち, O1:KUTは*tdh*, *trh*複数保有株が, O5:K15は*tdh*単独保有株が多かった。O4:K13からはいずれの遺伝子も検出されなかった。

2) 月別分離状況

図4に月別の分離状況を示した。各年次とも気温の高い7月~9月に急増した。最も高頻度に分離されたのは, 2002年は8月(22株), 2003年は9月(15株), 2004年は8月(39株)であった。各年次とも7月~9月の3ヶ月間に年間の84.2%(2003年;32/38株)~92.5%(2002年;37/40株)が分離され, 10月には激減した。しかし, 2003年, 2004年, 2005年には, 少数ではあるが気温の低い季節にも分離された。

3) 性別

患者の性別が確認できた128株(99.2%)は, 男性が66株, 女性が62株と分離率(1.06倍)に差は認められなかった。

4) 年齢階級別分離状況

図1に年齢階級別の分離状況を示した。最も高頻度に

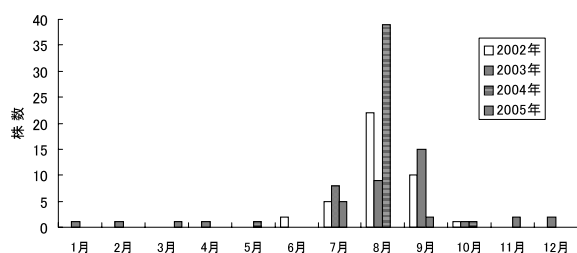


図4 腸炎ビブリオの年次別・月別分離状況

分離されたのは50~59歳(24株:18.6%)であった。次いで40~49歳(15株), 60~69歳(15株), 30~39歳(14株), 70~79歳(12株), 80歳以上(10株)の順に頻度が高く, 30歳以上が69.7%(90/129株)を占めた。一方, 30歳未満の階級間の分離頻度は平均4.25株, 標準偏差2.22と低かった。

考 察

食中毒は食品衛生法によって届け出が義務付けられている。しかし, 集団発生以外の散発例は, 全てが届け出られているわけではなく, 食中毒起因菌によって引き起こされる個々の下痢症患者は, 一般の診療の場では細菌性腸炎で処理されていることが多い[4]。厚生省(現厚生労働省)は, 1998(平成10)年の食中毒統計から, 食中毒事件を患者数全体の事例に加えて, 患者数2人以上の事例と患者数1人の事例に分けて掲載するようになった[5]。それにより1人事例の食中毒, いわゆる「散発事例」の発生状況, 病因物質, 原因食品などが明らかになったが, まだ全国的に散発事例の届け出は少なく, 実態を反映しているとは言えない。広島県においても, 今回の調査で, 散発事例を主に報告している広島市以外の地域の医療・検査機関から, 多くの食中毒起因菌が提供され, 診療の場では細菌性腸炎で処理されている散発事例が多いことが窺えた。

1 下痢原性大腸菌

調査対象とした食中毒起因菌のうち, 最も多くの菌株の提供を受けた大腸菌の血清型は, 市販されている診断用免疫血清の全てに一致する43種に及び, 県内には多彩

表7 散発下痢症患者から分離された腸炎ビブリオの年次別推移と病原遺伝子の検出状況

血清型	2002年	2003年	2004年	2005年	合計	病原遺伝子		
						<i>tdh</i>	<i>tdh/trh</i>	不検出
O1:K1		1			1		1	
O1:K25	5	1	3	1	10	10		
O1:KUT		2	3		5	2	3	
O2:KUT		1			1	1		
O3:K6	25	25	36		86	86		
O3:K29		1			1	1		
O3:KUT		1			1		1	
O4:K8	7	2	1		10	10		
O4:K9	2				2	2		
O4:K12			1		1	1		
O4:K13		1			1			1
O4:K68		1	2		3	3		
O5:K15		1	3		4	3	1	
O8:K21		1			1	1		
O9:K44	1		1		2	2		
合計	40	38	50	1	129	122	6	1

