

## 血清抗体価測定による *Yersinia pseudotuberculosis* 感染症の 発生状況調査 (1999年～2016年)

岡山県環境保健センター細菌科

中嶋 洋 狩屋 英明 岸本 壽男

(平成29年8月4日受付)

(平成30年1月9日受理)

Key words: *Yersinia pseudotuberculosis*, antibody, infant, Kawasaki disease

### 要 旨

*Yersinia pseudotuberculosis* 感染症の発生状況を把握するため、主に小児科患者等654名(1,308検体)の血清について、*Y. pseudotuberculosis* 血清群1～6の各菌体抗原に対する抗体価を測定した。その結果、98名(15.0%)が1種類の血清群に対して抗体陽性(≥1:160)となり、このうち血清群5が42名(42.9%)で最も多かった。*Y. pseudotuberculosis* が便や血液から分離された事例においては、16名中13名(81.3%)が、また、環境のみから本菌が分離された3事例の患者6名中5名(83.3%)が抗体陽性となり、陽性を示した抗体の血清群は各事例の分離菌の血清群と一致した。抗体陽性者は、川崎病症状を呈した患者グループ(10.9%)に比べ、*Y. pseudotuberculosis* 感染疑いの患者等のグループ(18.5%)に多く( $p<0.01$ )、抗体陰性の者に比べて下痢、結節性紅斑、腹痛、腎不全の症状や、家族内発症及び山水・井戸水などの使用の割合が有意に高かった( $p<0.025\sim p<0.005$ )。

〔感染症誌 92:353～357, 2018〕

### 序 文

エルシニア症は、*Yersinia pseudotuberculosis* (*Y. pseudotuberculosis*) および *Y. enterocolitica* による人獣共通感染症である。岡山県では、1981年～1984年に *Y. pseudotuberculosis* による集団発生4事例が、1981年に *Y. enterocolitica* による集団発生1事例が発生した<sup>1)</sup>。このため、両菌種について野生動物等の保菌調査を実施した結果、*Y. pseudotuberculosis* についてはタヌキ、テンなどの雑食性の野生動物や、野ネズミやカラスなどが高率に保菌していることを明らかにした<sup>2)</sup>。また、山間部などの水道未普及地域では、未殺菌の井戸水等から *Y. pseudotuberculosis* が高率に検出され、本菌を保菌する野生動物の排泄物により汚染されたこれらの環境水の飲用等が本症の原因と推察された<sup>2)</sup>。しかしながら、最近では国内でエルシニア症の集団事例報告はほとんどなく、特に *Y. pseudotuberculosis* による散発例の発生状況は不明である。さらに、患者等から本菌が分離される事例は少ないため、患者血清の抗体価測定が *Y. pseudotuberculosis* 感染を診断するための補

助手段として重要になっている。菌体抗原を用いた抗体価の測定は、過去の集団事例<sup>3)～5)</sup>において分離菌を抗原に使用して実施されているが、通常散発例で患者の血清抗体価を測定し、本菌感染の有無を検査することは稀である。一方、*Y. pseudotuberculosis* 感染症と類似した症状を示す川崎病の診断において、両疾患を区別するため、患者血清の抗体価測定が有効に利用されている<sup>6)</sup>。阿部ら<sup>7)8)</sup>は、患者血清中の抗 YPM (*Yersinia pseudotuberculosis* derived mitogen) 抗体を測定して、本菌感染の指標に用いている。我々は、*Y. pseudotuberculosis* の各種血清群の菌体抗原を用いて患者血清の抗体価を測定し、抗体保有状況の把握及び川崎病との鑑別を行っている。今回、本菌感染症の発生状況について、これまでの調査結果をまとめて報告する。

### 材料と方法

#### 1. 材料

*Y. pseudotuberculosis* の感染が疑われる患者及びその家族、あるいは本菌感染症と症状が類似している川崎病との鑑別が必要な患者を対象とした。両疾患は主に小児に患者の発生が多いため、小児科の医師から検査依頼を受け、1999(平成11)年度から2015(平成27)

