

図3 O26感染患者血清中の抗O26 LPS抗体と抗BSA抗体の散布図と回帰直線

- a: 抗O26 LPS IgG vs 抗BSA IgG
- b: 抗O26 LPS IgM vs 抗BSA IgM
- c: 抗O26 LPS IgA vs 抗BSA IgA

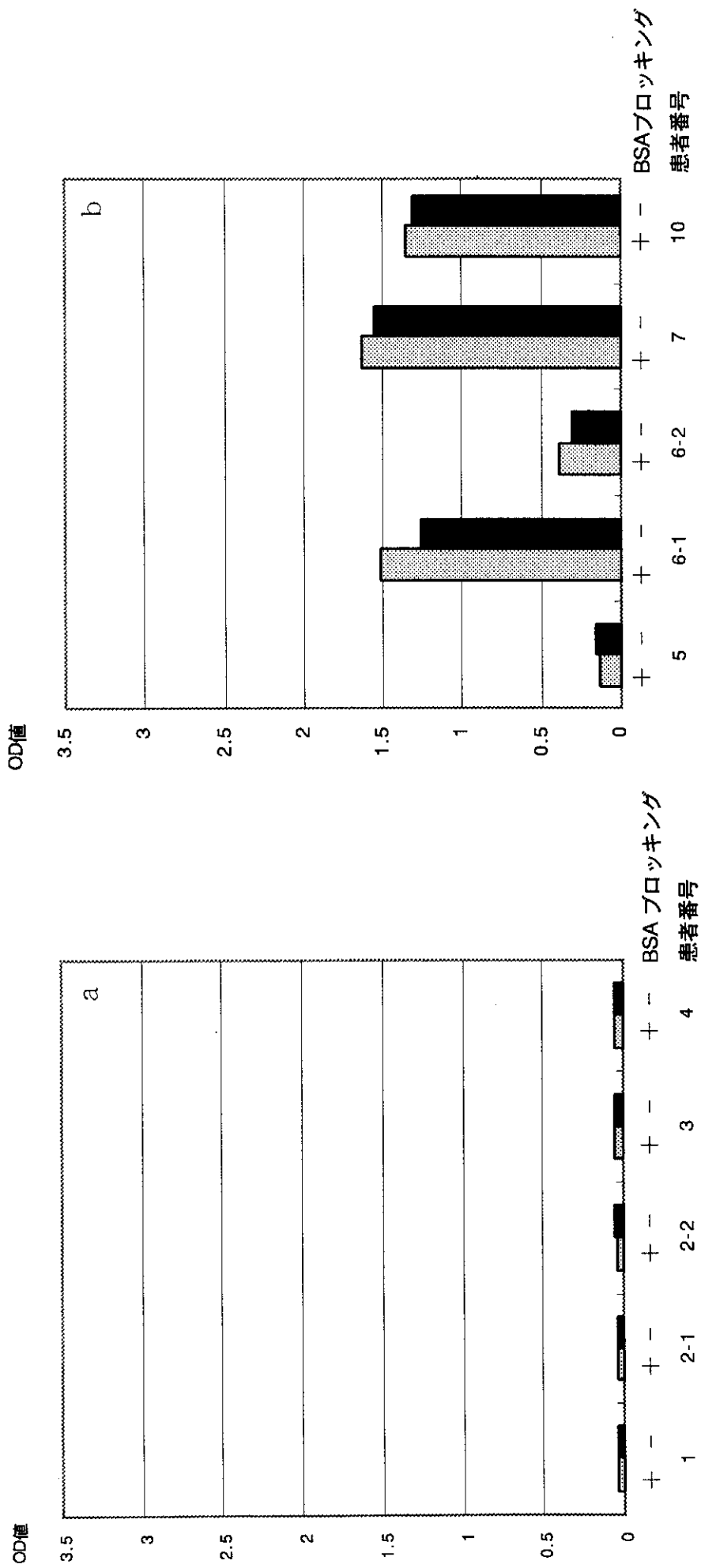


図4 BSAによるブロッキングの有無によるO157 LPSに対する抗体価 (OD値) の変化

a: BSA およびO157 LPSに対する抗体価が低値を示す血清  
 b: BSA およびO157 LPSに対する抗体価が高値を示す血清

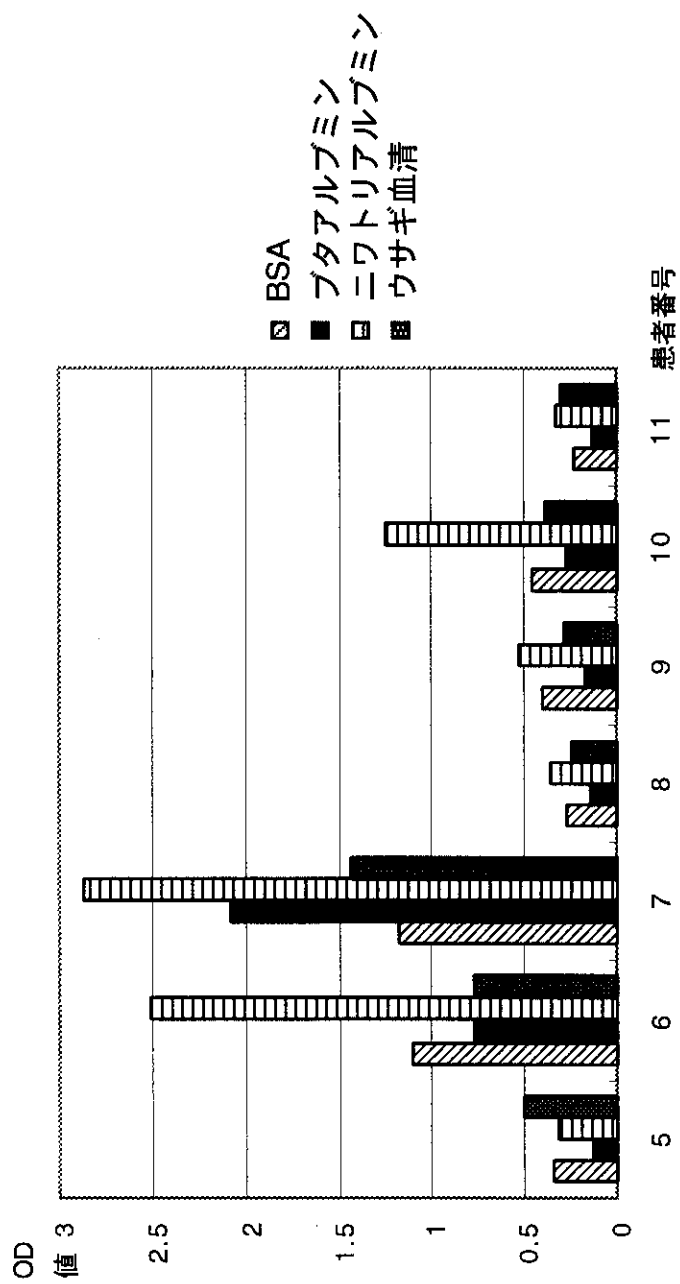


図5 BSAに対する抗体を持つ血清の他種アルブミンなどに対する反応

BSA およびO157 LPSに対する抗体価が高値を示す血清を用いて測定した。

#### 4. 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 松田いぶき（岩手大学農学部）

重茂克彦（岩手大学農学部）

##### 要旨

牛における腸管出血性大腸菌（STEC）O157, O26 および O111 保菌の制御を最終的な目的とし、子牛の感染防御に重要な役割を果たすと考えられる移行抗体の動態を明らかにするために、母牛の初乳及び子牛の血清中の抗 O157, O26, O111 抗体価の変動を調査した。さらに PCR 法により母牛および子牛の志賀毒素（STx）陽性大腸菌の保有状況を調査した。その結果、母牛の初乳は分娩直後に抗 O157, O26, O111 抗体を大量に含むこと、子牛に移行した抗体は少なくとも 1 ヶ月間持続すること、さらに初乳を接種した子牛の中には十分な抗体移行を示さない個体が存在することを明らかにした。また、STx 遺伝子の保有は、母牛では分娩前後で差はみられないが、子牛は経時的に保有率が上昇することが明らかになった。初乳を介する抗体移行を確実にする方策を検討し、子牛の感染防御を効率的に行うことが牛における STEC 保菌防止策に重要であると考えられる。

##### A. 研究目的

*Escherichia coli*（以下 *E. coli* と略す）は、腸内細菌科に属するグラム陰性の通性嫌気性の桿菌で、菌体表面のリポ多糖類の抗原構造の違いによって O1～O173、鞭毛の抗原構造の違いによって H1～H56 に分類される。一部のものには病原性が認められ、それらを総称して下痢原性大腸菌（diarrheagenic *E. coli*）と呼び、病原因子の違いによって腸管毒素原性大腸菌（enterotoxigenic *E. coli*; ETEC）、腸管病原性大腸菌（enteropathogenic *E. coli*; EPEC）、腸管侵襲性大腸菌（enteroinvasive *E. coli*; EIEC）、腸管凝集粘着性大腸菌（enteroaggregative

*E. coli*; EAggEC）、および腸管出血性大腸菌[（enterohemorrhagic *E. coli*; EHEC）または志賀毒素産生性大腸菌（Shigatoxin producing *E. coli*; STEC）]と呼ばれる5つのカテゴリーに分類される。そのうち志賀毒素産生性大腸菌（以下 STEC と略す）は志賀毒素と同一構造の Shiga toxin（以下 STx と略す）1 と志賀毒素と免疫学的性状や物理化学的性状が異なる（相同性 c.a. 50%）STx 2 を産生する。STEC に感染した場合、ヒトでは出血性大腸炎に罹患し、重篤例では、溶血性尿毒症症候群（Hemolytic Uremic Syndrome; HUS）や血栓性血小板減少性紫斑病（Thrombotic Thrombocytopenic

Purpura ; TTP) などを引き起こし、死亡者も見られる。特に、ヒトにおけるHUSを発症した例では O157、O26 および O111 などの血清型の STEC の排菌がよく見られ、ヒトの感染症の分野で重要視されている。現在、STEC の健康保菌動物として牛が重要視されており、牛の胃腸内容物からは STEC が検出されており、特に直腸内容物には STEC が高率に存在している。事実、米国において 1982 年から 1995 年にかけて報告された、約 80 件の STEC による集団食中毒事例の最も共通した原因は、調理前の牛の挽き肉であり、また欧米でも 1990 年代から STEC 感染症が急増し、原因として牛肉や加工過程の汚染が指摘されている。我が国においても、1996 年から STEC による集団食中毒事例が急増しており、発生原因食品は未だ不明な点が多いが、海外同様に感染源として牛が疑われている。