UT: 型別不能

な血清型が分布していた。上位8種の血清型はO1, O18, O6, O25, O86a, O15, O111, O153で、大谷ら[6], 石畝ら[7], 垣田ら[8], 西ら[9]の成績と類似した。病原遺伝子の保有率は5.8% (130/2,230株)と低く、今回検索した病原遺伝子によって下痢原性大腸菌と同定された大腸菌は非常に少なかった。特に最も高頻度に分離されたO1は、病原遺伝子の保有率が0.3%と低く、また、健康者からも多く分離されている[6, 10, 11]ことから、下痢症への関与は低かった。検出された病原遺伝子は、ETECのLT, STh, STp, EHECのVTおよびEPECの*eaeA*の5種で、EIECの*invE*と*ipaH*は検出されなかった。そのため県内では、下痢原性大腸菌のなかでもEPEC, EHECおよびEPECによる下痢症が多く、EIECによる下痢症は極めて少ないことが示唆された。また、最も高頻度に検出された病原遺伝子は*eaeA*であった。*eaeA*は腸管上皮細胞へのattaching and effacing (A/E傷害)に関与する遺伝子で、EPECの主要な病原因子である。EPECは開発途上国において、流行性乳幼児胃腸炎の重要な原因菌として知られている[12]が、今回の調査では、*eaeA*が5歳未満の乳幼児から高頻度に検出され、国内においても乳幼児下痢症の重要な病因物質と思われた。また、*eaeA*は多様な血清型が保有し、O26, O55, O63, O119, O128, O153およびO167の7種がEPECの主要な血清型であった。大谷ら[6]もO26, O55, O119, O128, O153をEPECとして留意すべき血清型として掲げ、我々の成績と一致していた。また、EHECのO157もすべて*eaeA*を保有していたが、倉本ら[13]は、ヒト由来のSTECのうち、患者由来株の全株が*eaeA*を保有していたのに対し、健康者由来株では27.3%しか*eaeA*を保有せず、患者由来株と明らかな差異が見られたことを報告している。今回の調査ではO157と共にVT保有率の高い血清型[14]として知られているO26, O111も多く分離されたが、いずれもVTを保有しておらず、*eaeA*との関係は分からなかった。EPECに次いで多かったETECは、ST (STh, STp) 保有が多く、県内のETEC下痢症は、ST保有株によるものが多いことが判明した。また、ETECの血清型はO6, O15, O25, O27, O78, O152, O153, O159, O167およびO169の10種が認められ、いずれも既知血清型[15]が多かった。特にO169はSTp保有株の76.9%を占め、ETECの最も主要な血清型であった。さらに、ETECは20歳以上の成人層からの検出頻度が高く、20歳未満の若年層からの検出頻度が高かったEPECおよびEHECとは患者の年齢層が異なった。伊藤ら[16]もST産生株のETECが分離された7人中5人(71.4%)は、17~41歳までの年齢層であったことを報告している。これは、感染した原因食品の違いを示唆しており、若年層と成人層の嗜好するそれぞれの食品の調査が必要であった。また、著者らは2004年に、今回供試した菌株の約半数(1,120株; 50.2%)について、腸管凝集接着性

大腸菌(EA<sub>g</sub>EC)の病原性に関与する遺伝子*aggR*, *astA*の保有状況を検討しているが、*aggR*を6.3%, *astA*を9.4%から検出し、*aggR*はO86a, O111, O126の3種が、*astA*はO6, O18, O153, O126の4種が主要な保有血清型であることを報告している[17]。今回の調査でも、これらの血清型が多く分離されており、今後、これらの病原遺伝子の検査も必要であった。