別刷請求先：(〒701-0298)岡山市南区内尾739-1

岡山県環境保健センター細菌科 中嶋 洋

Table 1 Results of serodiagnosis against *Y. pseudotuberculosis* O-serogroup 1 ~ 6 antigens

No. of subjects (No. of samples)	No. of seropositive* subjects			No. of seronegative** subjects
	No. of serogroups with positive results			
	One	Two	Three	
654 (1,308)	98 (15.0%)	14 (2.1%)	2 (0.3%)	540 (82.6%)

\*Antibody titer  $\geq$ 1:160\*\*Antibody titer  $\leq$ 1:80Table 2 Distribution of seropositive subjects by *Y. pseudotuberculosis* O-serogroups

Serogroup	1	2	3	4	5	6	UT	Total
No. of subjects* (%)	9 (9.2)	2 (2.0)	11 (11.2)	16 (16.3)	42 (42.9)	14 (14.3)	4 (4.1)	98 (100.0)

\*Seropositive for only one O-serogroup antigen.

年度までに当センターに送られてきた患者等の血清を用いて、抗体価を測定した。なお、血清群2及び4の抗体陽性検体については、各々と共通抗原を有するサルモネラ O4 群及び O9 群で吸収処理<sup>9)</sup>を行い、再度測定後に抗体が陰性化した検体と、検体量不足のため吸収処理ができなかった検体は除外した。これにより、654名の血清1,308検体について集計した。*Y. pseudotuberculosis*は、患者由来15株(便由来14株及び血液由来1株)及び患者が使用していた環境水(谷川水)由来1株を収集した。また、患者便1検体及び患者が使用していた環境水(井戸水1検体、湧水1検体、山水1検体:検体量2~10L)からそれぞれ*Y. pseudotuberculosis*を分離して、収集した株と併せて20株の血清群別を行った。

## 2. 抗体価測定

患者等の血清は56℃、30分間非働化し、生理食塩水で10倍希釈した。これをさらに2倍段階希釈して、希釈系列を作成した。抗原液の調製には、当センターが保有する*Y. pseudotuberculosis*(血清群1a, 1b, 2a, 2b, 3, 4a, 4b, 5a, 5b, 6の各株及び患者由来の型別不能株)を使用した。各血清群の菌をトリプチケースソイ寒天培地(日本ベクトン・ディッキンソン社)で25℃、2日間培養し、生理食塩水に浮遊後、ガラスビーズ(直径5mm)とともに160rpm、3時間回転混和した。菌液を分取して、10,000rpm、5分間遠心後、上清を捨て生理食塩水を添加して菌を浮遊した。再度、同様の操作を繰り返し、上清を除去した沈渣に生理食塩水を添加後浮遊して、DENSIMAT(BIOMERIEUX, フランス)を用いてマクファーランドNo. 0.6の濃度に調製し、抗原液として使用した。抗体価の測定は、希釈系列の患者血清0.2mLに各血清群の抗原液0.2mLを加え試験管内で混和し、50℃、1晩反応後に凝集像を観察した。凝集の見られた最高希釈倍率を抗体

価とし、抗体価 $\geq$ 1:160を抗体陽性と判定した。

## 3. 菌株の血清群別

収集した菌株と患者便及び使用環境水から成書<sup>10)</sup>にしたがって分離した菌株について、偽結核菌診断用血清(デンカ生研)を用いてスライド凝集反応により血清群別を行った。

## 4. 集計及び統計処理

血清群1(1aと1b), 2(2aと2b), 4(4aと4b), 5(5aと5b)の各亜群はまとめて、血清群1~6の6種類で集計した。また、検査結果は患者ごとにまとめた。統計処理は、 $\chi^2$ 検定を用いて行った。

なお、本調査は、岡山県環境保健センター倫理審査委員会で承認(環保第354号)を受け、実施した。

## 成 績

### 1. *Y. pseudotuberculosis* 抗体保有状況

小児科患者等654名(1,308検体)の*Y. pseudotuberculosis*(血清群1~6)抗体保有状況を、Table 1に示した。血清群1~6のうち、いずれか1種類の血清群の抗体陽性者は98名(15.0%)で、540名(82.6%)は抗体陰性であった。また、14名(2.1%)は2種類、2名(0.3%)は3種類の血清群の抗体陽性となった。

