

ベロ毒素産生性大腸菌の健常者由来株は 患者由来株よりベロ毒素産生能が低い

石川県予防医学協会

木村 晋亮 渡辺美佐子 小松原 彰

(平成 12 年 5 月 22 日受付)

(平成 12 年 7 月 13 日受理)

Key words : verotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC), verotoxin

[感染症誌 74 : 849~851, 2000]

1997 年 7 月以降、健常者糞便からのベロ毒素 (VT) 産生性大腸菌 (VTEC) 検出には、Beutin 血液寒天培地での溶血を指標としたスクリーニングによる検査を実施しているが、2000 年 3 月までに 54 株の VTEC を分離した。一方医療機関から依頼された患者下痢便からは、同期間中に 6 株の VTEC が分離された。これら 2 つの由来の異なる VTEC について、VT 産生性に差がないかどうかを、市販酵素免疫測定法 (EIA) キットを用いて比較した。

材料と方法

対象とした糞便検体：1997 年 7 月～2000 年 3 月に受付した健常者由来 193,378 検体、患者由来 3,434 検体を対象とした。

溶血を指標とするスクリーニング法：糞便をソルビトール加マッコンキー寒天培地に塗抹し、37℃1 夜培養後、大腸菌様コロニー数株を Beutin 血液寒天培地に穿刺し、37℃1 夜後の溶血株について VT 産生の確認を行う。VT 産生株については、VT 型別、大腸菌の確認同定、市販免疫血清による O 血清型別を行う¹⁾。分離した VTEC は、O : H 血清型別及び VT 型確認のため、石川県保健環境センターへ送付した。最終的な精査は国立

感染症研究所で行われた。

ベロ毒素の測定：マイクロウェルに固相化した VT1, VT2 に対するモノクローナル抗体で VT を捕捉するベロ毒素 EIA キット (Meridian Diagnostics, Inc. 製造, 市販名オーソ VT1/VT2, ノバパス EHEC) を使用した。測定はマニュアルに従って実施した。結果の判定は二重波長 (450/630 nm) による分光光度法により、陽性対照が > 0.500, 陰性対照が < 0.150 であることを確認した。

結果と考察

健常者糞便 36 検体から 54 株 (分離率 0.019%), 患者糞便 6 検体から 6 株 (0.175%) の VTEC を分離した。O 血清型の内訳は、健常者由来株は、O 26 (10 株), O36 (2 株), O55 (2 株), O91 (26 株), O103 (1 株), O128 (5 株), O146 (1 株), O157 (5 株), O160 (1 株), Rough (1 株)、患者由来株は、O26 (3 株), O157 (3 株) であった。VT 型は、前者が 1 型 46 株, 2 型 3 株, 1 & 2 型 5 株, 後者は 1 型 3 株, 1 & 2 型 3 株であった。

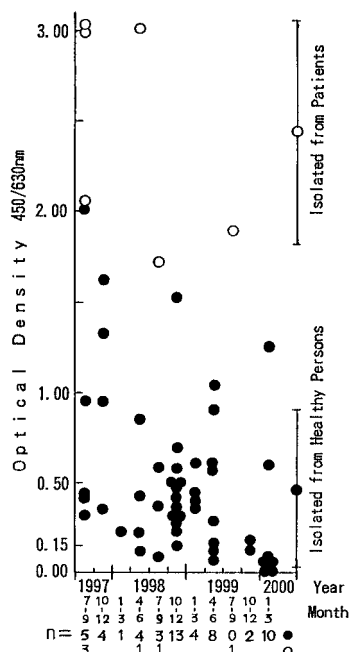
これら 60 株の EIA キットでの OD 値の分布を分離された年季別に Fig. 1 に示した。測定回数は 39 回, 陽性対照の平均は 1.43 ± 0.39 , 陰性対照の平均は 0.04 ± 0.03 であった。患者由来株は $1.72 \sim > 3.00$ に分布し、その平均は 2.44 ± 0.62 , 健常者由来株は $0.01 \sim 2.02$ に分布し、その平均は 0.47 ± 0.44 で、両者を比較すると、0.1% の危険率で患者由来

別刷請求先：(〒920-0365) 石川県金沢市神野町東 115
(財)石川県予防医学協会検査部

木村 晋亮

平成12年10月20日

Fig. 1 Verotoxin production of VTEC strains isolated from patients and healthy persons

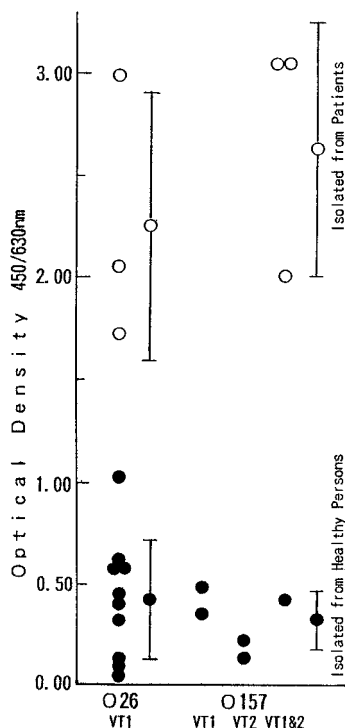


株の方が高い OD 値を示し、健常者由来株の VT 産生量が患者由来株に比べて低いことが示唆された。ただ健常者由来株の中には、T 検定で棄却される高い異常値を示す株が 1 株あった。

健常者及び患者から共通して分離された O26 と O157 の 21 株について、VT 型別にその OD 値の分布をみたのが Fig. 2 である。O26 は健常者由来 10 株、患者由来 3 株共に VT1, O157 は健常者由来 5 株のうち VT1 と VT2 が各 2 株、VT1 & 2 が 1 株、患者由来 3 株はいずれも VT1 & 2 であった。これらを比較すると、O26, O157 共に両由来株間には高い有意差がみられた一方、同一由来の O26 と O157, VT1, 2, 1 & 2 相互の間には有意差はみられず、この傾向は健常者由来の他の O 血清型相互, VT 型相互間でも同様であった。

同一由来株内での OD 値のバラツキが、個々の菌株に固有なのか、測定によるのかについては、今後検討する必要があるが、キット添付の Instruction Manual のデータによると、6 試料の 3 日間測定での OD 値の変動係数が 8.1%~19.0%

Fig. 2 Verotoxin production of VTEC O26 and O157 strains isolated from patients and healthy persons



とのことで、このキットではある程度のバラツキがでると考えてよい。ところで、同一検体から 2 株分離された例が健常者群で 18 組あった。2 株の差を健常者由来株の標準偏差(SD)と比較すると、1SD 未満が 12 組、1SD 以上 2SD 未満が 4 組、2SD 以上 3SD 未満が 2 組あった。同一 O 血清型、同一 VT 型でこのような差がなぜ生じるのかについては今後検討を要する。

稿を終えるにあたり、協力頂いた当協会検査部の佐々木富子、中塚順子両女史に、また型別不明 VTEC 株を精査して頂いた石川県保健環境センター並びに国立感染症研究所の関係各位に、記して謝意を表する。

文 献

- 1) 木村晋亮, 小崎明子, 佐々木富子, 小松原彰: Beutin 血液寒天培地での溶血を指標とした腸管出血性大腸菌のスクリーニング. 感染症誌 1998; 72: 223-230.

Verotoxin Producing Ability of Verotoxin-producing *Escherichia coli* Strains
Isolated from Fecal Specimens of Healthy Persons Is Lower than That of Patients

Nobuaki KIMURA, Misako WATANABE & Akira KOMATSUBARA
Ishikawa Health Service Association