

氏名 (本籍)	大久保 忠 敬 (福岡)
学位の種類	獣医学博士
学位記番号	乙 第 92 号
学位授与の日付	昭和51年11月29日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題名	病原大腸菌に関する細菌学的研究——人・動物・その他自然界由来の病原大腸菌とその血清学的性状を中心として——
論文審査委員	(主査) 教授 今 井 信 実 (副査) 教授 山 田 俊 雄 教授 田 中 享 一

### 論 文 内 容 の 要 旨

食品衛生の重要な目的は、安全でかつ無害な食品を生産し、供給することにある。とりわけ、その中での食品と微生物、特に細菌との関係は、細菌性食中毒、経口伝染病、変質（腐敗、変敗）等に大きく関連し、食品衛生上の重要な問題となっている。特に食中毒は、食品の安全性という立場から見て、食性急性病害の中で、経口伝染病と共に最も普遍的で重要なものであり、そのうち細菌性食中毒は、食中毒の中でも最も発生頻度が高く、重要視されている。細菌性食中毒はその発生機序から見て、サルモネラや腸炎ビブリオ等の感染型、ブドウ球菌やボツリヌス菌等の毒素型、又セレウス菌や腸球菌等の中間型の3型に分類されている。この感染型の一つにここ数年来重要視されてきた病原大腸菌がある。

そもそも大腸菌 (*Escherichia coli*) は人や動物の腸管内に正常菌叢の一種として常在し、又糞便汚染に起因して広く自然界や食品材料等に分布している。これらの大腸菌は、その腸管外感染において、一次的ないし二次的に化膿性疾患や敗血症等の原因となり得ても、食中毒の主たる原因になることはまずない。この様な正常大腸菌とは異なり、乳幼児の伝染性下痢症、あるいは児童、成人の急性胃腸炎や赤痢様腸炎を惹起する抗原型の一群の大腸菌が、所謂病原大腸菌 (*Enteropathogenic Escherichia coli*) といわれている。

病原大腸菌による食中毒は、食物の中で大量に増殖した本菌を摂食する為に起り、症状はサルモネラ食中毒に類似している (サルモネラ型)。ただし一般にサルモネラ食中毒の場合よりはやや軽症のことが多いが、乳幼児に感染する際は、かなり激しい症状を呈し、赤痢とほとんど変わらないといわれている (赤痢型)。又本菌は人から人へ感染し、発病するので、きわめて危険であり、この場合は食中毒としてではなく、伝染病として取扱い必要があると指摘されている。

我国で病原大腸菌による食中毒事件は、腸炎ビブリオやサルモネラ、ブドウ球菌食中毒よりもやや少ないが、毎年かなり発生している。昭和42年の厚生省統計を例にとれば、発生件数こそ少ないが、細菌性食中毒の中で占める患者数の割合は、サルモネラの16.5%、ブドウ球菌の14.7%をはるかにしのぎ、腸炎ビブリオの39.7%に次いで24.1%の多きに達している。しかし本菌検索の繁雑さの為、本菌検索を実施していない検査機関もあり、又本菌赤痢型病原大腸菌は、赤痢菌との間に同一抗原もしくは共通抗原を有するものもあり症状は赤痢に類似する為に、過去において、本菌が赤痢菌と見誤られた場合もあり、本菌食中毒の実態はかなりの数に及んでいるものと思われる。

病原大腸菌の最初の発見者は、英国の Biay (1945) で、死亡率の高い乳幼児の下痢症の流行に際し、その原因として特殊な大腸菌 (*Bacterium coli neapolitanum*) を報告したことに始まり、これに続いて Kauffmann を中心とした北欧学者による大腸菌の血清学的分類は、病原大腸菌の究明に寄与したことは大きい。

かくして1950年以降、多くの研究者によって乳幼児下痢症及び胃腸炎を中心として病原大腸菌の検索が行なわれ、1972年までに18種血清型が報告されるに至ったが、最近更に約10種の新しい血清型が追加検討されつつある。

乳幼児胃腸炎由来の病原大腸菌は、児童、成人にも起病性が認められる。我国では乳幼児はほとんど家庭で保育される為、外国の様に大きな社会問題になる様な集団感染はあまり見られない。その為にここ10数年来我国では、病原大腸菌の研究は主として食中毒起因菌として関心が向けられてきた。又人の病原大腸菌の中には、人に起病性を示すばかりでなく、牛の乳房炎、仔牛、鶏、仔豚の下痢あるいは敗血症等にも関係し起病性に人獣の共通性が認められるものもある。