STEC 対策としては、牛の除菌対策や牛間での感染予防が必要である。特に子牛において高い感染率が見られることから、子牛の感染予防対策を確立することが重要である。

本研究では、子牛の感染防止に重要な役割を担っていると考えられる初乳の抗 O 抗体価 (IgG) と、初乳摂取による子牛の抗体価 (IgG) の変動を ELISA により評価した。さらに母牛と初乳摂取後の子牛の糞便を経時的に採取し、PCR 法により志賀毒素遺伝子 (STx1 および 2) の保有状況を調べた。

## B. 実験材料および方法

### 1) 検体

岩手県内の農場において、平成 11 年 2~4

月に分娩予定の母牛 (ホルスタイン種) について分娩前 (12~40 日) 27 頭、および分娩後 (0~1 日) 30 頭の血清、糞便、初乳と、出産後の子牛について生後 0~1 日 (32 頭)、7~10 日 (31 頭)、30~40 日目 (25 頭) の血清、糞便を経時的に採取した。また、母牛のうち 6 頭について分娩後の初乳を 0, 1, 2, 4, 6, 8 日目に採取した。

### 2) ELISA

ELISA は、抗原として O157、O26、O111 LPS を抗原とし、定法に従って行った。二次抗体は抗牛 IgG 抗体を用いた。

### 3) PCR

糞便 (1g) をノボピオシン加 EC ブイヨン (20 ml) に接種、培養 (37°C, 18h) 後、その培養液 1 ml をトリプトソイブイヨン (10 ml) に接種して再度培養 (37°C, 18h) した。その培養液 1 ml を遠心し、沈渣を滅菌水 (100  $\mu$ l) で懸濁、加熱 (100°C, 10 min) した後、遠心してその上清を採取し、これを滅菌水で 100 倍希釈してこれを PCR 試料とした。

PCR プライマーは STx1 および STx2 特異的プライマーセット (宝酒造) を用いて定法に従って行った。

## C. 結果および考察

### 1) 初乳中の抗体価

母牛 6 頭 (No. 720, 724, 805, 806, 759, 798) について分娩直後から 8 日間採取した初乳について、O157、O26 および O111 に対する抗体価をそれぞれ調べた。いずれの抗体価も分娩直後の初乳においてもっとも高く (ELISA 値: O157; 1.5~3.1, O26; 1.6~3.0,

O111; 1.4~2.5)、その後、5 頭は 1~2 日で急速に低下したが、残りの 1 頭 (No. 724) は 3 つの型に対して 4 日目でも抗体陽性を示した。しかし、6 日目以降は全頭とも陰性 (ELISA 値:  $\leq 0.3$ ) を示した (図 1, 2, 3)。分娩直後の初乳が子牛への抗体移行に重要であることが確認された。

## 2) 子牛抗体価の経時的推移

分娩後の子牛の O157, O26, O111 の抗体価の推移について調べた。O157 について、分娩直後の子牛は ELISA 値 0.3 以下のものが多く見られた (43.8%) が、7~10 日後では ELISA 値 0.3~0.6 のものが 32.3%と最も多く、また 0~1 日後に比べ抗体価の高いものが見られた。さらに 30~40 日後には ELISA 値 0.6~1.0 のものが 36.0%と最も多く見られた。0~1 日から 7~10 日にかけて、ELISA 値 0.3 以上の変化があったものは、上昇した検体が 31 検体中 16 検体、減少した検体が 7 検体だった。これに対して 7~10 日目から 30~40 日にかけて変化した検体は、上昇したものが 25 検体中 4 検体、減少したものが 5 検体であった。上昇した 4 検体中、3 検体は ELISA 値:  $\leq 0.5$  の変化であり、また減少した検体は、いずれも ELISA 値:  $\leq 0.6$  の減少だった。同様に O26 と O111 についても、O157 と同じ傾向が見られた (表 1)。これらの結果から、移行抗体は少なくとも 1 ヶ月まで持続することが確認された。しかしながら、分娩後 7~10 日、あるいは 30~40 日後でも抗体価が低い子牛が存在することから、初乳の抗体価あるいは子牛の抗体取り込みに個体差が存在することが推測された。

