

厚生省  
平成10年度

〇157等腸管出血性大腸菌感染症に関する研究班

## 研究報告書

平成11年3月

主任研究者 佐藤成大  
(岩手医科大学細菌学講座教授)

平成10年度厚生省科学研究費補助金  
(新興・再興感染症研究事業)  
総括研究報告書

○157等腸管出血性大腸菌感染症に関する研究 (H10-新興-2)

主任研究者 佐藤成大 (岩手医科大学細菌学講座・教授)

研究要旨

腸管出血性大腸菌感染症の診断技術の向上と迅速化、保菌牛の疫学と実験感染牛の抗体測定および○157集団感染後の感染免疫の推移について研究した。さらに、これらの成果を感染症危機管理対策に役立てるために、感染症発生情報ネットワークおよび検体搬送方法などの行政的感染制御支援システムの構築について研究した。

研究組織

分担研究者

1. 佐藤成大 (岩手医科大学・細菌学講座・教授)
2. 千田勝一 (岩手医科大学・小児科学講座・教授)
3. 品川邦汎 (岩手大学・農学部・教授)
4. 玉田清治 (岩手県衛生研究所・所長)
5. 中村義孝 (岩手県盛岡保健所・所長)

A. 研究目的

腸管出血性大腸菌感染症 (Enterohaemorrhagic *E.coli*: EHEC) の疫学や病態および免疫については不明の点が多い。さらに溶血性尿毒症症候群 (Hemolytic uremic

syndrome: HUS) の発症を防止するための治療についても極めて不十分な状態にある。また、EHEC の迅速診断と予防衛生的対応を適切に行うための行政的支援機構の構築は感染症危機管理体制を確立するために必要である。これらの点を考慮し、本研究では以下の目的をもって研究を遂行した。  
(1) 実験室診断: EHEC の実験室診断についてはPCR法などを用い、迅速性の向上と精度管理を検討する (佐藤、高橋、宍戸)。  
(2) 疫学: EHEC の疫学については、牛を対象とし、その保菌率や伝染経路を明らかにする (品川、菅原、重茂および玉田)。  
(3) 診断と病態: 診断と病態に関しては、とくに小児科領域における組織的な患者把握と診断・治療の成績を集積し、実験室診断の精度を検討すると共に、病態との関係を検討する (千田、一戸、佐々木)。  
(4) 免

疫：感染後の免疫状態については患者を長期的にフォローし、その免疫状態を把握し、有効な予防ワクチンなどの開発に資する基礎的なデータを蓄積する（佐藤、下沖、堤、高橋）。（5）行政的支援機構：行政的支援機構については、保健所の情報ネットワークと民間臨床検査センターの検体搬送システムを有効に活用し、医師会および医療機関との連携を向上させる（中村）。

## B. 研究計画と方法

（1）EHEC迅速診断のためのPCR法の検討：糞便検体からDNAを抽出する操作において、Taq polymerase inhibitor を除去できる簡便な抽出法として Gene Trapping by Liquid Extraction 試薬（Gen TLE、宝酒造、京都）を使用した。PCR法は通常の3ステップ法の他に、アニーリング伸長反応を1サイクルとした2ステップ法を行った。

（2）O157 感染牛の実験モデルと疫学的研究：感染牛をモデルとして、血清疫学に必要な抗体価測定条件を検討する。O157 を経口感染させた牛から1週毎に採血し、型特異的LPS抗原（Sigma およびデンカ生検）を用い、血清抗体価をELISA法により測定した。

岩手県内の食肉処理場において採取した牛糞便からPCR法を用いベロ毒素遺伝子を検出した。

（3）EHEC感染の診断：EHEC感染下痢症群とその他の病原体による下痢症群とに分け、血清抗体価測定による

実験室診断の精度を細菌分離と合わせて前方視的に検討する。

（4）免疫：感染後の免疫状態、特にベロ毒素に対する液性免疫についての抗体価の推移を検討する。

（5）行政的支援機構：感染症発生情報ネットワークおよび検体搬送方法を医師会及び医療機関と協議し再構築する。

## C. 研究結果

（1）EHEC迅速診断のためのPCR法の検討：糞便からTaq polymerase inhibitor を除去することは従来のフェノール・クロロホルム法では困難であったが、Gen TLE法を利用することで短時間にPCR用のDNAを精製することが可能となった（高橋、宍戸）。Gen TLE法によるDNA抽出と2ステップPCR法を組み合わせると、検体処理からアガロースゲル電気泳動による結果判定まで約5時間で終了し、EHEC感染の即日診断が可能となった。本法による糞便中のベロ毒素遺伝子の直接検出法は増菌培養後に行ったPCRの結果に匹敵するものであり、感度、特異性とも優れている。

（2）O157 感染牛の実験モデルと疫学的研究：EHECO157感染牛およびO157保菌牛から血清を採取しO157特異的抗LPS抗体を測定した。感染牛においては、感染初期にIgM抗体の上昇が見られたが、IgG抗体の産生は遅く13～15週後から上昇することがわかった（品川、菅原、重茂）。O157保菌牛では実験感染牛に比べ抗体価の変動は少なかった。

食肉処理上における牛のEHEC保

菌率は4/201 (2.0%)であった。その内訳はO157:H7(VT1&VT2) 1株、O128:H2(VT1) 1株、血清型OUT:HUT(VT2) 2株であった。また、感染牛から感染した事例では井戸水、ハエからも同一パルスフィールド・パターンを示すO157株が分離されている(玉田、小林、熊谷、斎藤)。

(3) EHEC感染の診断と病態：EHEC感染症患者(O157またはO26)群と他の病原体による感染または病原体を特定できなかった細菌性腸炎患者の群について、急性期および回復期血清を用いて抗LPS抗体と抗ベロ毒素抗体を測定した。その結果抗LPS抗体体上昇の認められたものはEHEC群9/13、その他の群1/9であった。HUS患者は両群とも1名ずつみられた(千田、一戸、佐々木)。ベロ毒素抗体は急性期、回復期いずれも陰性であった。

(4) 免疫：ベロ毒素に対する抗体産生をO157集団感染児童について検討した。発症後17日目以内の抗VT1抗体の陽性率は3/77 (3.9%)、抗VT2抗体の陽性率も3/77 (3.9%)で、症例としては1例(同一症例)であった。この症例では発症後14ヶ月目においても低いながら抗VT1抗体、抗VT2抗体とも検出された(下沖、佐藤)

(5) 行政的支援機構：行政的支援機構については、盛岡保健所が中心となり関係機関連絡フローチャートを作成し、情報連絡の迅速化を促し、また、保健所の衛生学的対応をより迅速化した(中村)。

#### D. 考察と今後の方針

EHEC感染症の集団感染は全国的に減少傾向にあるが、散発例は依然として跡をたたない。岩手医大付属病院においても平成10年度は2例のHUSを経験しており、EHEC感染の危機は今後も続くことが予想される。

平成10年度の本研究における研究成果を考えると、実験室診断のPCR法による迅速化が進み、今後各方面での利用が期待される。また、PCR迅速診断法は細菌検査法の精度管理に適した方法でもあり、今後さらに改良を加えて普及を図りたいと考えている。

疫学的な面ではO157感染牛モデルの実験からIgG抗体産生までに比較的長時間を要することがわかって来た。このことから、IgM、IgA、IgGのサブクラスを検出することで、EHECの侵淫状況の時期的なものも推測することが可能であると考え。今後、子牛の予防に対する初乳中の抗体の効果も検討してゆく。

また、食肉処理場での疫学調査から牛のEHECの保菌率が約2%であることがわかり、今後の牛の保菌率の推移をみる上で重要な指標を得たと考え。さらに、感染牛から罹患した事例があることから、保菌牛に対する疫学的監視と除菌の方法を検討してゆくことが重要であると考え。