### 2. *Y. pseudotuberculosis* の血清群別抗体陽性者分布

1種類の血清群の抗体陽性者98名について、その血清群をTable 2に示した。血清群5が42名(42.9%)で最も多く、血清群4(16.3%), 6(14.3%), 3(11.2%)の順に多かった。

### 3. *Y. pseudotuberculosis* 培養陽性事例における患者等の抗体保有状況

散発患者16名の検体(便15検体及び血液1検体)及び4事例の使用環境水各1検体(谷川水、井戸水、湧水、山水)から*Y. pseudotuberculosis*が分離された。各事例における患者の抗体保有状況を、Table 3-1及びTable 3-2に示した。患者検体から分離された16名

中 13 名 (81.3%) が抗体陽性で、便から分離された 2 名 (1:80) と血液から分離された 1 名 (1:40) は、抗体陰性であった (Table 3-1)。また、使用環境水から分離された 4 事例の患者 9 名のうち 3 事例では患者全員 (事例 1:3 人, 事例 2:3 人, 事例 3:2 人) が抗体陽性で、使用水の山水から分離された事例 4 の 1 名は、抗体陰性 ( $\leq 1:20$ ) であった (Table 3-2)。Table 3-1 と Table 3-2 の患者 3 名の重複分を除き、計 22 名の患者中 18 名 (81.8%) が抗体陽性で、陽性を示した抗体の血清群は各事例で分離された菌の血清群と一致した。特に、事例 2 については、患者便 3 検体及び使用している井戸水 1 検体から同じ血清群別不能の菌が分離された。事例 1, 3, 4 については、患者から菌は分離されなかった。

#### 4. 疾病グループ別の抗体保有状況

抗体価を測定した 654 名のうち、1 種類の血清群の

Table 3-1 Antibody titer of subjects in case of *Y. pseudotuberculosis* culture-positive from their clinical samples

Culture-positive sample	No. of subjects	Antibody titer	
		positive ( $\geq 1:160$ )	negative ( $\leq 1:80$ )
Stool	15	13*	2
Blood	1	0	1
Total	16 (100%)	13 (81.3%)	3 (18.8%)

\**Y. pseudotuberculosis* was isolated from three subjects' stools in Incident No.2 of Table 3-2.

Table 3-2 Antibody titer of subjects in Incidents of *Y. pseudotuberculosis* culture-positive from environmental samples

Incident No.	Isolation of <i>Y. pseudotuberculosis</i> from:	No. of subjects	No. of culture positive subjects	Antibody titer	
				positive ( $\geq 1:160$ )	negative ( $\leq 1:80$ )
1	Stream/river water	3	0	3 (100%)	0
2	Well water	3*	3*	3* (100%)	0
3	Spring water	2	0	2 (100%)	0
4	Mountain water	1	0	0	1 (100%)

\*Three subjects are also including in Table 3-1

Table 4 Comparison of antibody titers between two groups of suspected cases of *Y. pseudotuberculosis* infection and Kawasaki disease

Group	No. of subjects	Antibody titer	
		positive ( $\geq 1:160$ )	negative ( $\leq 1:80$ )
Suspected cases of <i>Y. pseudotuberculosis</i> infection	372	69 (18.5%)	303 (81.5%)
Kawasaki disease	266	29 (10.9%)	237 (89.1%)
Total	638	98 (15.4%)*	540 (84.6%)

\*Seropositive for only one O-serogroup antigen.