## 3) 母牛と子牛の STx 遺伝子保有状況

母牛および子牛の STx 遺伝子の保有について調べた。母牛については分娩前後でおのおの 18.5%と 23.3%と有意な差は認められなかった。これに対し子牛では分娩直後で STx 陽性は 26 頭中 1 頭 (3.9%)、7~10 日後で 10.7%、さらに 30~40 日後では 33.3%と明らかに増加する傾向を示した。また、同じ STx 型を続けて示した子牛は認められなかった (表 2)。また、STx 陽性を示した牛の糞便について O157, O26 および O111 の分離を試みたが、全く検出されなかった。STx 遺伝子はこれらの菌に由来するものではなく、他の抗原型の大腸菌に由来するものと考えられる。

以上、本研究により初乳中の STEC 抗体価はほとんどの牛で高値を示しているが、子牛の STx 保有率は高いことが明らかになったことから、子牛の保菌を減少させるためには今まで以上に子牛への抗体移行を確実にすることが必要であると考えられる。そのためには、母牛へのワクチン接種など、子牛への抗体濃度の高い初乳を投与する方策を検討する必要がある。

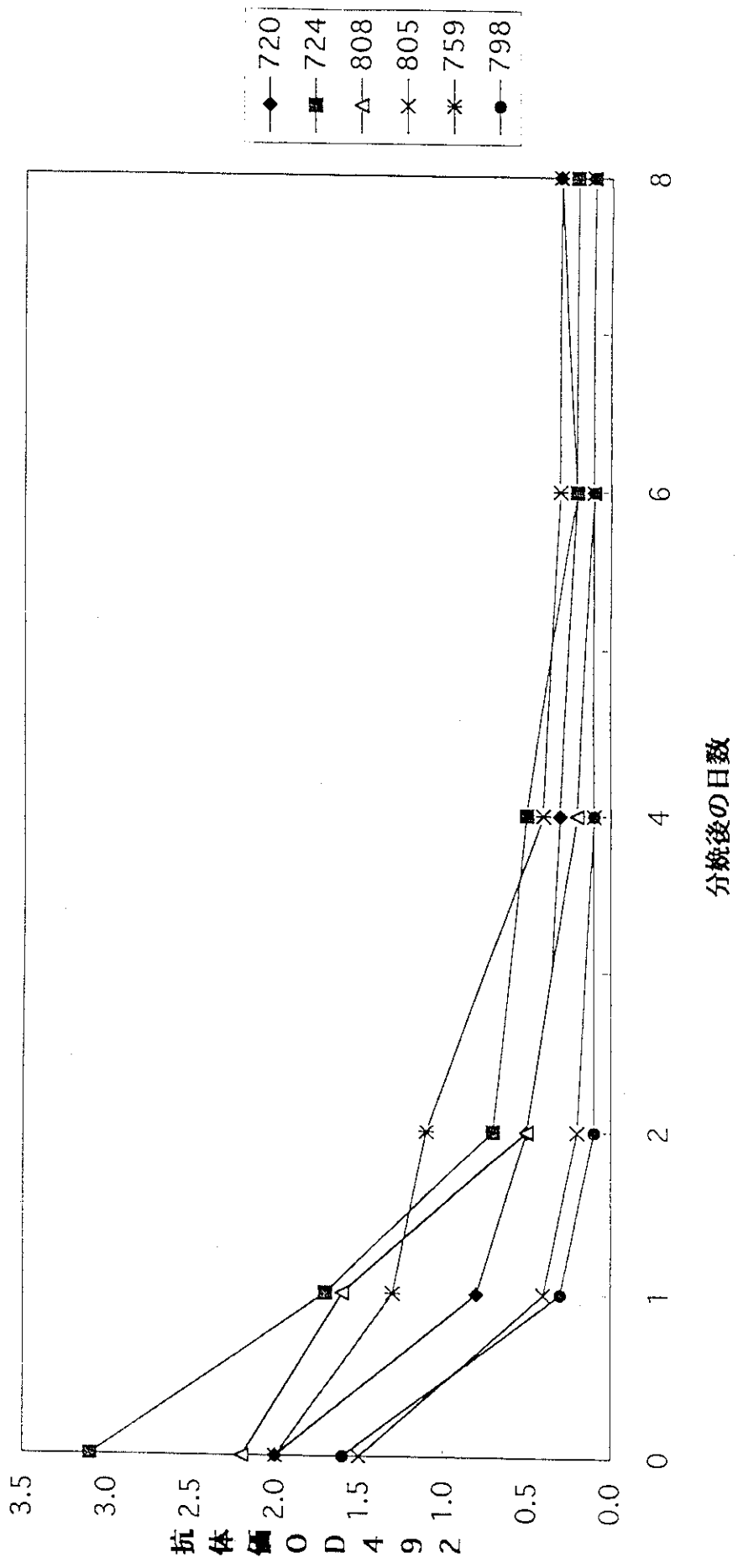


図1.初乳の0157抗体価

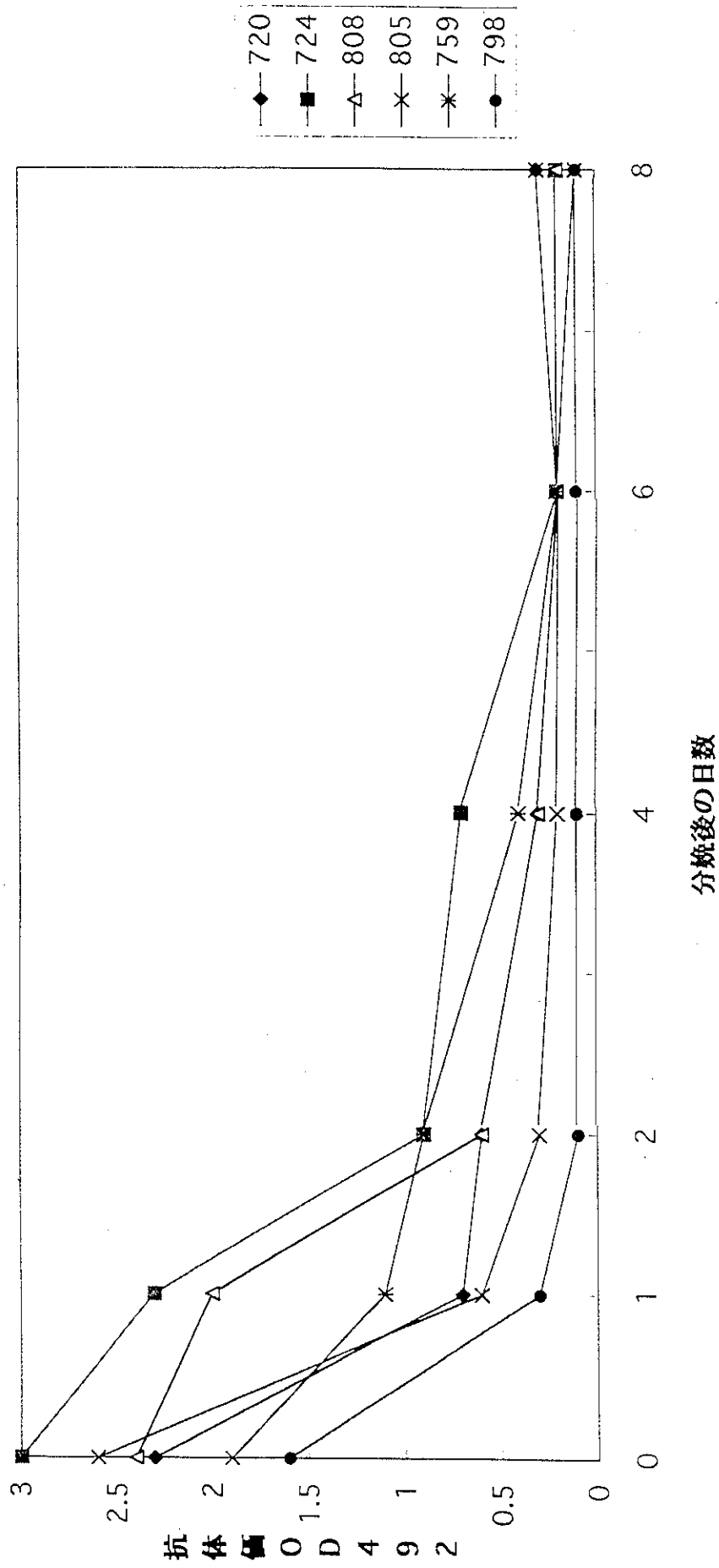


図2.初乳のO26抗体価



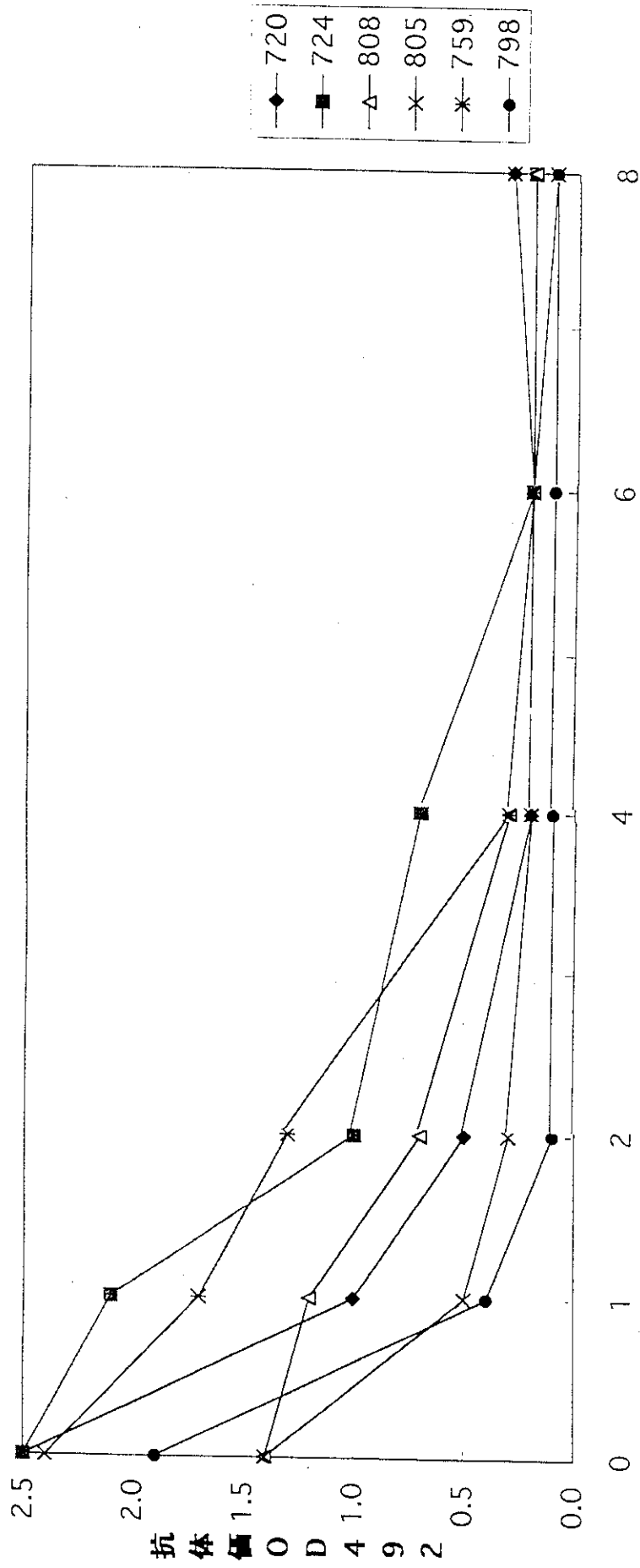


図3.初乳のO111抗体価

表1. 子牛抗体価の推移

血清型	抗体価	生後0~1日	7~10日	30~40日
	ELISA値	32頭 (%)	31頭 (%)	25頭 (%)