EHEC感染性下痢症とその他の病原体による下痢症の鑑別診断については、O157、O26、O111など本邦での検出頻度の高い血清型については血清診断が信頼できる補助診断法であることが明らかになってきた。今後、診断

可能な血清型を増やすことと、PCR法を加えより正確な診断をおこない、患者の病態や治療効果について検討してゆく。

EHEC感染後の免疫状態についてはわずか1例ではあったが、14ヶ月後も抗VT1抗体、抗VT2抗体とも陽性を保っている例があった。また、対照群血清においても抗ペロ毒素抗体陽性のものであることから、ペロ毒素に対する免疫は十分期待できると考える。今後、ペロ毒素の免疫に必要な感染条件や接種条件およびELISA抗体価と中和抗体価の相関などを検討すると共に、ペロ毒素のトキシソイド化を検討してゆく。

行政的支援機構については今年度の研究において患者情報の収集と検体搬送の迅速化に重要な役割を果たした。今後さらに政策提言できるレベルまでこのシステムを充実させ、感染症危機管理システムに貢献できる研究を完成させるべく検討中である。

## E. 結論

感染症危機管理体制の構築は国家として重要な課題であり、EHEC感染症の封じこめを一つのモデルとして、診断、治療、予防のそれぞれの方面について今後とも研究を継続する。

平成10年度厚生省科学研究費補助金  
(新興・再興感染症研究事業)  
分担研究報告書

○157等腸管出血性大腸菌感染症に関する研究(H10-新興-2)

主任研究申請者 佐藤成大 (岩手医科大学細菌学講座)  
共同研究者 下沖 収 (岩手医科大学外科学講座)  
高橋清実 (岩手医科大学細菌学講座)  
堤 玲子 (岩手医科大学細菌学講座)

「腸管出血性大腸菌○157感染後の抗ペロ毒素についての検討」

#### 研究要旨

0157感染症等ペロ毒素産生性腸管出血性大腸菌感染症において、ペロ毒素に対する病後免疫について検討した。1996年盛岡市の小学校での集団発生の事例について、血清中の抗Vero毒素(抗VT)抗体を逆サンドイッチELISA法により測定した。発症後17日以内の血清の抗VT1抗体陽性率は3/77(3.9%)、抗VT2抗体陽性率は3/77(3.9%)であり、陽性症例としては1例(VT1およびVT2共に陽性、1/31症例、3.2%)であった。また、この症例では発症後14ヶ月後においても低い抗体価ながら抗VT1、抗VT2抗体とも検出された。

#### A. 研究目的

腸管出血性大腸菌のペロ毒素に対する免疫については不明な点が多く、トキシノイドによる予防接種を考える場合、感染後の免疫状態を長期的に把握する必要がある。今回、われわれは小学生の0157集団感染事例を発症後14~16ヶ月まで追跡調査したので報告する。

#### B. 研究方法

血清：医療機関を受診した感染早期の患者血清77検体(31症例)と感染後14~16ヶ月後に保護者の許可を得て採取された血清25検体(25症例)について検討した。対照として非下痢症の小学生保存血を用いた。

逆サンドイッチELISA法：測定法の概略を(図1)に示す。(1)精製VT1またはVT2に各wellに100 $\mu$ lずつ

分注し、4 $^{\circ}$ Cで一晩インキュベートする。(2)洗浄後、被検血清(必要に応じ1:4、1:40、1:400に希釈)100 $\mu$ lを加え、緩やかに振盪しながら室温で60分間インキュベートする。(3)洗浄後、ビオチン標識VT1またはVT2(0.05 $\mu$ g/ml)を100 $\mu$ lずつ分注し、緩やかに振盪しながら室温で60分間インキュベートする。

(4)洗浄後、ストレプトアビジン標識 $\beta$ -Dガラクトシダーゼを100 $\mu$ lずつ分注し、緩やかに振盪しながら室温で60分間インキュベートする。(5)洗浄後、基質4-methylumbelliferyl- $\beta$ -D-galactosideを100 $\mu$ lずつ分注し緩やかに振盪しながら37 $^{\circ}$ Cで60分間インキュベートする。(6)反応停止液を100 $\mu$ lずつ分注し、軽く攪拌後蛍光光度計で測

定する。

### C. 研究結果

血清抗VT抗体価測定の結果を（図2）に示す。VT免疫ウサギ血清を用い検量直線を作成し、抗体の検出限界と抗体単位（U/ml）を求めた。サンドイッチELISA法は非特異的反応がほとんどなく、陰性検体の平均値+2SDを用いるとcut off値が低くなり過ぎるため、抗VT1抗体については平均値+4SD（30U/ml）、抗VT2抗体については平均値+5SD（10U/l）をcut off値とした。感染早期者血清の抗体陽性率は抗VT1抗体3/77（3.9%）、抗VT2抗体3/77（3.9%）であった。陽性症例としては1症例（同一症例）であった。対照群については抗VT1抗体9/86（10.5%）、抗VT2抗体0/76（0%）であり、抗VT1抗体については少なからず陽性検体が認められたが、抗VT2抗体は全例陰性であった。

1996年の0157集団感染においてVT抗体が陽性であった1例の抗体価の推移を（図3）に示す。この症例の感染早期の抗VT1抗体価は発症後7日目にはすでに陽性となっており、14日目にピークに達していたが、このあとも上昇していた可能性がある。14ヶ月後においても、抗体価は低下していたものの陽性域にとどまっていた。抗VT1抗体価の上昇は抗LPS抗体価の上昇よりやや遅れていた。この症例は抗VT2抗体も弱いながら14ヶ月後まで陽性であった。また、抗LPS抗体についても14ヶ月後まで陽性であった。

次に1997年に0157に感染しHUSに進行し死亡した70才男性の抗VT抗体価の推移を（図4）に示す。抗VT1抗体については発症後3日目にすでに陽性域にあり、7日目まで急上昇しており、さらに上昇する様相を呈していた。抗体価も（図3）の小学生の例に比し100倍以上に達していた。しかし抗VT2抗体は検出限界以下に留まっていた。