## 2 サルモネラ属菌

わが国のサルモネラ属菌による食中毒は、近年、事件数、患者数共に減少傾向にある[18]。しかし、依然として細菌性食中毒の主要な病因物質であり、1989年以降それまで多かった*S. Typhimurium*に代ってSEが第1位となり、2002年は62%を占めている[18]。野田ら[19]は、2000年まではサルモネラ属菌による散発下痢症は増加傾向にあったが、2001年にはSEの大幅な減少により、前年の半数以下に減少したことを報告し、食品衛生法施行規則等の改正(鶏の卵の表示基準、液卵の規格基準等)や、SE不活化ワクチンの使用などの効果が徐々に現れているのか、今後の動向に注意する必要があると指摘している。今回の調査では、2002年に232株、2003年に343株、2004年に284株が分離され、県内ではまだ多くのサルモネラ下痢症が発生していることが判明した。その血清型は38種に及んだが、2002年~2004年の年次間に共通した血清型は9種と少なく、血清型の多彩化傾向が認められた。また、各年次ともSEが最も高頻度で、全体の65.3%を占め、依然として県内ではSEによる下痢症が多かったが、年次別の分離率には減少傾向が認められた。それに次ぐ血清型は*S. Infantis*, *S. Typhimurium*, *S. Agona*, *S. Thompson*, *S. Saintpaul*の頻度が高かったが、SE比べて1/10以下であった。このうち*S. Saintpaul*は、1997年以降に多く分離されるようになった血清型[20]で、2001年には滋賀県[21]、2002年には岐阜県[22]で食中毒事例も報告されている。また、Hataら[23]は愛知県で1999年以降に分離された*S. Saintpaul*の殆どが同年以降に新たに生じたクローン由来であることを報告している。県内においても2002年に1株、2003年に7株、2004年に8株と増加傾向が認められ、O4群の上位3種の血清型に入っている。また、県内では、*S. Saintpaul*と同様に*S. Virchow*と*S. Litchfield*の2種が増加傾向を示した。特に2004年にはこの2種は、急激に分離株数が増加したことから、一時的な汚染食品の流通による増加なのか、今後この3種の動向に注目する必要がある。

月別では、7月~9月をピークに分離頻度は減少したが、急激な減少は認められず、12月~4月においてもかなりの菌株が分離され、気温の高い季節以外にも食品の取扱いには十分な注意が必要と考えられる。

サルモネラ属菌は20歳未満から61.5%が分離され、特



に乳幼児（0～4歳；33.0%）からの頻度が高かった。また、多彩な血清型が分離され、食品以外の多様な感染源の存在も示唆された。年齢別にみた血清型では、SE, S. Typhimurium, S. Agona, S. ThompsonおよびS. Litchfieldの5種は広い年齢層から、S. Saintpaul, S. Paratyphi B, S. Stanley, S. Infantis, S. Virchow, S. Bareilly, S. MontevideoおよびS. Newportの8種は20歳未満の年齢層からの分離頻度が高く、これら13種の感染源を早急に究明し、感染防止対策を講じることで、多くのサルモネラ下痢症を防止できると推察された。また、S. Newportは、近年、米国で多剤耐性株がヒトと家畜から分離されている血清型[24]で、石畝ら[25]は2003年に福井県で発生した事例から*bla<sub>CMY</sub>*遺伝子[24]を保有する多剤耐性S. Newportを分離している。サルモネラ属菌の多剤耐性化については、これまでも欧米で問題になっているS. Typhimurium (DT104) やその関連型が1986年から国内でも分離され[18]、また、近年ではフルオロキノロン耐性のS. Typhimurium [26, 27]が分離されるなど、今後も多剤耐性化したサルモネラ属菌の増加が懸念されている。そのため、県内においても、早急なサルモネラ属菌のサーベイランス体制の整備とサルモネラ症の感染防止対策が必要と思われる。

### 3 カンピロバクター

カンピロバクターは近年、散发事例では最も分離頻度の高い病因物質となっている[1, 28, 29]。各施設から提供された菌株は、*C. jejuni*が93.1%を占め、*C. coli*は非常に少なかった。この分離状況は地研・保健所集計（97%[30]）、山中ら（85.7%[31]）、谷ら（95.7%[32]）の成績と類似するもので、県内においても*C. coli*による下痢症は少ないことが判明した。また、カンピロバクターは、男性からの分離頻度が高く（男/女比：1.49倍）、今回調査した他の菌種（大腸菌1.03倍、サルモネラ属菌1.05倍、腸炎ビブリオ1.06倍）と比べて明らかに男女差が認められた。都市立伝染病院の集計[30]や山中ら[31]の報告においても同様に患者は男性が多かったことから、男性と女性ではカンピロバクターに対する感受性の違いが示唆された。