抗体陽性者 98 名と、抗体陰性の 540 名の計 638 名について、疾病グループに分けて抗体保有状況を比較した。川崎病診断の手引き改訂 5 版<sup>11)</sup>において、6 つの主要症状のうち 5 つ以上あるいは 4 つの症状と冠動脈瘤が確認された患者のグループ (川崎病グループ) と、それ以外の患者等のグループ (*Y. pseudotuberculosis* 感染疑いグループ) の抗体保有状況を、Table 4 に示した。抗体陽性者は、*Y. pseudotuberculosis* 感染疑いグループが 372 名中 69 名 (18.5%) で、川崎病グループの 266 名中 29 名 (10.9%) に比べて有意に ( $p < 0.01$ ) 多かった。

#### 5. *Y. pseudotuberculosis* 抗体の保有と症状等の比較

上記 638 名について抗体陽性者と陰性者別に症状等を集計し、Table 5 に示した。抗体陽性者は陰性者に比べて、主訴では下痢 29.6% ( $p < 0.025$ )、結節性紅斑 10.2% ( $p < 0.005$ )、腹痛 40.8% ( $p < 0.005$ ) が、他の症状では腎不全 21.4% ( $p < 0.005$ )、回盲部リンパ節腫脹 8.2% ( $p < 0.025$ )、回腸末端炎 7.1% ( $p < 0.05$ ) の発症率が高かった。また、家族内発症 18.4% ( $p < 0.005$ ) や山水・井戸水等の使用 41.8% ( $p < 0.005$ ) の割合も高かった。抗体陰性者では、川崎病の診断基準項目である硬性浮腫 29.3% ( $p < 0.025$ )、両側眼球結膜充血 57.2% ( $p < 0.005$ )、口腔粘膜発赤 24.4% ( $p < 0.05$ )、頸部リンパ節腫脹 45.4% ( $p < 0.05$ ) の他、腸間膜リンパ節腫大 10.4% ( $p < 0.01$ ) の割合が高かった。

## 考 察

*Y. pseudotuberculosis* 感染症の発生は、現状では集団

Table 5 Comparison of symptoms between *Y. pseudotuberculosis* seropositive group and seronegative group

Group	Number of subjects (%)	Main complaint							
		Fever	Rash	Vomiting	Diarrhea	Erythema nodosum	Abdominal pain	Cervical lymphadenopathy	Limb arthralgia
Seropositive ( $\geq 1:160$ )	98 (100)	87 (88.8)	20 (20.4)	14 (14.3)	29 (29.6)	10 (10.2)	40 (40.8)	8 (8.2)	2 (2.0)
Seronegative ( $\leq 1:80$ )	540 (100)	448 (83.0)	129 (23.9)	55 (10.2)	100 (18.5)	4 (0.7)	131 (24.3)	36 (6.7)	11 (2.0)
Critical p value					$p < 0.025$	$p < 0.005$	$p < 0.005$		

(continued)

Group	Fever persisting for $\geq 5$ days	Cardinal symptoms of Kawasaki disease									
		Extremity changes			Polymorphous rash	Bilateral bulbar conjunctival injection	Lip and oral finding			Cervical lymphadenopathy	Coronary artery dilation
		Brawny edema	Erythema	Skin peeling			Red lips	Strawberry tongue	Oral mucous membrane changes		
Seropositive ( $\geq 1:160$ )	73 (74.5)	17 (17.3)	31 (31.6)	31 (31.6)	61 (62.2)	35 (35.7)	30 (30.6)	23 (23.5)	14 (14.3)	33 (33.7)	6 (6.1)
Seronegative ( $\leq 1:80$ )	377 (69.8)	158 (29.3)	166 (30.7)	152 (28.1)	330 (61.1)	309 (57.2)	206 (38.1)	150 (27.8)	132 (24.4)	245 (45.4)	44 (8.1)
Critical p value		$p < 0.025$				$p < 0.005$			$p < 0.05$	$p < 0.05$	

(continued)

Group	other symptoms					related matters			
	renal failure	mesenteric lymphadenitis	Enlarged mesenteric lymph nodes	Enlarged ileocecal lymph nodes	Abdominal lymphadenitis	Acute appendicitis	terminal ileitis	Onset in family	Use of natural sources*
Seropositive ( $\geq 1:160$ )	21 (21.4)	4 (4.1)	2 (2.0)	8 (8.2)	2 (2.0)	0 (0.0)	7 (7.1)	18 (18.4)	41 (41.8)
Seronegative ( $\leq 1:80$ )	48 (8.9)	12 (2.2)	56 (10.4)	16 (3.0)	5 (0.9)	3 (0.6)	16 (3.0)	31 (5.7)	135 (25.0)
Critical p value	$p < 0.005$		$p < 0.01$	$p < 0.025$			$p < 0.05$	$p < 0.005$	$p < 0.005$

\*Stream/river water, well water, spring water and mountain water.