（図3）、（図4）の2症例の血清は

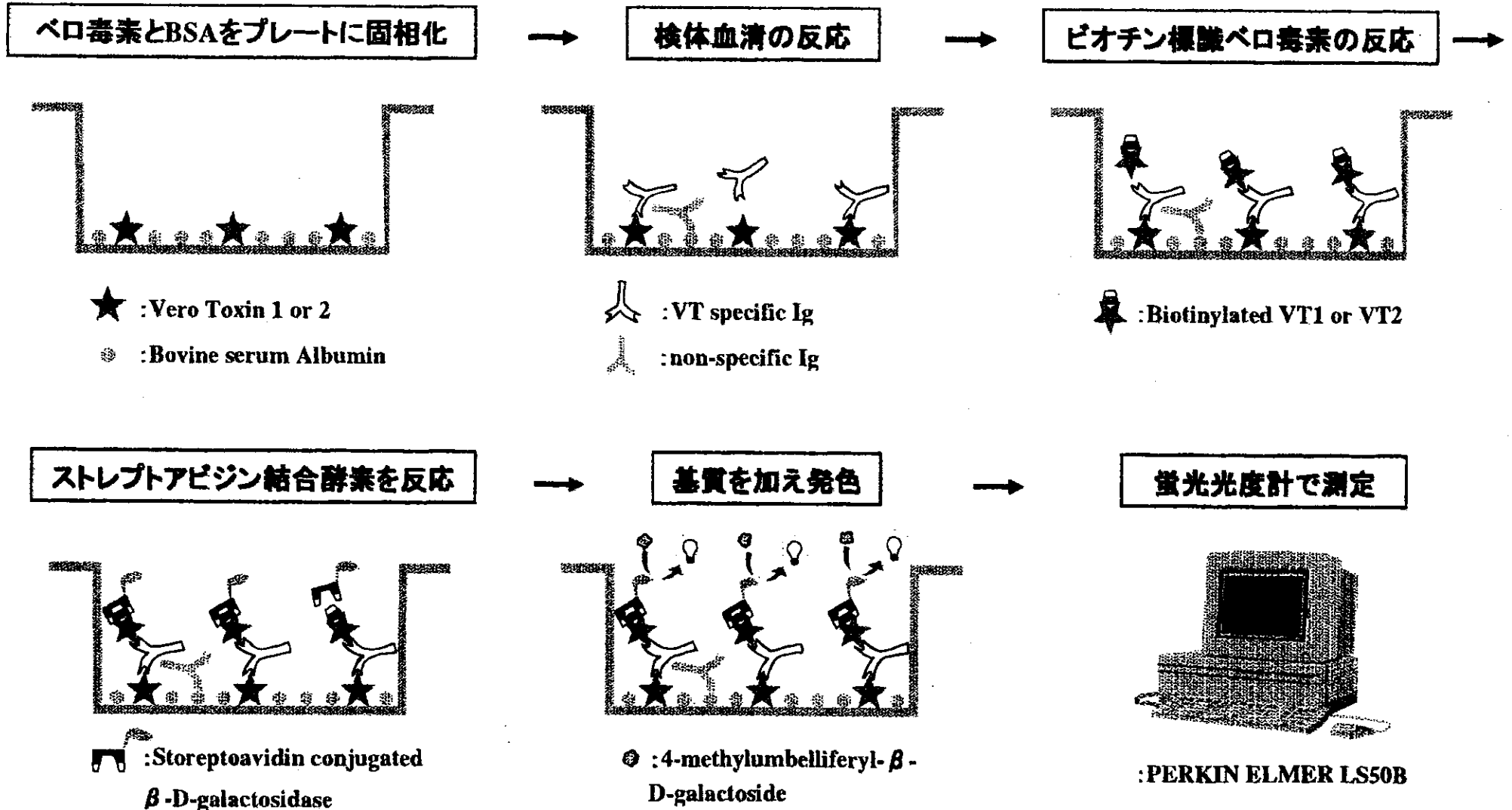
Vero細胞を用いた毒素中和試験で少なくともVT1については中和能が認められた。

### D. 考察

抗VT抗体は力価は減少するが14～16ヶ月後においても検出限界以上の価を示す検体が多く、トキシソイドの開発に有望な結果が得られたと考える。検出法の違いもあるが、抗LPS抗体が1年後にほとんど検出限界以下に低下していたことを考えるとHUSに対する予防ワクチンとしてはベロ毒素に対するトキシソイドが望ましいように考えられる。集団感染事例では1例もHUSを発症しなかつたが、その中のVT抗体陽性例はHUSで死亡した症例と比較すると明らかに抗VT1抗体価が低く、症状の重傷度とベロ毒素の獲得免疫について検討すべきであると考えられる。しかし、対照群血清において少なからず抗VT1抗体陽性検体が認められたことから、今後これら血清についても毒素中和抗体の有無を調べる必要があると考へている。また、ELISA抗体価と中和抗体価の関係は症例を増してさらに検討する予定である。

図 1

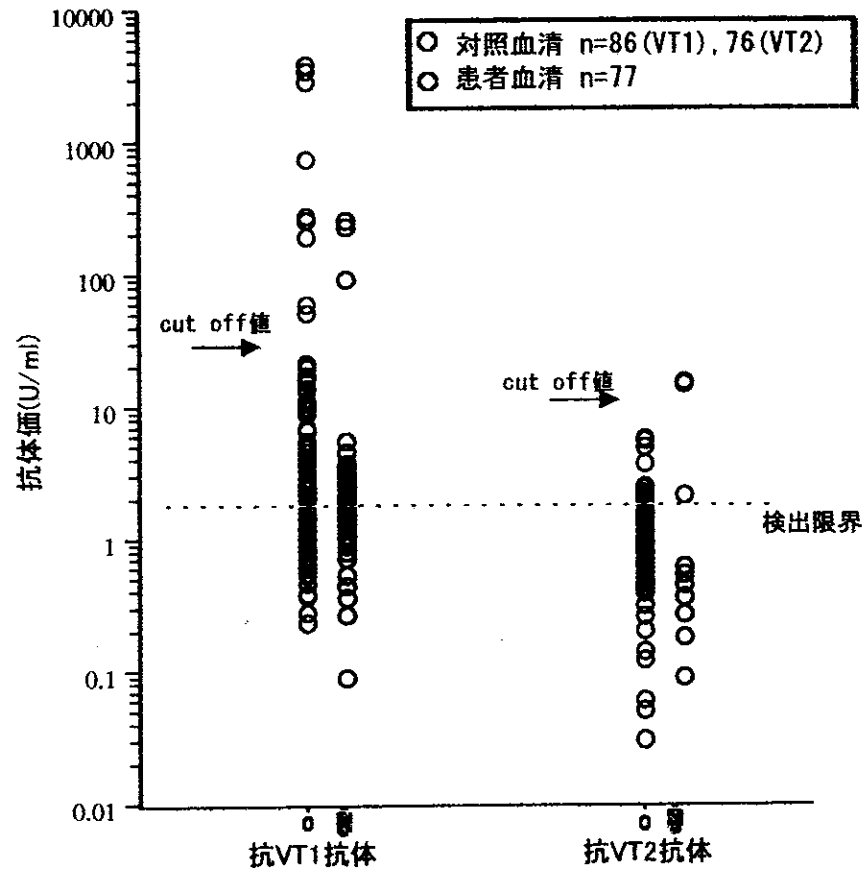
# 血清抗Vero毒素抗体測定原理





# 図 2

## 血清抗VT抗体（逆サンドイッチELISA）



### 对照血清

	抗VT1抗体	抗VT2抗体
検出限界値以下検体 (検出限界値: 1.8U/ml)	39.4%	81.6%
cut off値	30U/ml (≒ mean+4SD)	10U/ml (≒ mean+5SD)
陽性検体	10.5%	0.0%

### 患者血清

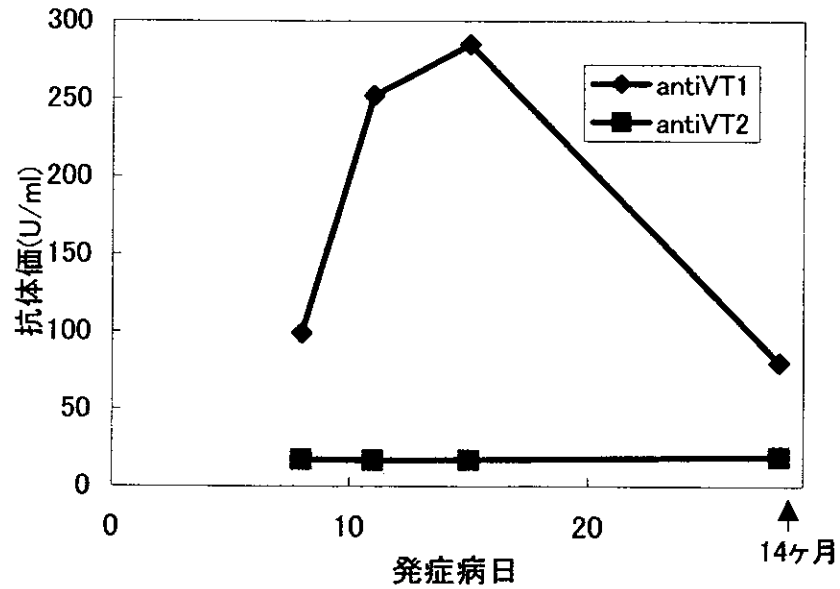
	抗VT1抗体	抗VT2抗体
検出限界値以下検体	54.5%	94.8%
陽性検体	3/77 (3.9%)	3/77 (3.9%)
陽性症例	1/31 (3.2%)	1/31 (3.2%)