*C. jejuni*の血清型は25種に分類され、そのうちB群、D群、O群、A群、Y群が上位5種を占めた。特にB群とD群は毎年高頻度に分離された。このうちB群は、香川県[31]、徳島県[32]の調査においても同様に最も高頻度で、Y群も上位の血清型に入っている。しかしD群とO群は、本県と比べて分離頻度は低く、四国地域とは血清型の頻度に格差がみられた。また、*C. jejuni*はギラン・バレー症候群（GBS）の先行感染の病原体として注目されており、わが国ではPennerの血清群O19が多いが、諸外国では多くの血清群が検出されている[33]。今回の調査に

においても*C. jejuni*の血清型は25種に及び、本県においても*C. jejuni*腸炎後GBSの発生が懸念された。しかし、県内の医療・検査機関では*C. jejuni*の血清型別は実施されておらず、GBSとの関係は把握されていない。今後、血清型との関係の調査が必要と考えられる。

カンピロバクターが分離された年齢層は、30歳未満が71.5%を占めた。特に10～19歳の年齢階級から最も高頻度（20.0%）に分離され、前述の大腸菌（0～4歳）やサルモネラ属菌（0～4歳）とは患者の年齢層がやや高かった。しかし、都市立伝染病院の集計[30]や山中ら[31]、谷ら[32]の報告では、散发下痢症からの分離頻度は小児が高く、今回の調査結果と一致しなかった。そのため本県におけるカンピロバクターの罹患率が、他県と比べて小児よりも学童期以上の年齢層に高いのか、今後の動向調査と更に詳しい解析が必要であった。

カンピロバクター腸炎の治療には、マクロライド系薬剤[34]やエリスロマイシン、ニューキノロン系薬剤[35]が使用されているが、近年、ニューキノロン系薬剤[36]や*C. jejuni/coli*の同定検査のひとつでもあるNA[37]に対する耐性株の増加が問題となっている。今回の調査では、NAの感受性について検討したが、*C. jejuni*の42.4%、*C. coli*の61.4%の耐性化が認められた。川村ら[37]も*C. jejuni*の44%にNA耐性を認めており、我々の成績と一致するもので、県内分離株の高耐性化傾向が窺えた。また、*C. jejuni*は血清型によって耐性率が異なり、B群、L群、O群は、耐性率が50%以上の高耐性群であったのに対し、R群、D群、Y群は、30%以下の低耐性群であった。Gootzら[38]は、*in vitro*での実験で*C. jejuni*のNA耐性菌がciprofloxacin, norfloxacin, temafloxacinに交差耐性を示したことを報告している。そのため、NA耐性株の増加は、ニューキノロン系薬剤による治療に大きな影響を及ぼすことが懸念され、今後の耐性株の動向に注意する必要がある。

### 4 腸炎ビブリオ

腸炎ビブリオによる食中毒は1996（平成8）年以降、O3:K6の急増により増加傾向にあったが、食中毒統計によると1998年に839件（内、1人の事例；327件）、2001年に307件（同、123件）、2003年に108件（同、32件）と近年減少傾向にある。池田ら[39]も平成12年以降、急激に減少し、平成15年には平成9年～11年の10分の1程度まで減少したと報告している。その要因として、それまで圧倒的多数を占めていたO3:K6の減少を指摘している。今回の調査では、129株の腸炎ビブリオが分離され、調査期間の短かった2005年を除いた年次推移は、2002年に40株、2003年に38株、2004年に50株と、ここ数年、県内の分離株数に大きな変化は認められなかった。また、血清型は15種が検出されたが、各年次に共通した血清型は

