

## 〔 研究 〕

## 県下で最初に分離した腸管出血性大腸菌O-157H-7の一症例

前橋赤十字病院検査部

林 繁樹 金井 洋之 横堀 弥生  
佐藤 春枝 石井 秀和

## 1. はじめに

現在までに報告されている下痢を起こす大腸菌は、病原大腸菌 enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC)、細胞侵入性大腸菌 enteroinvasive *E. coli* (EIEC)、毒素原性大腸菌 enterotoxigenic *E. coli* (ETEC)、及び腸管出血性大腸菌 enterohaemorrhagic *E. coli* (EHEC)の少なくとも4種類がある。

今回私達は、EHEC O-157 H-7に感染した、一症例を経験したので報告する。

## 2. O-157 H-7の概説

記憶に新しいところであるが、1990年10月11日頃から、埼玉県浦和市の私立某幼稚園で園児に下痢症状がみられ、患者数251名(園児133名)、入院者数48名(園児38名)、死亡者数2名(園児2名)を数え、患者の糞便より、EHEC O-157H-7が分離され、下痢、粘血便、激しい腹痛等の主症状、及び一部の患者に溶血性尿毒症症候群(hemolytic, uremic, syndrome:HUS)等の臨床的特徴がみられたことから、同型菌が集団発生の原因菌と考えられた。

埼玉県では、行政対応として、衛生部長を本部長とする埼玉県「某幼稚園」集団下痢症患者発生対策委員会を設置し、いろいろな角度から対策を講じ、また厚生省でも、わが国では報告が少ないO-157 H-7が分離され、園児2名が死

亡したという事件の社会的重大性を重視し、専門家会議を開催し対策を講じた。一方、外国においては表1に示すように、カナダでは1982年以来、多数の同型菌を検出しており、1989年までの7年間で死亡者は26名を数え、発生場所はOntarioが最も多く、全年令層に認められるが、概して高齢者に発生頻度が高く、養老院等で多くの発生をみている。EHECの感染病像は出血性大腸炎のみならず、HUSも原因となっており、さらにHUSにより二次的に血栓性血小板減少性紫斑病(thrombotic, thrombocytopenic, purpura:TTP)も発症することがある。血小板の減少する理由としては、第Ⅷ因子は抗凝固活性のある低分子の分画と、第Ⅷ因子関連抗原として知られる高分子の分画とからなり、第Ⅷ因子関連抗原は内皮細胞で合成されるが、HUSではVero毒素(表2性状)作用により、その合成に異常が起こり、出現した異常の第Ⅷ異常関連抗原が血小板を凝結させる結果として、血小板減少が生じると考えられている。HUSやTTPの誘因としては、ウイルス性あるいわ、細菌性の感染を含む多くのものが提唱されてきたが、1983年カナダにて発生した患者のEHECよりVero毒素の検出に成功し、Vero毒素とHUSの関連が大きくクローズアップされた。EHECはETECのようにエンテロトキシンは産生せず、また、EIECのような細胞侵入性もない。しかし、Vero細胞に細胞毒性のある外毒素を産生する。

出血性大腸炎及び、HUSを発症する大腸菌

表1 カナダ, 米国, 英国におけるEH EC O-157:H7による集団発生

No.	発生年月	発生場所	患者数	HUS	死者数	原因食品
1	1982 11	Ontario, 養老院	31		—	牛肉(ハンバーガー)
2	1983 5	Labrador, 一般住民	19		—	不明
3	8	Alberta, 家庭	4	2	—	ハンバーガー
4	1984 3	Ontario, 養老院	7		—	不明
5	1985 8	Ontario, 家庭	5	5	—	不明
6	9	Ontario, 養老院	73	12	17	サンドイッチ
7	1986 4	Ontario, 旅行(学校)	30	3	—	生牛乳
8	6	Alberta, 養老院	8	2	2	不明
9	6	Ontario, 養老院	2		—	不明
10	7	B.C., 一般住民	20		—	不明
11	12	Ontario, 飲食店?	4		—	不明
12	1987 5~6	Ontario, 一般住民	13	2	—	不明
13	6	Alberta, 養老院	15		2	牛肉
14	1~10	Alberta, 一般住民	139	4	2	不明
15	7	Ontario, 養老院	6		—	不明
16	7	Ontario, キャンプ(女子)	9		—	不明
17	5~10	Quebec, 一般住民	120	4	—	不明
18	8	Ontario, 養老院	9		2	ヒト?
19	11~12	British Columbia, 家庭	4		—	牛肉
20	1989 8~9	Ontario, 養老院	11	1	1	不明
21	1982 2~3	Oregon, 一般住民	26		—	ハンバーガー
22	5~6	Michigan, 一般住民	21		—	ハンバーガー
23	1984 9	Nebraska, 養老院	34		4	ハンバーガー
24	9~10	North Carolina, Day-care center	36	3	—	不明
25	1986 10~11	Washington, 飲食店	37	3	2	牛肉
26	1985 6	East-Anglia, 一般住民	47		1	市販調理ポテト