陽性検体, 症例は同一であった

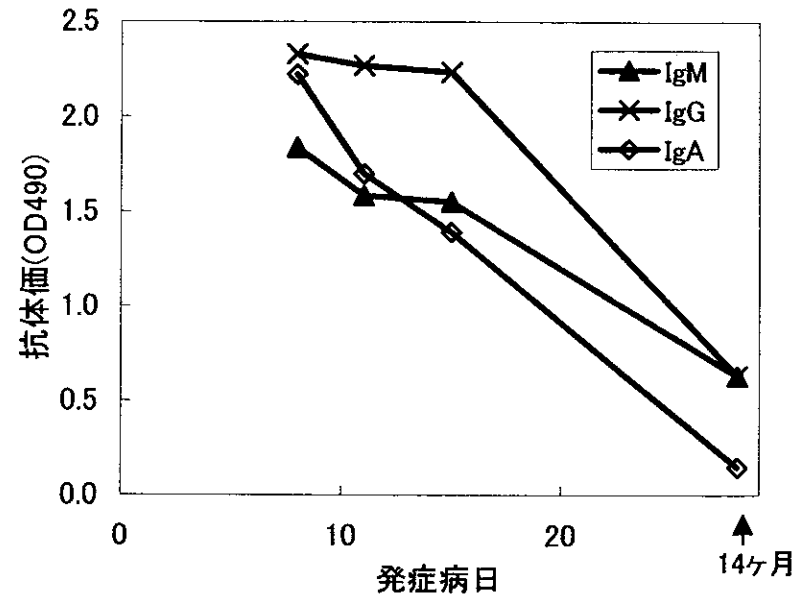
図 3

1996年EHECO-157集団感染時血清で抗VT抗体が陽性を示した1例の抗体価の推移

U.Mの血清抗VT抗体価の推移



U.Mの血清抗LPS抗体価の推移



発症病日	7	10	14	14ヶ月後
antiVT1	98.9	252.0	285.0	79.9
antiVT2	17.3	16.9	17.1	19.1

cut off値 anti-VT1: 30U/ml  
anti-VT2: 10U/ml

# 図 4

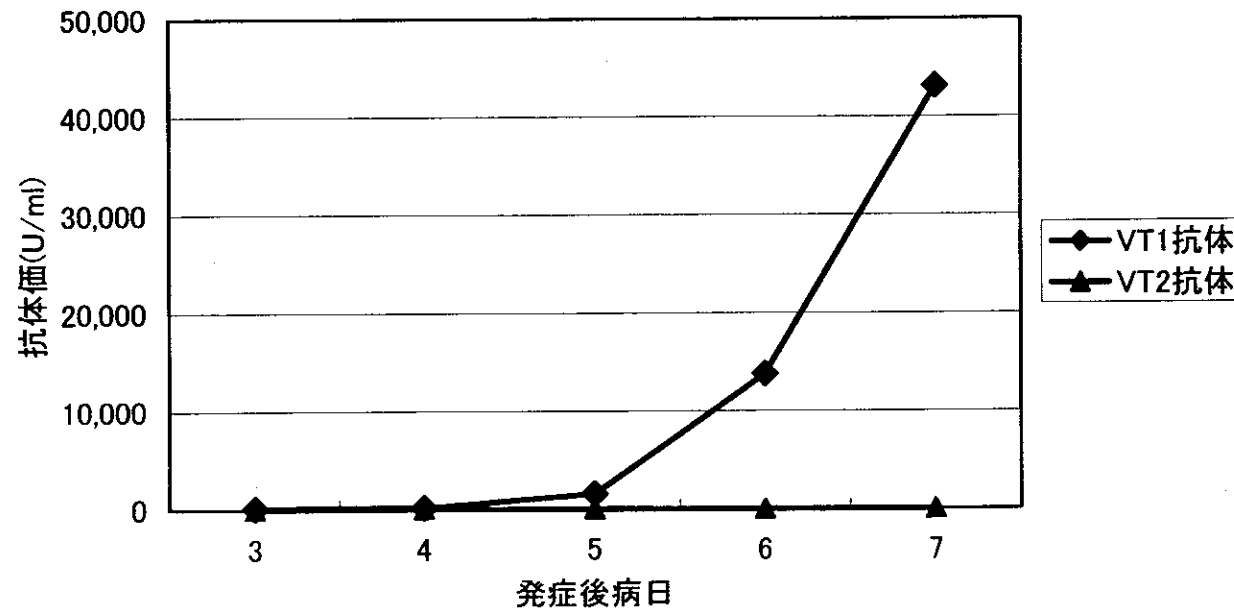
## 1997年HUS死亡例の血清抗VT抗体の推移

病日	VT1抗体	VT2抗体
3	84.43	0.42163
4	133.82	0.27963
5	1523.44	0.13004
6	13779.97	0.11108
7	43132.79	0

97年7月17日仕出し弁当, 7月19日自宅で手作りの寿司を食す  
 同 7月22日より血清下痢,  
 同 7月24日入院, HUS  
 同 7月28日永眠

VT2抗体はすべて測定限界値以下

M.T (HUS)



# 厚生科学研究費補助金（O157等腸管出血性大腸菌感染症に関する研究事業）

## 分担研究報告書

分担研究者 品川邦汎（岩手大学農学部）

共同研究者 菅原 健（岩手大学農学部）

重茂克彦（岩手大学農学部）

### 要旨

腸管出血性大腸菌O157の実験感染牛およびO157保菌牛の、抗O157抗体価測定を行い、その経時的変動を調査した。実験感染牛（5頭）および保菌牛（7頭）の血清を採取し、ELISAにより抗O157IgGおよびIgM抗体価を測定したところ、O157実験感染牛の血清抗体価はIgM抗体価が感染初期に上昇がみられ、IgG抗体価の上昇はそれに比べて遅く13～15週目から上昇がみられた。O157保菌牛では実験感染牛の結果と比べ、抗体価の変動は小さかった。さらに、吸収実験により実験感染牛の血清で測定された抗O157抗体価は特異的な抗体によることを確認した。

### A. 研究目的

腸管出血性大腸菌(Enterohemorrhagic *Escherichia coli*:EHEC)は志賀毒素(Shiga-toxin)を産生することから志賀毒素産生性大腸菌(Shiga-toxin producing *E. coli*:STEC)とも呼ばれ、人や動物に対して腸管病原性を示すことが知られている。本感染症の原因食品として、牛関連食品によることが報告されている。これまで外国およびわが国において、牛の保菌調査が行なわれており、健康牛および下痢牛のいずれからも高い検出率が示されている。

STEC感染症および保菌調査には原因菌を分離同定することが基本であるが、近年毒素などの病原因子遺伝子を検出するPCR法などが応用されている。しかし、STEC感染症では、検査の時期により原因菌を検出できないことがあり、診断を困難にする場合がみられる。これらの場合では血清学的診断が有効であり、また本方法は菌検出に比べ迅速に行うことができる等の利点が報告されている。ChartらおよびBarrettらはSTEC O157感染が疑われるHUS患者の抗O157LPS抗体価を測定し、高率に陽性であり血清学的診断の有効性を示している。

STECの血清型は多数(約100種)存在することが知られており、牛あるいは牛肉から分離される血清型と人感染症由来のもので

共通するものでは30-40種の共通型がみられる。その中でもヒト感染症で多くみられる血清型としてはO157、O26およびO111であり、特にSTEC O26は近年増加し、牛との関連が指摘されている。そこで、本研究では牛におけるSTEC O157、O26およびO111を対象にし、抗LPS抗体(IgMおよびIgG)測定による血清学的診断の有効性についてSTEC O157の実験感染牛およびO157保菌牛の抗体価の測定を行い、その経時的変動を調査した。