O157	0 ≤ 0.3	14 43.8%	7 22.6%	5 20.0%
	0.3 ~ 0.6	11 34.4%	10 32.3%	6 24.0%
	0.6 ~ 1.0	3 9.4%	6 19.4%	9 36.0%
	1.0 ~ 1.5	2 6.2%	7 22.6%	4 16.0%
	1.5 <	2 6.2%	1 3.2%	1 4.0%
O26	0 ≤ 0.3	12 37.5%	6 19.4%	4 16.0%
	0.3 ~ 0.6	5 15.6%	9 29.0%	8 32.0%
	0.6 ~ 1.0	8 25.0%	8 25.8%	10 40.0%
	1.0 ~ 1.5	3 9.4%	4 12.9%	3 12.0%
	1.5 <	4 12.5%	4 12.9%	-
O111	0 ≤ 0.3	12 37.5%	10 32.3%	6 24.0%
	0.3 ~ 0.6	8 25.0%	10 32.3%	7 28.0%
	0.6 ~ 1.0	6 18.8%	4 12.9%	7 28.0%
	1.0 ~ 1.5	6 18.8%	7 22.6%	4 16.0%
	1.5 <	-	-	1 4.0%

表2. 母牛と子牛のSTx geneの保有

検査対象	検体数	STx1	STx2	STx1,2	計	(%)
母牛 分娩前 (12~40日)	27	—	5	—	5	(18.5%)
分娩後 (0~1日)	30	1	5	1	7	(23.3%)
子牛 生後 (0~1日)	26	—	1	—	1	(3.9%)
(7~10日)	28	—	2	1	3	(10.7%)
(30~40日)	24	8	—	—	8	(33.3%)
	135	9	13	2	24	(17.9%)