O1:K25, O3:K6およびO4:K8の3種と少なく、血清型の多彩化傾向がみられた。そのうち1996年以降、高頻度に分離されているO3:K6[40]が、県内散发事例でも2002年に62.5%, 2003年に65.8%, 2004年に72%を占め、依然として優勢を保っていた。O3:K6に次いで、O4:K8の分離頻度が高かったが、年次別では減少傾向にあった。また、O4:K8と同数が分離されたO1:K25は、唯一、毎年分離された血清型で、他の血清型の推移と比べると増加傾向に思われた。池田ら[39]もO3:K6が減少する一方で、O1:K25の増加傾向を指摘しており、今後の動向に注意する必要がある。その他の血清型では、1998年に初めて分離された新血清型のO4:K68[41]は、当施設においても1998年に食中毒事例から分離されている[42]が、今回の調査においても2003年に1株、2004年に2株と分離株数は少ないが、依然として県内での患者発生が確認された。

月別では、年次によってピークの月は異なったが、各年次とも7月～9月の夏季に急増する腸炎ビブリオ特有の季節的偏りを示し、10月には激減した。しかし、気温の低い季節にも分離され、年間を通じた汚染食品の存在が示唆された。尾畑ら[43]は、冬季の発生について、「さざえの浅漬け」[43]や「輸入タイラギ貝」[44]による食中毒事例から、輸入魚介類を原因とする腸炎ビブリオ食中毒の危険性を指摘している。そのため、県内においても輸入魚介類や冷凍魚介類の調査が必要と思われた。

腸炎ビブリオが分離された年齢層は、30歳以上が69.8%を占めた。特に50～59歳の年齢階級から高頻度(18.6%)に分離され、今回調査した4種の食中毒起因菌の中では最も患者の年齢層が高かった。これは腸炎ビブリオ食中毒が、魚介類からの感染によるもので、刺身などを好んで喫食する成人層の食生活を良く反映していた。

分離株から検出された病原遺伝子は*tdh*と*trh*で、*tdh*単独保有株が95.3%を占めた。最も高頻度に分離されたO3:K6はいずれも*tdh*単独保有で、*trh*保有株[45]は認められなかった。また、増加傾向がみられたO1:K25も全て*tdh*単独保有であった。*tdh*と*trh*の複数保有株は4種の血清型に認められたが、そのうちO1:KUTとO5:K15の2種には*tdh*単独保有株も認められ、血清型別のみによる病原因子の保有推定はできないことが判明した。また、病原遺伝子が検出されなかったO4:K13については、腸炎ビブリオ食中毒患者からは複数の血清型が分離されることがあり、今回の患者においても複数の菌株検査を行えば、病原遺伝子保有株の検出が可能であったと思われた。腸炎ビブリオは、他の食中毒起因菌に比べて食中毒発生の季節的予測がし易い菌であるが、刑部ら[46]は腸炎ビブリオ食中毒発生の年次変動は、気温、海水温および降水量には明確な差は認められず、魚の汚染度につい

ても大きな差が認められなかったことを報告している。腸炎ビブリオ食中毒の多発予測は、その防止対策に大きな役割を果たすと推察され、今後、より指標度の高い発生要因の解析が必要と思われた。

## 謝 辞

本研究のため貴重な菌株を提供して下さいました県立広島病院、広島市医師会臨床検査センター、呉市医師会病院臨床検査センター、三原市医師会病院、三原赤十字病院、尾道市立市民病院、国立福山病院(現、福山医療センター)、福山市医師会総合健診センター、市立三次中央病院、三次地区医師会臨床検査センターの諸先生方に感謝致します。