### B. 実験材料および方法

#### 1) 供試血清

##### (1) STEC O157実験感染牛の血清

B研究所において、STEC O157実験感染を行った牛血清81検体(B-1～3)を用いた。供与された血清は感染実験開始から1週間毎に、B-1血清は26週、B-2は18週、B-3は34週までそれぞれ採取されたものである。なお、これらの感染牛については、糞便中のSTEC O157の検出状況についても調査が行われている。同様に、C研究所において、STEC O157実験感染を行った血清20検体(C-1、C-2)を用いた。これらの血清は感染実験開始から一週間毎に、9週まで採取されたものである。

## (2) STEC O157保菌牛の血清

C研究所において、STEC O157保菌牛7頭(D-1~7)から採取された血清で、これらの血清は平成8年10月30日から一週間毎に、6回採取された計42検体である。

### 2) ELISAによる抗体測定

#### (1) LPS(lipopolysaccharide)

市販のLPSO26およびO111(Sigma)をPBSで、各々10 $\mu$ g/mlに調整し使用した。LPSO157についてはデンカ生検(デンカ生検K.K.)で作成されたものを、PBSで200倍に希釈したものを使用した。

#### (2) ELISA法

96wellポリスチレン製平底ELISAプレート(Nunc)に各LPS溶液(50 $\mu$ l/well)を入れ、37 $^{\circ}$ C、2時間反応させた後、PBS(200 $\mu$ l/well)で2回洗浄し、0.5% BSA/PBS100 $\mu$ lを各ウェルに入れ、37 $^{\circ}$ C、1時間静置した。次いで、PBST(200 $\mu$ l/well)でプレートを2回洗浄し、0.5% BSA/PBSTで200倍に希釈した血清50 $\mu$ lを各ウェルに入れ、37 $^{\circ}$ C、1時間反応後、PBST(200 $\mu$ l/well)で2回洗浄した後、0.5% BSA/PBSTで1000倍に希釈した二次抗体50 $\mu$ lを各ウェルに入れ、37 $^{\circ}$ C、1時間反応させた。PBST(200 $\mu$ l/well)で4回洗浄した後、基質溶液50 $\mu$ lを各ウェルに入れ発色(5分間反応)させた。2N硫酸50 $\mu$ lを各ウェルに入れ反応停止後、速やかに492nmで吸光度(OD値)を測定した。各LPSに対するOD値からBSAのみのOD値を差し引いた値を各検体の測定値とした。

#### 3) 吸収実験

##### (1) 抗原溶液(吸収抗原)の作成

各大腸菌(E. coli O157、O26およびO111)をそれぞれハートインヒュージョンブイオン(HIB)5mlに接種し、37 $^{\circ}$ C、24時間培養後、この培養液をHIB300mlに移し、37 $^{\circ}$ C、24時間で震盪(110rpm)培養した。培養終了後、培養液にホルマリン3mlを添加し、一夜殺菌した。殺菌した培養液を3000rpm、30分間遠心し、沈渣に滅菌生理食塩水を添加後、攪拌し、洗浄した。この操作を3回行った。最終洗浄菌体(遠心後)

の湿重量を測定し、滅菌生理食塩水で調整し、200mg/mlの抗原溶液とした。

##### (2) 血清の吸収操作

血清10 $\mu$ lにPBS90 $\mu$ lと抗原溶液100 $\mu$ lを加え、37 $^{\circ}$ C、2時間静置後、4 $^{\circ}$ Cで一夜反応させた後、10000rpm、5分間遠心し、その上清を吸収血清とした。実験には本血清をさらに10倍希釈したものをを用いて、前述と同様の方法によりELISAを行い、吸光度を測定した。

## C. 研究結果

### 1) STEC O157実験感染牛の抗体価

#### (1) 実験感染牛B-1

B-1[図1]牛については、IgM抗体価は感染実験開始2週目に最高値となり、OD値0.39で、それ以降はOD値0.2付近を推移した。IgG抗体価はIgM抗体価と同様に2週目にわずかな上昇をみたが、以後OD値0.3付近を推移した。14週目以降に上昇がみられ、15-20週目はOD値1.0付近を推移したが、21および22週目に最高値(OD値1.82)をとり、以後低下していった。糞便中のSTEC O157は4週目まで検出された。

#### (2) 実験感染牛B-2

B-2[図2]牛については、IgMのOD値は2週目から上昇がみられた。10週目以降はわずかに上昇し、17週目に最高値(OD値0.16)を示した。IgGは2週目にわずかに上昇し、OD値0.15前後であったが、15週目から上昇がみられ17週目に最高値、OD値で0.72を示した。糞便中のSTEC O157は8週目まで検出された。

#### (3) 実験感染牛B-3

B-3[図3]牛については、IgM抗体価は2週目から上昇がみられ、以後低下した。7週目から27週目までは、わずかに上昇の傾向がみられ、27週目にOD値0.27と最高を示した。IgG抗体価については2週目以降から上昇がみられ、21週目にOD値1.17と最高を示したが、それ以後は漸次低下していった。糞便中のSTEC O157は31週目まで検出され、32~34週目については検査は行っていない。

#### (4) 実験感染牛C-1

C-1[図4]牛については、IgM抗体価は1週目にわずかな上昇がみられ、OD値0.22を示した。IgG抗体価はほとんど変動がみられずOD値0.3付近を推移し、8週目にOD値0.35であった。

#### (5) 実験感染牛C-2

C-2[図5]牛については、IgM抗体価は1週目から上昇し、OD値0.97を示した。それ以後、抗体価は低下し、6週目にはOD値0.09まで低下した。また、IgG抗体価も1週目から上昇し、2週目にOD値0.80を示した。

#### 2) STEC O157保菌牛の抗体価

STEC O157保菌牛の抗体価測定結果を図6、7に示した。

最も抗体価が高かったのはD-2牛(OW: 10月30日採取)でIgGのOD値1.82を示したが、しかし次週ではOD値0.27に低下した。D-1,-3,-5,-6牛ではIgGのOD値は10月30日以降漸次低下した[図6]。また、IgM抗体価はD-3牛でOW(10月30日採取)を最も高い値を示し、2週後には低下した。その他の牛ではほとんど変動がみられなかった[図7]。

#### 3) 吸収実験

O157実験感染牛(B-1~3)の血清[図8~10]では、O157抗原による血清吸収によって、いずれも抗O157LPS抗体価はOD値0あるいはほぼ0近くまで低下した。O26およびO111抗原による吸収を行った場合でも抗O157抗体価はわずかに低下した。

### D. 結論

1) STEC O157実験感染牛の血清抗体価はIgM抗体価が感染初期(1~2週後)に上昇がみられ、IgG抗体価の上昇はそれに比べて遅く13~15週目から上昇がみられた。また、ほとんど抗体価の変化がみられないものもあった。

2) STEC O157保菌牛では実験感染牛の結果と比べ、抗体価の変動は小さかった。STEC O157が感染してから長期間経ったものではないかと推測した。ただし、採取回数が少なかったため採取期間以外の時期