\*:STx保有牛からは、STECO157、O26、およびO111は検出されなかった。

## 5. 厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業） 分担研究報告書

### 新興・再興感染症の情報及び支援機構の構築に関する研究

分担研究者 玉田 清治 岩手県衛生研究所長

**研究要旨** 新興・再興感染症発生時の情報網の整備と行政的支援機構の構築の最適化に役立てるため、今回、感染症情報ネットワーク構築の主要機能である感染症情報の収集提供及び共用、検査技術の向上等について県内の医療機関、保健所、家畜保健衛生所、民間検査機関の微生物検査機関36施設を対象に回答を得、各検査機関との関わりについて、その現状、問題点等を要約した。

#### A 研究目的

大学と県内の医療機関、保健所、衛生研究所、家畜保健衛生所及び民間検査機関等との関わりを探るため、感染症情報の収集提供及び共用活用、検査技術の向上等について県内の微生物検査機関を対象に調査を行い、地域の実情にあった各機関の連携のあり方を検討する。

#### B 研究方法

県内の医療機関、保健所、家畜保健衛生所、民間検査機関の微生物検査機関46施設を対象に、質問紙郵送法によるアンケート調査を平成12年1月に実施した。各設問における解析を加え、問題点の検討を行った。

#### C 研究結果

回答率は県の施設9カ所(90.0%)、県立病院等の施設22カ所(73.3%)、民間検査機関5カ所(83.3%)の計36カ所から回答が得られ、回答率は78.3%であった。

##### 1 感染症情報の収集提供及び共用活用について

- 1) 回答のあった36カ所の検査機関全てが、感染症情報の共用活用できるデータが必要と考えている。(表1)
- 2) 各試験検査機関についての共用できるデータとして必要な内容項目としては、検査機関の業務概要、所在地、組織、担当分野別名簿、特に力を入れている分野の順に必要なデータ項目とし

て回答が多かった。(表2)

- 3) 細菌、ウイルス性食中毒について、各機関が必要としているデータ項目としては、原因物質とその試験法(検査指針等)が多く、症状、菌株等の所有情報、治療法の順に回答が多かった。

(表3)

- 4) 感染症情報としては、35カ所の検査施設が地域における発生状況のデータを必要としており、地域における流行予測情報も併せて必要としている。(表4)

- 5) 図書等の情報では、学会研修会等の内容情報が必要な情報として強く求めており、図書のリスト、学会研修会の開催情報についても必要な情報として各機関とも希望している。(表5)

- 6) 情報を収集する相手機関として、県の施設では県の主管課から。また、県立病院等の施設は、衛生研究所、医師会、国の検査研究機関、保健所等から。民間検査機関では、保健所、衛生研究所等から情報収集する相手機関としている。そのほかに大学、民間検査機関を情報収集する相手機関として希望している。(表6)

- 7) 情報提供の利用手段としては、FAX、電子メール、郵送、電話による利用の順に各機関とも同じ意見であった。(表7)

- 8) 共有データを作成する機関として意見の多かった順は、衛生研究所、保健所、医科大学、大学の順で作成するのが良いという意見であった。そのほかには研究班、県でという意見もあった。一方、行政的配慮を必要としない機関(大学等)が

良いという意見があった。

## 2 検査技術の向上について

- 1) 各検査機関の微生物検査を担当している職員の数は、県の施設及び県立病院等の施設は 1~3 名、民間検査機関は 2~10 名で対応している。
- 2) 各施設における機器の整備状況については、現時点では十分という施設が 17、不十分という施設が 17 ヶ所と同数であった。(表 8)
- 3) 研修会を開催した場合の参加については、32 施設が出席を考えており、欠席は 3 施設となっている。年間 2 回の開催回数の希望意見が多数を占めている。このことから研修会の開催は、検査技術の向上に有意義と考える。また、研修会の内容については、技術研修、セミナーの開催、講演会の開催の順に希望が多い。(表 9、表 10)
- 4) 各検査機関における試験法等に関する情報の入手先は、定期刊行物、各種ジャーナル誌、インターネット文献検索情報の順に利用されている。(表 11)
- 5) 検査機関相互に検査及び技術協力等で連携している機関は 25 施設。連携していない 10 施設でも連携する必要があると考えている。また、各施設とも検査機関相互に検査及び技術協力等が円滑に推進するための連携システムの構築が必要と考えている。  
(表 12、表 13)
- 6) 各施設とも、連携先として衛生研究所が多く、次に保健所、民間検査機関、大学、国立検査機関と連携する必要があると考えている。(表 14)
- 7) 食中毒、伝染病、感染症等での緊急検査依頼については、22 施設で対応したことがあり、その検査対応に満足している施設は 11 施設となっている。他の 11 施設は緊急時を考えると不安と答えている。また、今まで緊急検査依頼のない施設では今後緊急検査が予想されると答えている。(表 15)
- 8) 寄生虫の検査は 23 施設で行っており、その内 15 施設が県立病院等の施設

で回虫、蟯虫の検査を行っている。薬剤耐性菌の検査についても検査を行っている 21 施設の内、16 施設が県立病院等の施設が検査を行っている。薬剤耐性菌の検査を行っていない施設で薬剤耐性菌の検査をする必要があると答えた施設は 1 施設であった。(表 16、表 17)

## D 考察

- 1) 感染症情報の収集、整理、分析、提供については、今後、衛生研究所が「感染症情報センター」機能を分担することとなれば、感染症発生動向調査委員会の解析、評価の資料もあわせた情報を衛生研究所が提供することになると考える。
- 2) 情報提供手段は、FAX、郵送が基本となると考える。
- 3) 情報提供にあたっては、検査結果の扱いを十分に考慮し、情報公開等の問題があり慎重な取扱が必要と考える。
- 4) 各施設では、研修会の開催を期待しており、特に県立病院等では転勤があり、長くひとつの検査に携わることが難しい、そのため技術、知識的に未熟なまま検査している施設が少なからずあると感じている。そこで衛生研究所、大学等との検査、技術協力等が各検査機関と円滑に推進するための連携システムの構築が必要と考えている。
- 5) 県内には県立病院をはじめ多くの医療機関があり情報伝達をどのように円滑に行うかが重要と考える。医師会においても感染症情報ネットワークの構築に期待をしているところであり、県、医師会の協力を得ながら感染症情報ネットワークの構築と強化を図ることが必要と考える。
- 6) 情報の提供、検査技術の向上及び大規模災害時の検査体制としての指示、協力等の連絡網の設置が必要と考える。アンケート集計結果と上記考察を包括した新興・再興感染症の情報及び支援機構(感染症情報ネットワーク)の構築を進めるにあたって、県内各検査機関においては前向きな意見があり、今後、感染症情報ネットワークの構築について具体的な検討を推進していく必要があると考える。