事例により把握されるケースが主となっており、散発事例の発生状況を把握することは難しい。当センターでは、*Y. pseudotuberculosis* 感染症が疑われる患者等及び川崎病の症状を呈し本菌感染症との鑑別を必要とする患者の血清抗体価測定を実施してきた。今回その成績をまとめた結果、これらの15%が*Y. pseudotuberculosis*の1種類の血清群に対して抗体陽性となり、本菌による感染が強く疑われた。一方、抗体陽性者114名中16名(14.0%)は複数の血清群に対して抗体陽性となった。これらについては、重複感染の可能性は否定できないが、本検査法は未精製の全菌体抗原を使用しているため、特に、抗体陽性の血清群以外にも複数の血清群で低い抗体価を示す場合は、非特異的な反応の影響も考慮する必要があり、判定保留が妥当と考えた。

抗体陽性者の血清群については、血清群5が42.9%で最も多く、血清群1, 3, 4, 6は9.2%~16.3%であった。血清群2(2.0%)及び血清群別不能(4.1%)の陽性率は低かった。過去に岡山県で発生した集団事例<sup>1)</sup>では、4事例中2事例は血清群5が、2事例は血清群4が原因菌であり、また野生動物等の本菌保菌調査の結果<sup>2)</sup>でも、これらの血清群の菌が高率に分離されて

いた。このことは今回の調査結果とよく一致していたが、患者等の検体は全国の小児科から送られてきていることから、血清群5や4の菌が広範囲な地域に分布しており、本菌感染症の原因菌となる可能性の-highことが示された。患者等から原因菌が分離された事例では、22名中18名(81.8%)が分離菌と同じ血清群で血清中の抗体価陽性となり、結果は良く一致していた。他方、4名は抗体陰性であったが、このうちの2名は抗体価が1:80とやや上昇が見られており、感染の可能性を完全に否定する結果ではなかった。また、他の2名については、1名の抗体価は発症21日目の血清が1:40と低く、他の1名は発症6日目、19日目及び48日目のすべての血清が $\leq 1:20$ であったが、その原因は不明である。

*Y. pseudotuberculosis* 感染疑いグループと川崎病グループに分けて*Y. pseudotuberculosis* 抗体陽性率を比較した結果、前者が川崎病グループの患者に比べて1.7倍高かった。また、抗体陽性のグループは陰性のグループに比べ、下痢、腹痛などの腸炎症状、回盲部リンパ節腫脹、回腸末端炎、腎不全や、家族内発症及び山水・井戸水等の使用の割合が有意に高かった。岡山県の集団事例でも、*Y. pseudotuberculosis* に汚染された未殺菌

の井戸水等の飲用が感染の原因と推定されたことから、山水・井戸水等の環境水は現在でも主要な感染源の一つである可能性が高いと考えられる。一方、抗体陰性のグループでは、硬性浮腫、両側眼球結膜充血、口腔粘膜発赤、頸部リンパ節腫脹など、川崎病の症状を呈する割合が高かった。川崎病は今なお原因不明の疾患であり、*Y. pseudotuberculosis* 感染症と症状が類似していることから、本菌による感染が原因の一つとして疑われており、今後もさらに調査を継続して原因を究明していく必要があると思われる。

謝辞：本調査に際し、検体および菌株の収集ならびに調査結果の論文化につきまして、全国の小児科及び関係機関の先生方、国立感染症研究所細菌第一部 泉谷秀昌先生にご協力・ご指導をいただきましたことに深謝いたします。