に高い抗体価を示していた可能性も考えられる。

3) 吸収実験より、実験感染牛の血清で測定された抗O157抗体価は特異的な抗体によると考えられる。

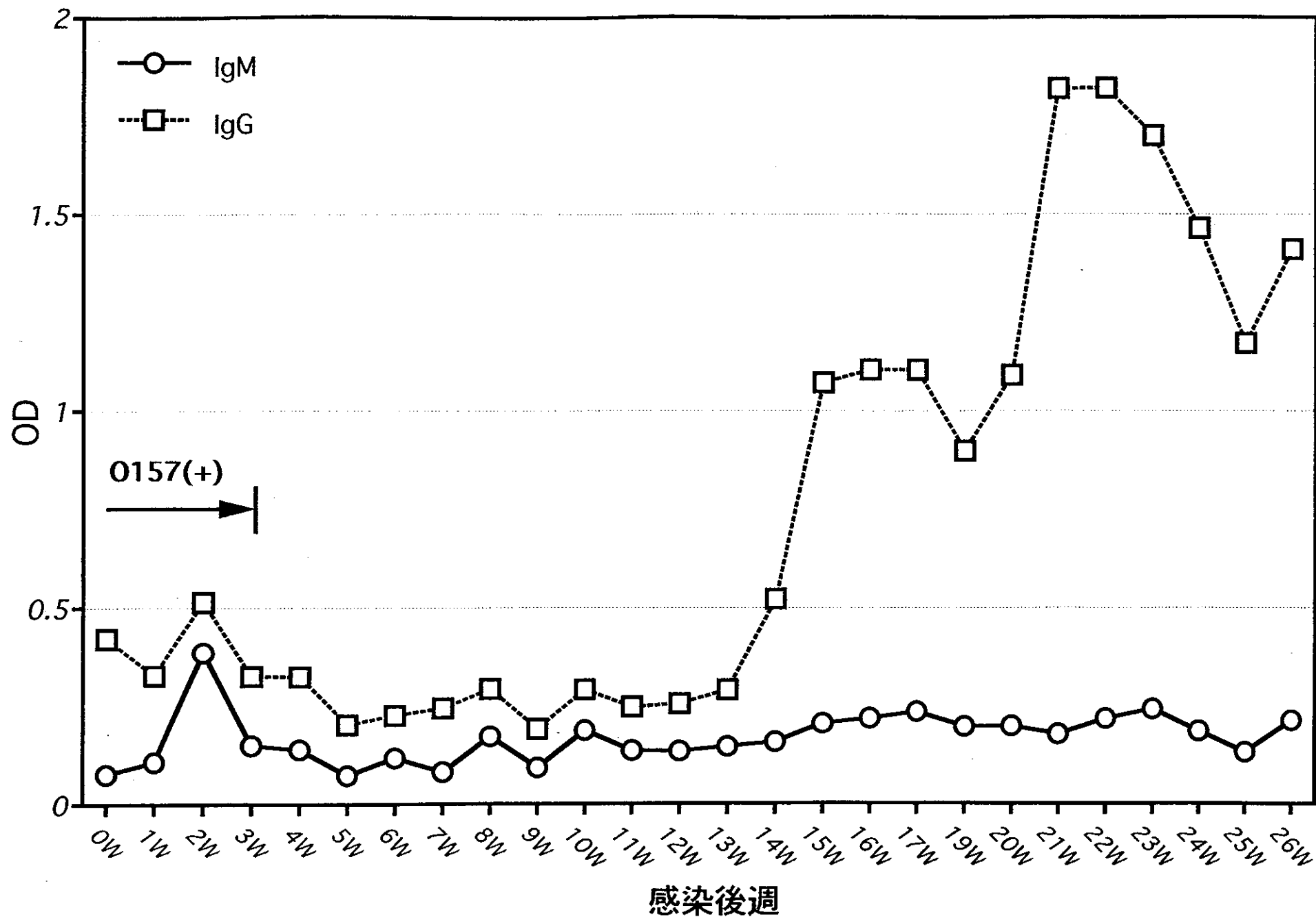


図1 : STEC0157実験感染牛B-1の0157に対する抗体価の推移と糞便中の0157の検出

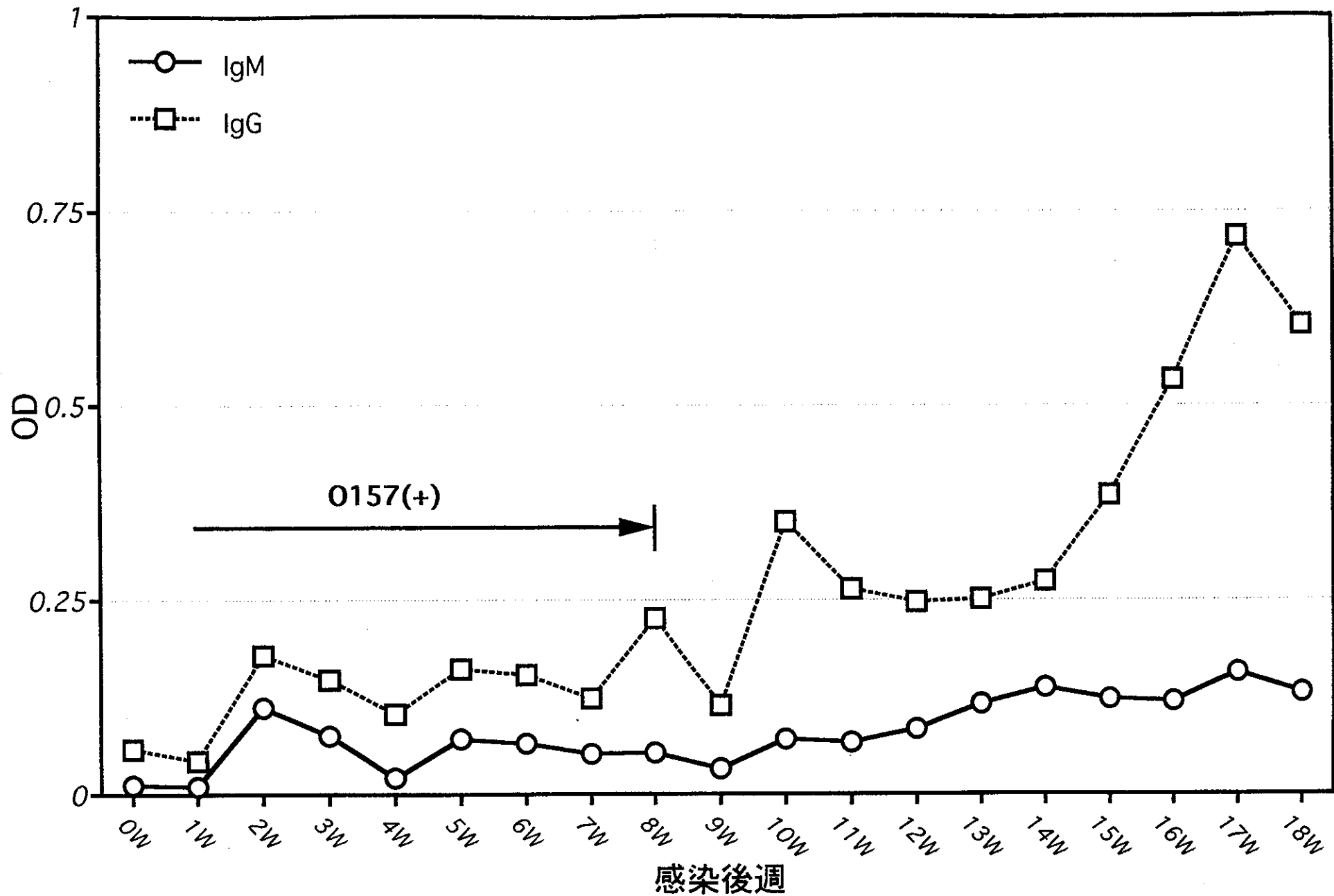