## 参 考 文 献

- [1] 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課 (2005): 食品衛生研究. 55(9), 78-164.
- [2] 対馬典子, 他 (2000): 日本食微学誌. 17, 225-234.
- [3] Paton, A. W., et al. (1998): J. Clin. Microbiol.. 36, 598-602.
- [4] 松原義雄 (1991): 臨床と微生物. 18, 523-527.
- [5] 厚生省生活衛生局食品保健課 (2000): 平成10年食中毒統計.
- [6] 大谷勝実, 他 (2000): 山形衛研所報. 33, 51-55.
- [7] 石畝史, 他 (2002): 感染症誌. 76, 730-737.
- [8] 垣田雅史, 他 (2002): 神奈川衛研報. 32, 71-74.
- [9] 西順一郎, 他 (1999): 感染症誌. 73, 1104-1109.
- [10] 木村晋亮, 他 (1999): 感染症誌. 73, 53-61.
- [11] 成松浩志, 他 (2004): 大分衛環研セ報. 30, 47-52.
- [12] 坂崎利一編 (2000): 新訂食水系感染症と細菌性食中毒. 中央法規出版, 東京.
- [13] 倉本早苗, 他 (2001): 石川保環研報. 38, 14-18.
- [14] 田村和満, 他 (2000): 病原微生物検出情報. 21, 94.
- [15] 坂崎利一, 他 (1992): 腸内細菌・下, 近代出版, 東京.
- [16] 伊藤亜紀子, 他 (1997): 仙台市衛研報. 27, 71-72.
- [17] 竹田義弘, 他 (2004): 広島保環セ報. 12, 21-27.
- [18] 国立感染症研究所 (2003): 病原微生物検出情報. 24, 179-180.
- [19] 野田裕之, 他 (2001): 山梨衛公研年報. 45, 34-39.
- [20] 国立感染症研究所 (2000): 病原微生物検出情報. 21, 162-163.

- [21] 児玉弘美, 他 (2002): 病原微生物検出情報. 23, 65-66.
- [22] 板垣道代, 他 (2003): 病原微生物検出情報. 24, 182-183.
- [23] Hata, M., et al. (2003): Jpn. J. Infect. Dis.. 56, 77-79.
- [24] Zhao S., et al. (2003): J. Clin. Microbiol.. 41, 5366-5371.
- [25] 石畝史, 他 (2004): 感染症誌. 78, 989-990.
- [26] 泉谷秀昌, 他 (2003): 病原微生物検出情報. 24, 181.
- [27] 倉園貴至, 他 (2003): 病原微生物検出情報. 24, 181-182.
- [28] 厚生労働省医薬局食品保健部監視安全課 (2003): 食品衛生研究. 53(9), 65-148.
- [29] 厚生労働省医薬局食品保健部監視安全課 (2004): 食品衛生研究. 54(9), 61-144.
- [30] 国立感染症研究所 (1999): 病原微生物検出情報. 20, 107-108.
- [31] 山中康代, 他 (2000): 香川衛研報. 28, 34-37.
- [32] 谷好史, 他 (2004): 徳島保環七年報. 22, 1-4.
- [33] 伊藤武 (1999): 病原微生物検出情報. 20, 111-112.
- [34] 村田三紗子 (2000): 臨床と微生物. 27, 527-531.
- [35] 三澤尚明 (2005): モダンメディア. 51, 45-52.
- [36] 只野敬子, 他 (1996): 感染症誌. 70, 1227-1233.
- [37] 川村千鶴子, 他 (1996): 医学検査. 45, 1242-1246.
- [38] Gootz T. D., et al. (1991): Antimicrob. Agents Chemotherapy. 35, 840-845.
- [39] 池田辰也, 他 (2004): 山形衛研所報. 37, 42-45.
- [40] 国立感染症研究所 (1999): 病原微生物検出情報. 20, 159-160.
- [41] 尾畑浩魅, 他 (1999): 病原微生物検出情報. 20, 167.
- [42] 竹田義弘, 他 (2000): 広島保環七報. 8, 15-20.
- [43] 尾畑浩魅, 他 (2001): 感染症誌. 75, 485-489.
- [44] 石橋正憲, 他 (1999): 病原微生物検出情報. 20, 272.
- [45] 池田嘉子, 他 (1997): 福岡市保環研報. 22, 119-121.
- [46] 刑部陽宅, 他 (2004): 富山衛研年報. 27, 124-128.