# アンケート集計表

表 1

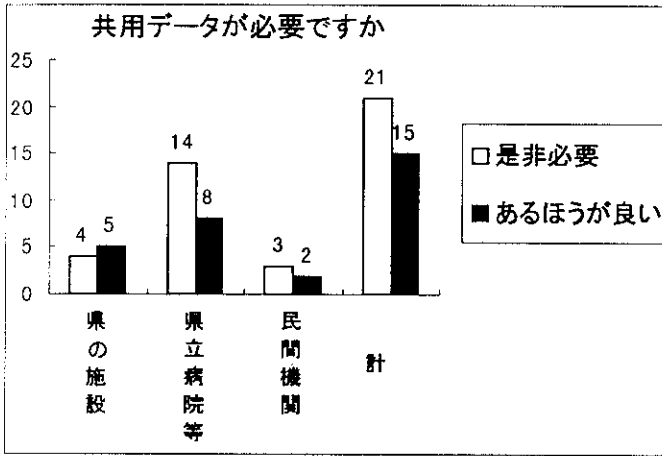


表 4

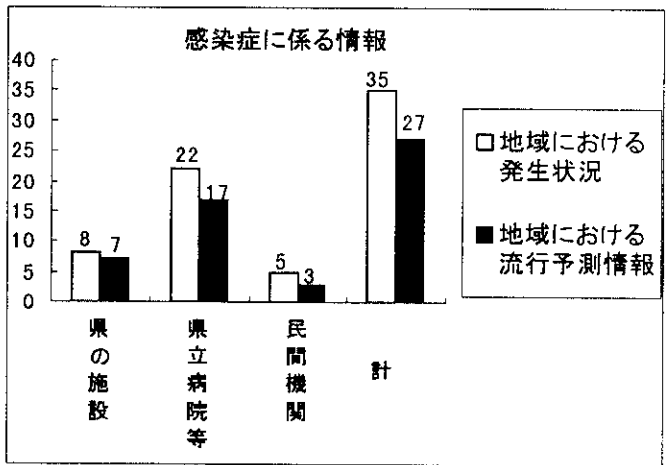


表 2

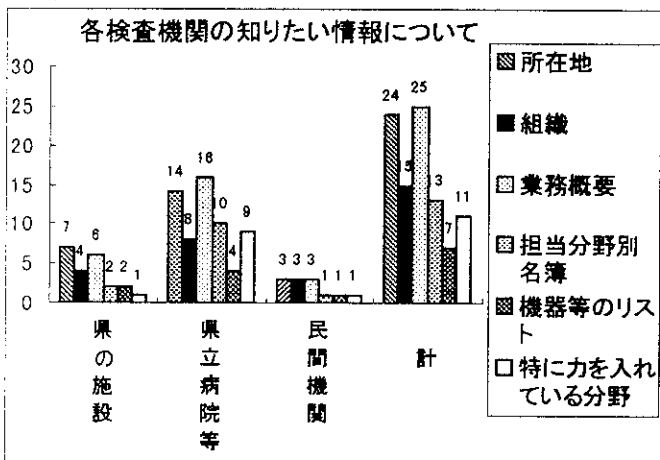


表 5

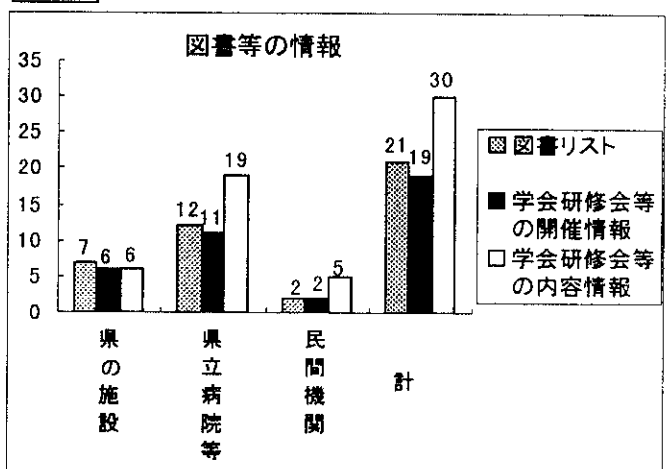


表 3

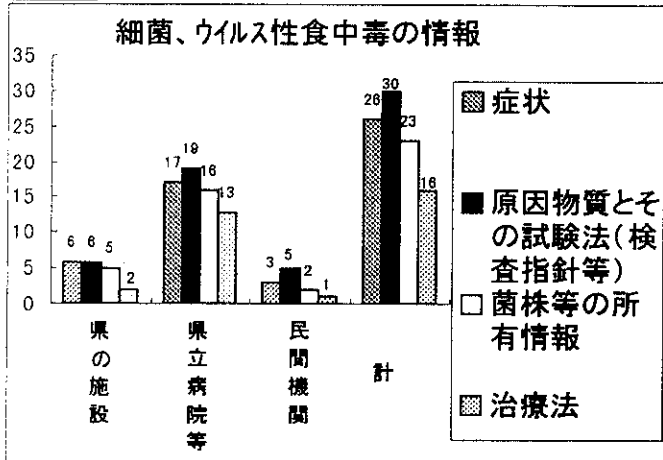


表 6

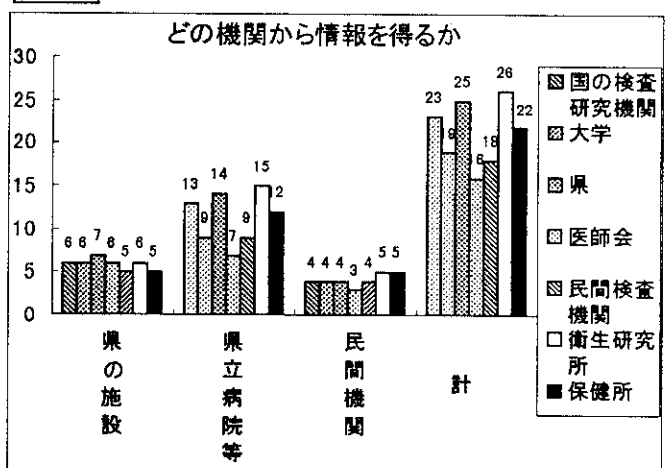


表 7

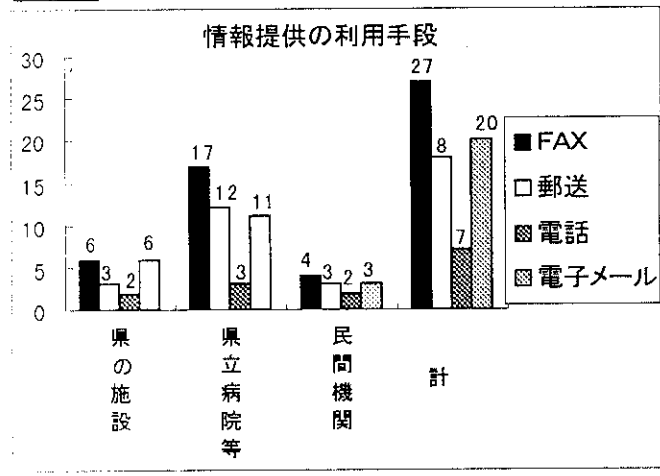


表 10

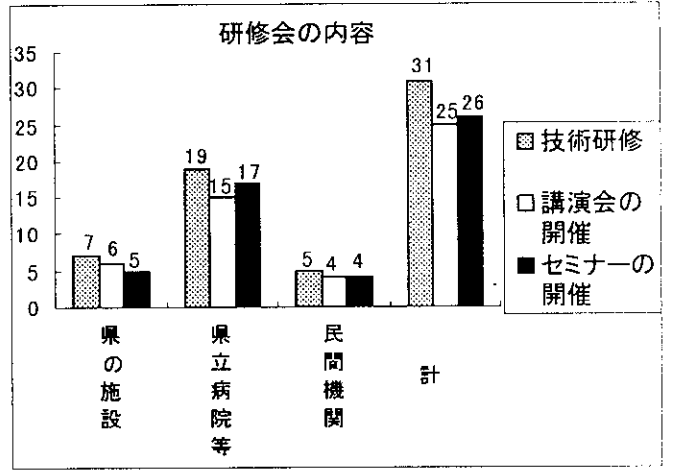


表 8

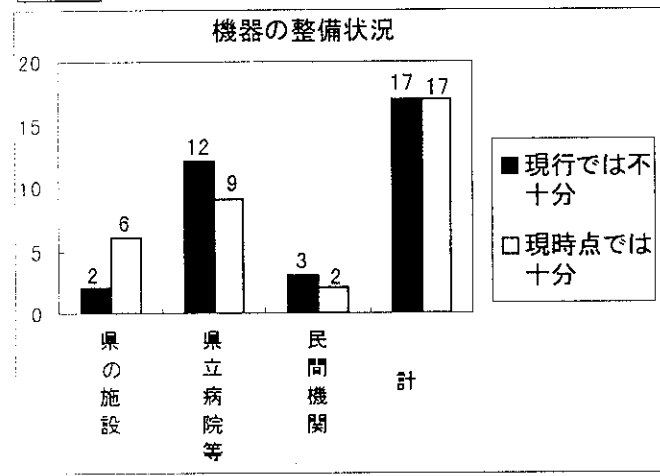


表 11

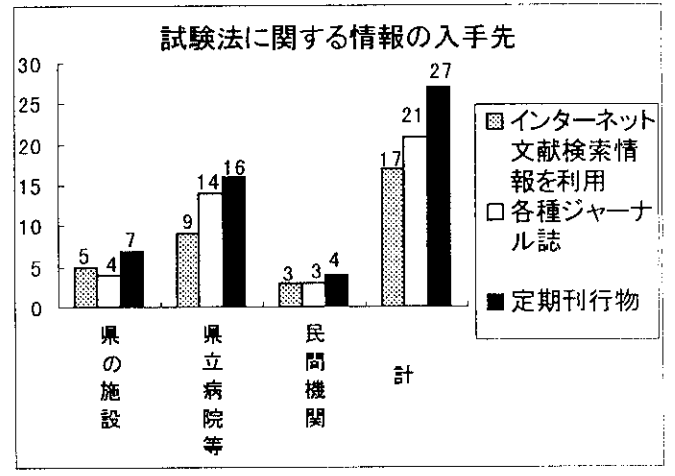


表 9

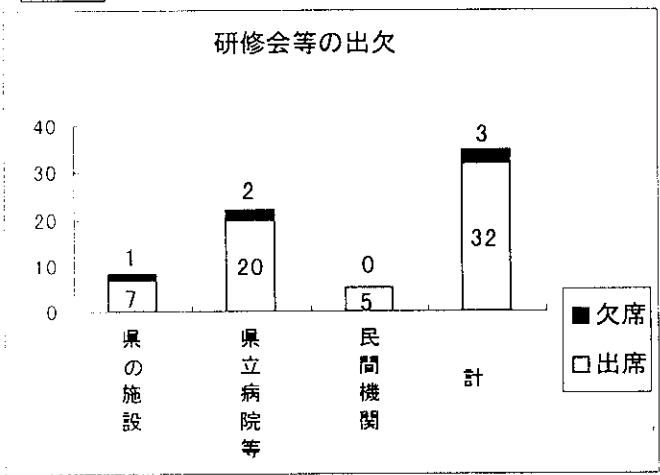


表 12

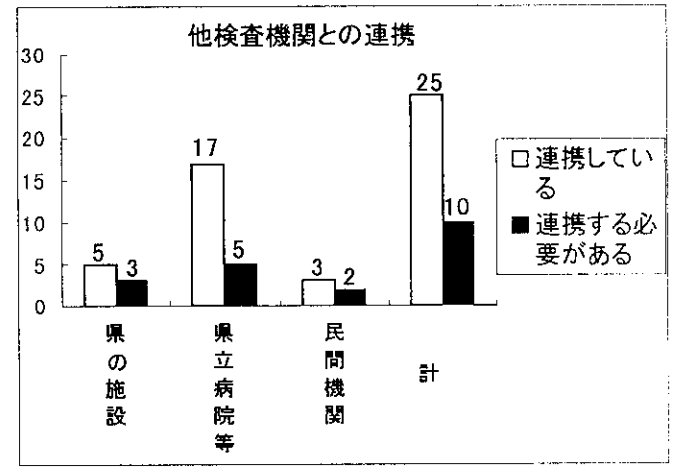


表 13

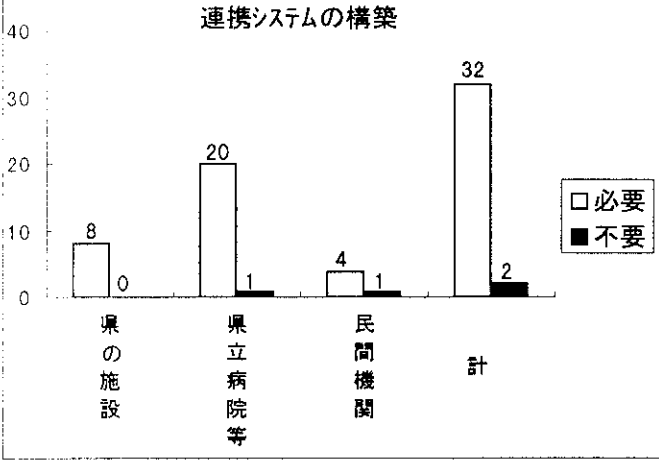


表 16

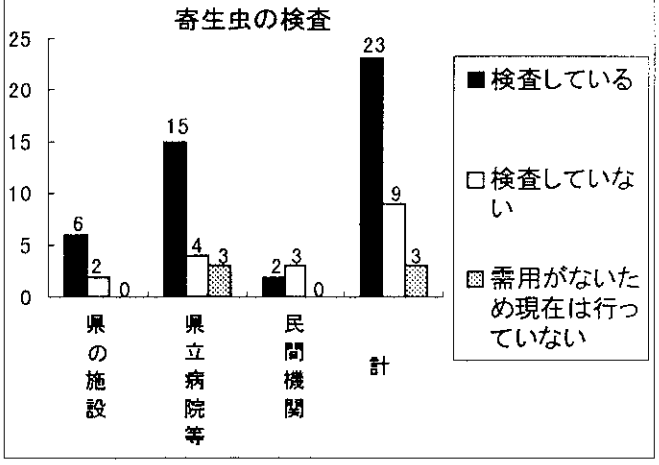


表 14

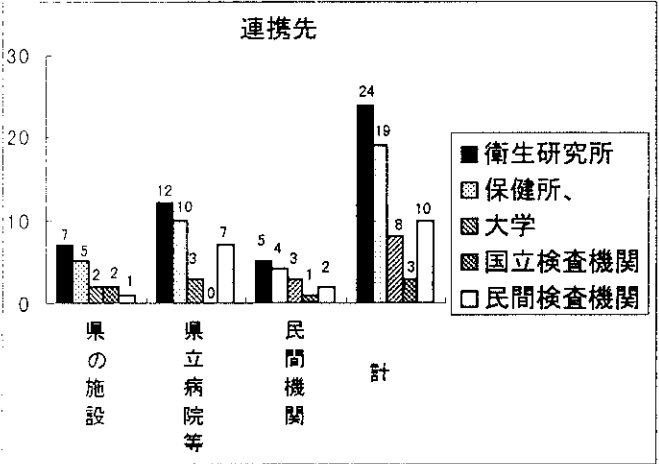


表 17

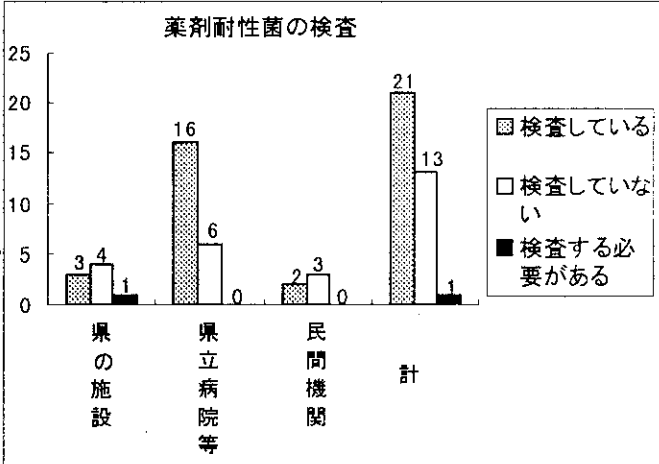
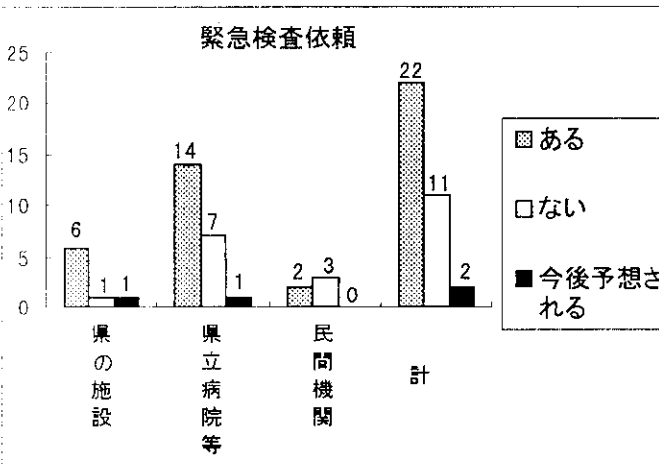


表 15





アンケート調査

記入公所機関等名 \_\_\_\_\_

1. 感染症情報の共用、交換機能について

① 共用活用できるデータが必要と考えますか

- 是非必要
- あるほうが良い
- 必要ない

ご意見

② 共用活用できるデータについて、どのような種類の情報と内容が必要ですか