図2 : STEC0157実験感染牛B-2の0157に対する抗体価の推移と糞便中の0157の検出



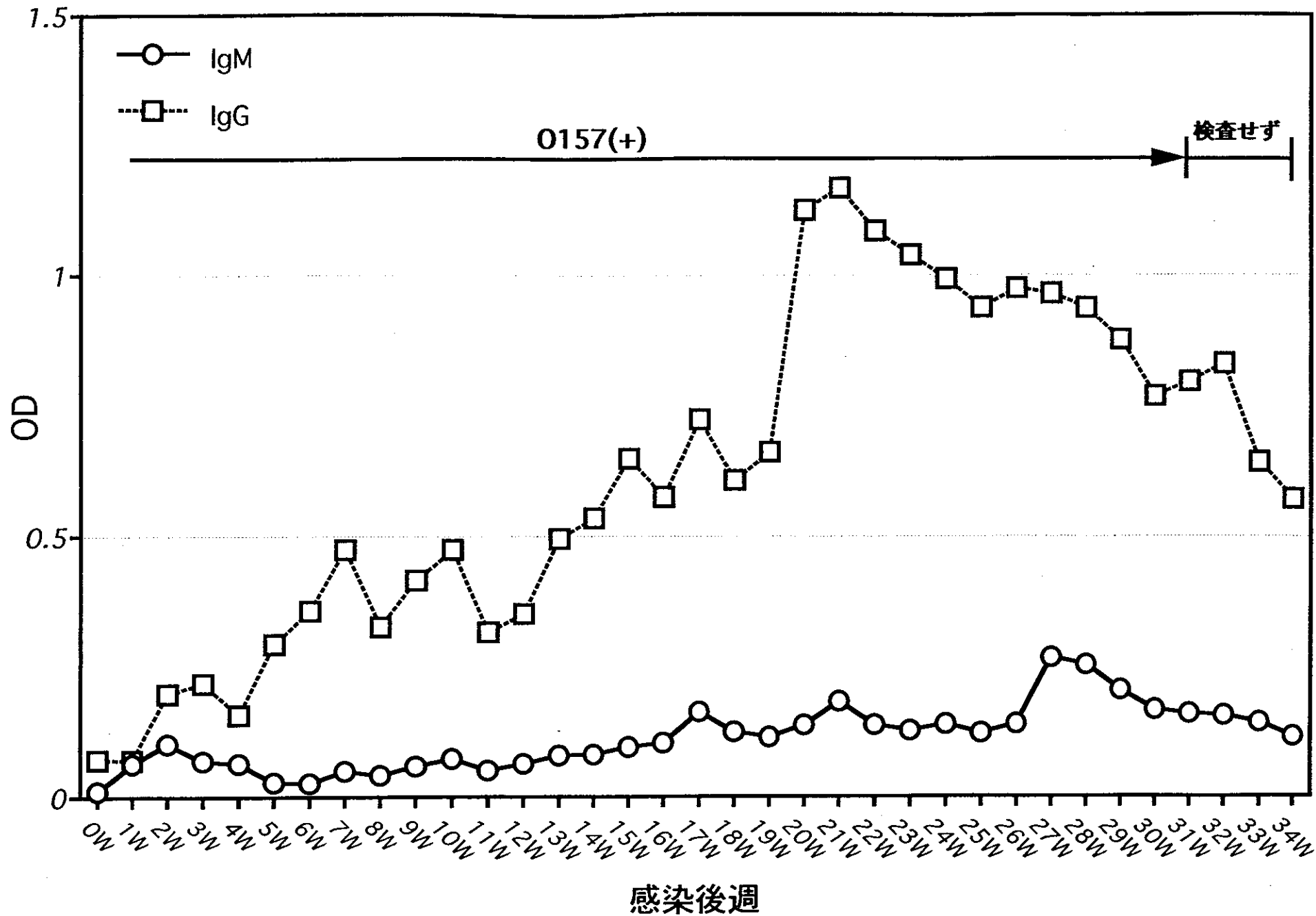


図3 : STEC0157実験感染牛B-3の0157に対する抗体価の推移と糞便中の0157の検出

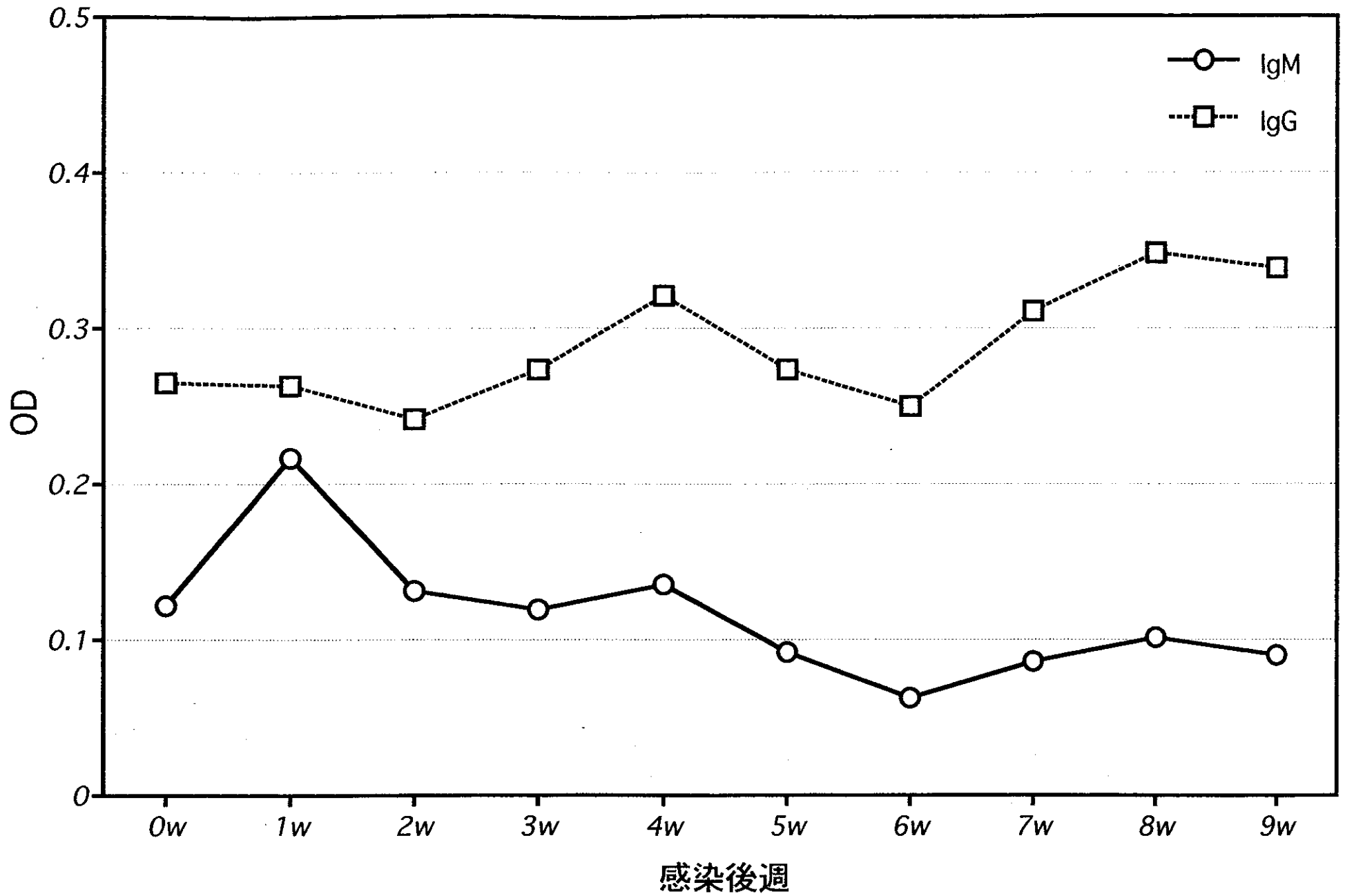