HUS:溶血性尿毒症症候群, No.1 20:カナダ, No.21 25:米国, No.26:英国  
(メデイヤサークル VoL.36 No.5(1991.5)伊藤 武, 他 資料より)

表2 Vero毒素の性状

	志賀毒素	VT1(SLT-I)	VT2(SLT-II)	VT2vp	VT2vh
分子量	70,000	70,000	46,000		
Aサブユニット	32,000	32,000	35,000	33,000	35,000
Bサブユニット	7,000	7,700	10,700	7,500	10,000
等電点	7.0	7.0	4.1		6.1
抗血清による中和					
抗志賀毒素	Yes	Yes	No	No	No
抗VT2	No	No	Yes	Yes	Yes
Aサブユニットの活性部位	Glu167	Glu167	Glu167	ND	ND
Bサブユニットのレセプター	Gb3	Gb3	Gb3	Gb4	ND
生物活性					
細胞毒					
Vero細胞(50%変性)	+(0.5pg)	+(6pg)	+	+(0.5pg)	+(6PG)
家兔結さつ腸管反応(/ループ)	+(1 g)	+(1.25 g)	+	+(1ml/om/75 g)	+
マウス致死毒素性(LD /マウス)	+(27ng)	+(30ng)	+(1ng)	+(0.9pg)	+(2.7ng)
毒素遺伝子	染色体DNA	ファージDNA	ファージDNA	染色体DNA	ND

Gb3:Globotriosyl ceramide, Gb4:globotetraosyl ceramide, Glu:Glutamic acid  
(メデイヤサークル VoL.36 No.5 (1991.5)伊藤 武, 他 資料より)

はVero毒素1及びVero毒素2の2種類のいずれか一方、または両方を産生する。したがってEHECが検出されたならば、Vero毒素産生の有無をいち早く測定することが肝要であると考えられる。しかし、Vero毒素産生試験は被検菌を鉄イオンを除いた毒素産生培地に移植し、37℃ 48時間培養し、遺伝子がつ情報が発現させ、産生された毒素を検出するため、培養液を濾過し、その濾液をVero細胞（アフリカミドリザルの腎細胞）に作用させて細胞変性を起こすか否か、観察する方法があるが、結果を出すまでにかかなりの時間がかかり、細胞の入手等も困難なので、一般病院では測定するのは大変難しい。当院でもVero毒素産生検査は県衛生公害研究所に依頼し、その存在を確認した。最近では繁雑である細胞変性法(CPE)に替えて、それを制御している毒素遺伝子そのものを検索する方法(polymerasechain reaction:PCR)を利用したVero毒素遺伝子検出の新しいDNA診断法も確立されているようである。

### 3. 症 例

症 例：7才 女性

主 訴：血便 下痢 脱水

現病歴：平成3年6月1日から時々腹痛あり。

5～6回下痢。

6月2日 2回下痢があり夜間腹痛あり。家人を起こす。

6月3日 本人から、医院に行きたいと言い出し当番医の某小児科医院を受診、帰宅し処方薬を内服後、1回嘔吐。某小児科で、嘔吐したら外科にいくように言われたため当院外科を受診し外科にて腹部X-P及び採血を施行したが、外科的でないとのことで小児科受診し、入院となる。

来院時現症：嘔吐 下痢 脱水

検査内容：6月3日（入院時）より6月10日

（退院時）までの検査結果を表3、表4、表5

表3 検査結果

	3日	6日	7日	10日
白血球 (/mm <sup>3</sup> )	9,600		6,600	4,400
赤血球 (/mm <sup>3</sup> )	488万		459万	462万
H b (g/dl)	14.0		12.7	12.6
H t (%)	41		39	40
血小板 (/mm <sup>3</sup> )	24万		22万	31万
P T (秒)			10.6	
A P T T(秒)			26.6	
Ca再加(秒)			133.7	
T.T (%)			80	
血中FDP(μg/dl)			5	
尿中FDP(μg/dl)			0.25	
CRP (mg/DL)	0.7	<0.3		<0.3
HBS抗原	陰 性			
T P (g/dl)	6.3	5.9		6.4
Alb (%) (g/dl)	61.8 4.1	3.9		4.2
α <sub>1</sub> G (%)	4.1			
α <sub>2</sub> G (%)	11.5			
β-G (%)	8.7			
γ-G (%)	13.9			
Na (mEq/l)	133	137		138
K (mEq/l)	4.1	4.4		4.2
Cl (mEq/l)	96	100		101
Ca (mEq/l)	5.0			
P (mg/dl)	4.1			
GOT (IU)	16			20
GPT (IU)	7			12
LDH (IU)				305
BUN (mg/dl)	4	5		4
CRE (mg/dl)	0.6	0.6		0.7