(複数回答可)

ア) 各試験検査機関の概要について

- 所在地
- 組織
- 業務概要
- 担当分野別名簿、  特に力を入れている分野
- 機器等のリスト
- その他 ( )

ご意見

イ) 細菌、ウイルス性食中毒について

- 症状
- 原因物質とその試験法 (検査指針等)
- 菌株等の所有情報
- 治療法
- その他 ( )

ご意見

ウ) 感染症について

- 地域における発生状況
- 地域における流行予測情報
- その他 ( )

ご意見

エ) 図書等の情報について

- 図書リスト
- 学会研修会等の開催情報
- 学会研修会等の内容情報
- その他 ( )

ご意見

オ) どのような機関から情報を収集するか

- 国の検査研究機関
- 大学、  民間検査機関
- 県、  衛生研究所、  保健所
- 医師会、  その他 ( )

ご意見



⑦ほかの検査機関と検査及び技術協力等を円滑に推進するための「連携システムの構築」が必要ですか

- 必要
- 不要

⑧現在、何処と連携していますか、又は何処と連携する必要がありますか

- 衛生研究所 (複数回答可)
- 保健所、 民間検査機関
- 大学
- 国立検査機関
- その他 ( )

⑨緊急検査依頼がこれまでにありましたか (複数回答可)

- ある ( 食中毒  
伝染病  
感染症  
その他 ( ) ) ⇒ ( その検査対応は満足している  
緊急時を考えると不安 )
- ない
- 今後予想される

⑩寄生虫の検査について

- 検査している (寄生虫名 )
- 検査していない
- 需用がないため現在は行っていない

⑪薬剤耐性菌の検査について

- 検査している
- 検査していない
- 検査する必要がある

ご意見

ご協力ありがとうございました

## 6. 岩手県における腸管出血性大腸菌分離株の地理的分布について

分担研究者： 中村義孝（岩手県盛岡保健所長）

### 研究要旨

平成9年、10年、11年に分離されたStx陽性腸管出血性大腸菌の分布を岩手県の保健所管区別に比較したところ、盛岡管区が連続して最も分離数が多かった。平成10年の盛岡管区の発生の地理的分布の調査では、特定の地域の偏りはみられなかった。過去3年間でStx陽性菌の型はO114の1例（盛岡管区）以外はすべてO26、O157、O111に属していた。