図4 : STEC0157実験感染牛C-1のO157に対する抗体価の推移

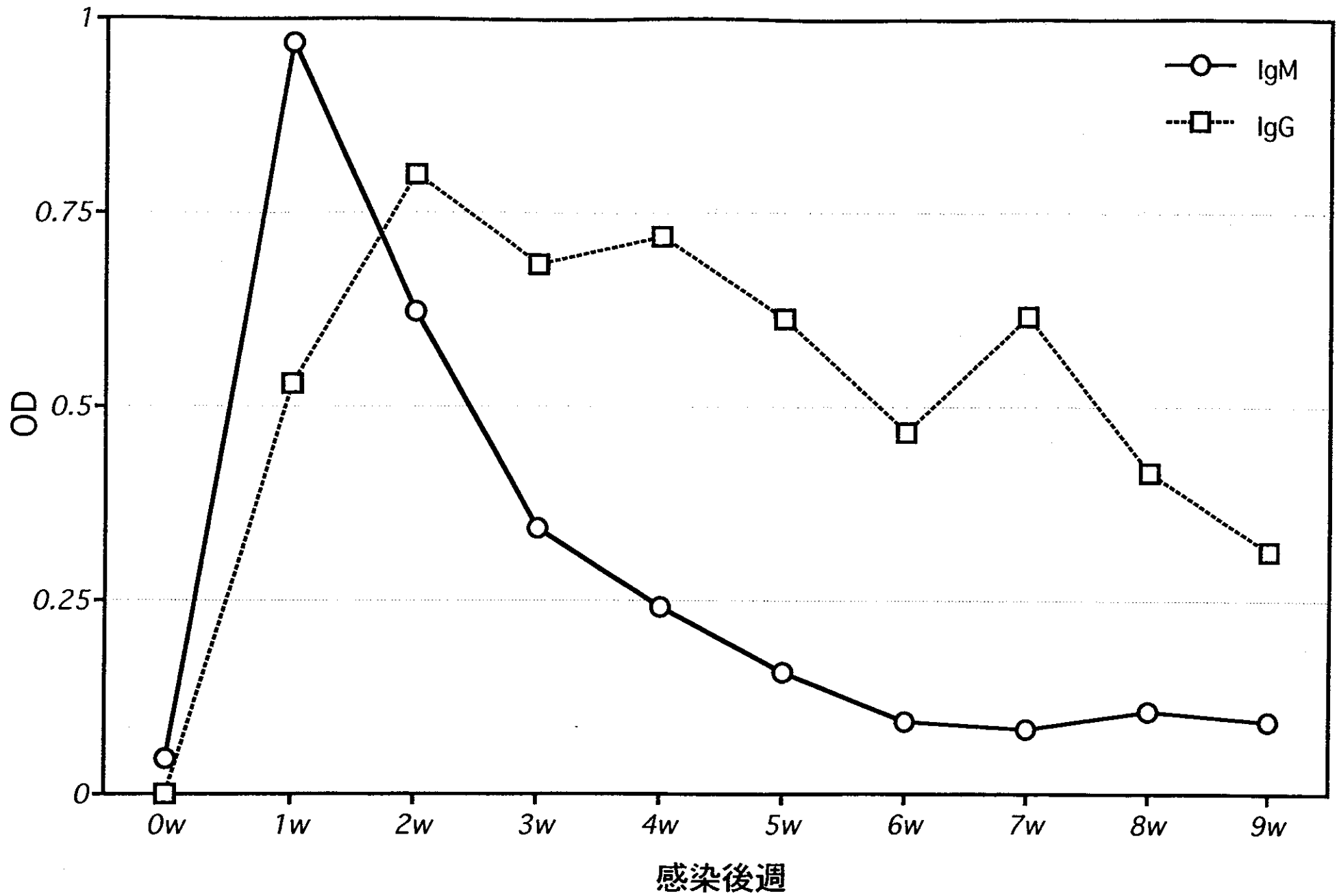


図5 : STEC0157実験感染牛C-2の0157に対する抗体価の推移

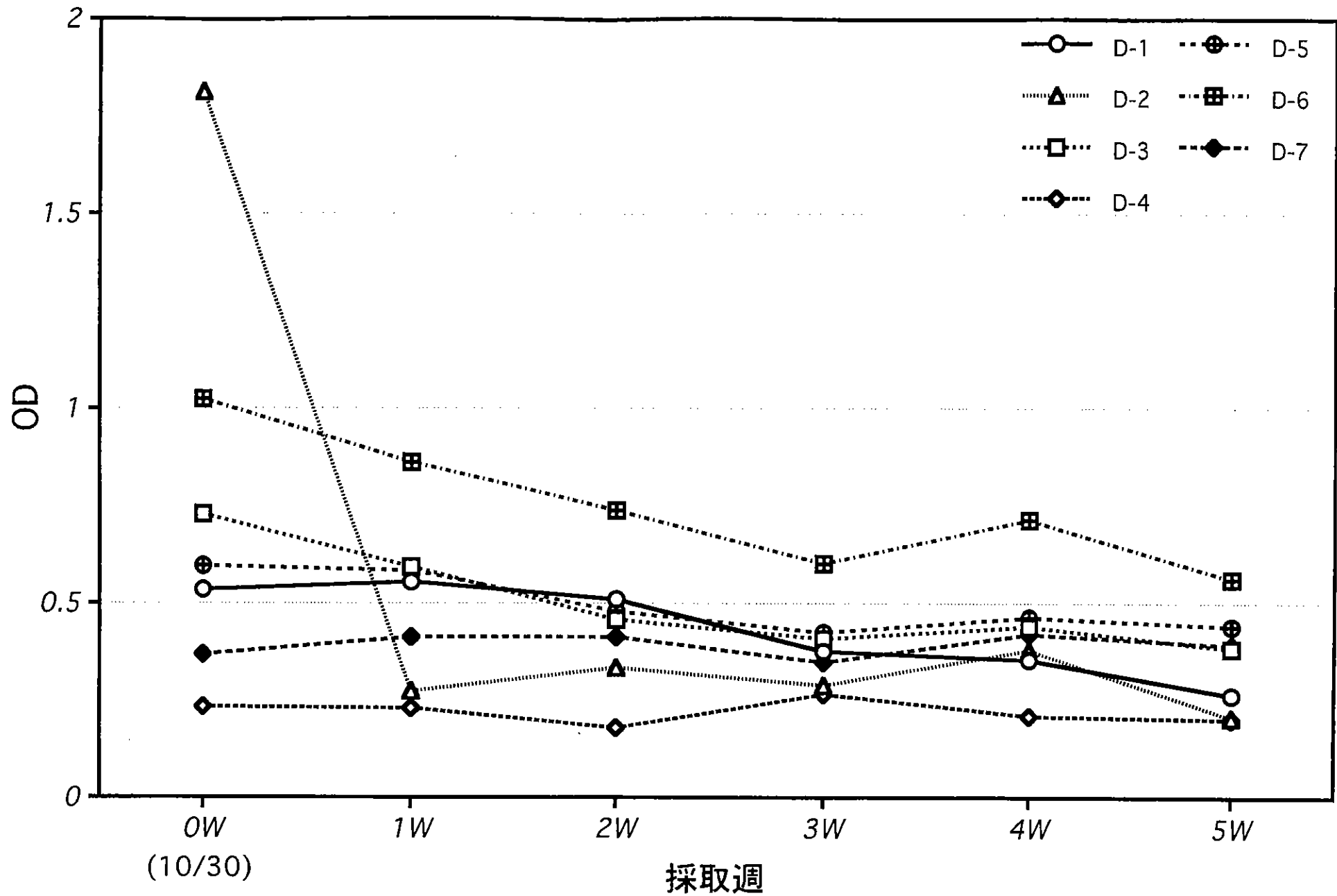


図6 : STEC O157保菌牛(D-1~7)のO157に対するIgG抗体価の推移