表4 検査結果

	3日	4日	5日	6日	7日	8日	9日	10日
便潜血	+	+	+	+	+	-	-	-
便培養	+	+	-	-	-	-	-	-

に示す。

### 4. 糞便培養及び同定検査

分離培養検査には血液寒天培地、スキロー寒天培地、TCBS寒天培地、SS寒天培地、マッコッキー・ソルビトール寒天培地、DHL寒天培地、BTB寒天培地、ラバポート増菌培地を用いた。24時間培養後の肉眼的観察では、腸球菌、大腸菌及び、CNSのみで起炎菌と思われる

表5 検査結果

	7 日	8 日	10 日
尿定性			
PH	7	7	7
PRO	—	—	—
GLU	NOR	NOR	NOR
ASC	+	+	+
BLD	?	?	?
KET	—	—	—
URO	NOR	NOR	NOR
BiL	—	—	—
NiT	—	—	—
尿沈渣			
赤血球	1/1	2-3/1	2-3/1
白血球	2-3/5	1-2/5	1/5
小円形上皮	—	—	—
扁平上皮	+	+	+
円柱	—	—	—
細菌	+	—	—
East-like	—	—	—

るものは確認できなかった。ただ、マッコンキーソルビトール寒天培地にソルビトール非分解菌が確認されたので、病原大腸菌を疑い、ソルビトール非分解菌、及び分解菌をなるべく多く分離純培養し、同定及び、免疫血清型別判定を実施した。同定、型別判定により、E.coli O-157と確認され、Vero毒素産生の有無を調べるため、6月5日に県衛生公害研究所に検査依頼をし、Vero毒素産生菌であることを確認した。同定キットはIDテストEB20(日水)、O抗原、H抗原検出は病原大腸菌免疫血清(デンカ生研)を用いた。

## 5. まとめ

①今回の症例では臨床診断名は出血性大腸炎であったが、Vero毒素による溶血性尿毒症症候群(HUS)及び、血栓性血小板減少性紫斑病(TTP)を併発せず、8日間の入院で治癒した。二次的疾患を招かなかったのは、病原菌の早期検出と早期治療がなされたことは言うまでもない。病原大腸菌にいちやく着目したのも、マッコンキー・ソルビトール寒天培地を採用したのも、記憶に新しい埼玉県の事件が大きな誘引に

なったことは事実である。

②病原大腸菌の中ではEHEC、特にVero毒素産生菌が重要であり、中でもO-157 H-7はきわめて重要な菌である。Krishnan.Cら(1987)はO-157H-7とそれ以外の大腸菌の生化学的性状で、特にその差異を生じるものは、

生化学的性状 陽性率 (%)

	O-157 H-7	他の大腸菌
β-グルクロニダーゼ	0	96
ソルビトール	0	95
シュクロース	87	42

と報告している。当院での同定結果においても、ソルビトールは(—)であった。

当院での同定結果

H <sub>2</sub> S	ESC	PPA	IND	VP	CIT	LDC
—	—	—	+	—	—	+
ADH	ODC	ONPG	URE	MAL0	ADO	INO
—	+	+	—	—	—	—
RAFF	RHA	SOR	SUC	MAN	ARA	運動性
—	+	—	—	+	+	+

③病原大腸菌の免疫血清反応を実施していない施設もあるようである。その理由として免疫血清が高価なうえ、培地にはえた大腸菌をなるべく多く、釣菌する作業が繁雑で時間がかかること、またそれに伴って、同定キットの多量使用の経済的圧迫などが上げられる。しかし、根気強く検査することが望まれる。免疫血清の使用上の注意事項を例記すると、

- 混合血清に凝集するが単味血清に凝集しない場合は、血清型別はできない。(混合血清は一般大腸菌の交差凝集を吸収しないので、一般大腸菌が凝集することがある)
- 二つ以上の混合血清に凝集する場合は、一般大腸菌の可能性が高い。
- 生菌は凝集するが加熱菌が凝集しない場合は、その血清型としない。
- 血清型別はOだけでなく、H型別も行なう。

(e) H凝集試験には運動性の良い検体を使用する。

(f) OとHの型別が別紙の病原大腸菌の血清型に該当するか確認する。(OとHの組み合わせがことなる場合は病原大腸菌の血清型としない)

(g) 血清による型別はあくまでスクリーニングであり、生化学的同定も必ず行う。(C.freundiiは血清による型別がO-157に凝集することがある)

## 文 献

- |          |                   |               |
|----------|-------------------|---------------|
| 感染症      | Vol21.NO3.1991.5  | 工藤泰雄 他        |
| アスカニューズ  | 第012号             | 1991.1 坂崎利一 他 |
| メディヤサークル | Vol36.No5.1991.5  | 伊藤 武 他        |
| 臨床と微生物   | Vol12.No3.1985.7  | 竹田美文          |
| 日本の感染性腸炎 |                   | 小林一寛 他        |
| 臨床検査     | Vol135.No6.1991.6 | 嵩田雅光 他        |
| 臨床と微生物   | Vol1.18No4.1991.7 | 小林一寛          |
| 日本細菌学雑誌  | 46(1)1991 D-11-4  | 山崎伸二 他        |