#### 研究目的

腸管出血性大腸菌の経年的発生状況、および地理的発生分布を調べ、感染源あるいは感染経路を推測することを目的とした。

#### 方法

岩手県保健衛生課の腸管出血性大腸菌O157等発生状況（保健所別）の資料、および岩手県盛岡保健所ペロ毒素検査検体数資料を用いた。

#### 結果

Stx陽性の腸管出血性大腸菌の分離状況は岩手県全県では55例（平成9年）、54例（平成10年）、80例（平成11年）であり、平成11年が過去3年で最も多かった。季節別では例年とも夏期（6～9月）に集中しており、平成9年、84%（46/55）、平成10年、87%（47/54）、平成11年、90%（72/80）であった。いずれの年も盛岡管区での発生件数が最も多く、平成9年（図1）、29/55（53%）、平成10年（図2）、28/54（52%）、平成11年（図3）、40/80（50%）と全発生数の50%強を占めていた。

盛岡管区におけるペロ毒素陽性菌の総ペロ毒素検査検体数に占めるの割合は、平成9年（4～12月）、30/751（4.0%）、平成10年、28/787（3.6%）、平成11年、40/732（5.5%）であった。血清型別では全県下、盛岡保健所管区とも3年を通じてO26が最も多く、ついでO157、O111の順であった。全県下での血清型は、平成9年、O26（27）、O157（25）、O111（3）、平成10年、O26（39）、O157（12）、O111（2）、O114（1）、平成11年、O26（44）、O157（23）、O111（3）、UT（1）であった。

平成10年度の盛岡管区におけるO26、O157、O111（ペロ毒素陽性、陰性を含めて）の地理的発生分布を調べた結果、40カ所以上に分散されており、家族内での発生以外、特定の地域による発生は認められなかった。

#### 考察

過去3年間におけるStx陽性O26、O157、O111の発生と地理的分布を調査したが、特定の傾向は認めがたく、感染源の調査には今後、市販の食品の検査などを積み重ねてゆく必要があると考えられた。