利益相反自己申告：申告すべきものなし

#### 文 献

- 1) 井上正直, 中嶋 洋, 石田立夫, 坪倉 操: わが国におけるエルシニア症の発生状況. 獣医畜産新報 1987; 796: 12—6.
- 2) 井上正直, 中嶋 洋, 森 忠繁, 田中睦男, 本郷俊治, 佐藤幸一郎, 他: 第8回 *Yersinia* の生態学研究会 4. 岡山県におけるエルシニアの生態. メディアサークル 1991; 36: 366—70.
- 3) Inoue M, Nakashima H, Ueba O, Ishida T, Date H, Kobashi S, *et al.*: Community Outbreak of *Yersinia pseudotuberculosis*. Microbiol. Immunol 1984; 28: 883—91.
- 4) 三瓶憲一, 内村真佐子, 小岩井健司, 高木謙二,

矢崎廣久, 七山悠三, 他: 小学校における *Yersinia pseudotuberculosis* 感染症の集団発生例. 感染症誌 1987; 61: 763—71.

- 5) 豊川安延, 大友良光, 佐藤允武, 三上稔之, 木村淳子, 秋山 有, 他: 青森県野辺地町における *Yersinia pseudotuberculosis* 血清型 5a 菌による集団感染症. 青森県環境保健センター研究報告 1992; 3: 1—7.
- 6) 尾内一信, 佐藤幸一郎, 高橋龍太郎, 滝 正史, 立石一馬: *Yersinia pseudotuberculosis* 感染症を川崎病より除外することの重要性. 日小児会誌 1985; 89: 449—54.
- 7) Horinouchi T, Nozu K, Hamahira K, Inaguma Y, Abe J, Nakajima H, *et al.*: *Yersinia pseudotuberculosis* infection in Kawasaki disease and its clinical characteristics. BMC Pediatrics 2015; 15: 177. DOI: 10.1186/s12887-015-0497-2.
- 8) 原田定智, 白川利彦, 内田信宏, 中嶋有美子, 阿部 淳, 中嶋 洋: 急性腎不全をきたした *Yersinia pseudotuberculosis* 感染症の1例. 日本小児腎不全学会雑誌 2016; 36: 303—5.
- 9) Saari TN, Triplett DA: *Yersinia pseudotuberculosis* mesenteric adenitis. J Pediatr 1974; 85: 656—9.
- 10) 林谷秀樹: 日本食品衛生協会, 食品衛生検査指針 微生物編, 5 エルシニア. 日本食品衛生協会, 東京, 2015; p. 284—92.
- 11) 厚生労働省川崎病研究班: 川崎病 (MCLS, 小児急性熱性皮膚粘膜リンパ節症候群) 診断の手引き 改訂第5版 (日本医療センター小児科川崎病研究班). 東京, 2002.

### A Serological Survey of *Yersinia pseudotuberculosis* Infection (1999—2016)

Hiroshi NAKAJIMA, Hideaki KARIYA & Toshio KISHIMOTO

Section of Bacteriology, Okayama Prefectural Institute for Environmental Science and Public Health

A serological assay was conducted to investigate *Yersinia pseudotuberculosis* infections. The assay was based on agglutination against whole cell antigens of *Y. pseudotuberculosis* serogroups 1 to 6. Samples with a titer at dilution of  $\geq 1:160$  were diagnosed as positive. A total of 1,308 serum samples was examined from 654 subjects most of whom were pediatric patients. Ninety-eight subjects (15.0%) were seropositive for single O-antigen. The serogroup O:5 was the largest serogroup including 42 subjects (42.9%). From among 22 subjects whose stool or blood samples or whose associated environmental water samples were culture positive for *Y. pseudotuberculosis*, 18 (81.8%) were seropositive against the corresponding serogroups to the respective isolates. The positive rate of serum samples was higher in the suspected *Y. pseudotuberculosis* infection group (18.5%) than in the suspected Kawasaki disease group (10.9%) ( $p < 0.01$ ). The frequencies of diarrhea, erythema nodosum, abdominal pain, renal failure, onset in the family and use of natural water sources were significantly higher in the seropositive than in the seronegative group ( $p < 0.005$ ).