病原大腸菌による下痢一食中毒は、以前からかなり多かったものと思われるが近年本菌検査法の進歩につれて、次第にこの下痢一食中毒の実態が明らかにされその重要性が広く注目される様になってきた。しかしながら本菌下痢一食中毒は今後サルモネラやブドウ球菌食中毒と同様に更に重要視されるであろうと推測されるにも拘らず、本菌の疫源、特に自然界における生態はサルモネラと同様であろうといわれているだけで、現在それを裏付けするものはなく、正確なことは不明である。これは本菌に関して適当な選択分離培地がなく、又病原大腸菌と一般大腸菌との鑑別には、ただ血清学的型別以外に方法がない為であろう。以上のことから著者は、食品衛生の将来における病原大腸菌の来たるべき位置に鑑み、本菌群の自然界における分布状態を正しく把握することは、人への感染の疫源を明らかにし、病原大腸菌による下痢一腸炎並びに食中毒の予防上重要な問題であると考え、病原大腸菌による汚染源、更に人と動物の相互関係を明かにし、公衆衛生に寄与すべく本菌の所在と態様を動物及び自然界から分離された大腸菌を中心に研究した。

1967年8月から1970年2月にわたる期間において、病原大腸菌の疫学調査を、人、牛、馬、豚、愛玩犬、野犬、鶏、猫、緬羊、家兎の各糞便、河川水、海水、井戸水、浄化槽放流水、屠場内下水、屠場廃水、市販カキ、養殖カキ及び天然カキを対象に実施し、分離菌を中心に本菌の選択的増菌培地、選択的分離培地の比較検討、分離株の各種薬剤感受性試験並びに抗体因子吸取試験を行ない考察した。

1) 資料2,041例より15,044株の大腸菌を分離し、そのうち本菌陽性材料は109例(5.3%)で、15種血清型187株(1.2%)の本菌が検出された。

2) 本菌が検出された資料は、市販カキ(29.2%)、猫(17.9%)、屠場内下水(13.6%)、牛(7.9%)、野犬(7.1%)、屠場廃水(6.7%)、豚(6.3%)、人(3.6%)、浄化槽放流水(3.3%)、河川水(2.2%)、海水(2.1%)であった。しかし、馬、愛玩犬、鶏、緬羊、家兎、井戸水、養殖及び天然カキから本菌は検出されなかった。

3) 分離菌15種血清型187株の内訳は O-112a:c:K66 (B11) 29株(15.5%)、O-128:K67 (B12) 28株(15.0%)、O-136:K78 (B22) 21株(11.2%)、O-125:K70 (B15) 20株(10.7%)、O-26:K60 (B6) 18株(9.6%)、O-111:K58 (B4) 16株(8.6%)、O-127a:K63 (B8) 12株(6.4%)、O-143:KX<sub>1</sub> (B) 11株(5.9%)、O-28a:c:K73 (B18) 10株(5.3%)、O-86a:K61 (B7) 7株(3.7%)、O

-55: K59 (B 5) 5 株 (2.7%), O-124: K72 (B17) 4 株 (2.1%), O-119: K69 (B14) 3 株 (1.6%), O-126: K71 (B16) 2 株 (1.1%), O-86: K62 (L) 1 株 (0.5%) 株の順であり, O-44: K74 (L), O-144: KX<sub>2</sub> (B), O-146: K89 (B) は検出されなかった。

4) 人糞便や水系資料から本菌を検索する場合, Dihydrostreptomycin Sulfate を 4 $\mu$ g/ml 添加した普通ブイヨンにて増菌 (37°C, 一夜) 後, 4 及び 8 $\mu$ g/ml 添加した MacConkey Agar にて分離すれば, 発育上多少本剤に影響を受ける本菌があるが, 従来の本菌分離法に比較し検出率の上昇が期待できる。

5) 分離菌187株につき9種薬剤に対する感受性試験を実施したところ, Chloramphenicol, Colistin, Polymyxin B, Kanamycin, Paromomycin に対しては強い感受性を示し, Tetracycline 系薬剤は中等度で, Streptomycin に対してはかなり耐性を示す菌が多かった。

6) 分離菌15種血清型 187 株のうち, 5 種血清型57株の吸収試験を実施したところ, O 及び K凝集素が完全に吸収され, その結果O及びK凝集反応で陰性となったものは57株中10株 (17.5%) で, 他の47株はO抗原の一部あるいはK抗原の一部に本菌標準株とわずかな抗原構造の相違が見られた。

以上のごとく, 乳幼児下痢症あるいは児童, 成人の急性胃腸炎, 赤痢様腸炎の起因菌の一つである病原大腸菌の自然界における所在を調査した結果, 本菌群の自然界における生態はかなりサルモネラに近い分布の様相を呈するが, しかしその動物の種類によってはかなりの宿主特異性が見られ, 特に人の環境の中で飼育され, その為に人の食生活等に鋭敏な影響を受けやすい猫や豚に下痢一腸炎由来の病原大腸菌と同一抗原を有する本菌の保有率がきわめて高く, しかもその血清型は下痢一腸炎, 及び食中毒からかなり高率に検出されるO-111: K58 (B4), O-125: K70 (B15), 及びO-128: K67 (B12) 等であることは重要視される。

しかしながら本菌の自然界における分布はサルモネラに近いとはいいいながらも, 我国の下痢一腸炎, 及び食中毒時において検出頻度の最も高い血清型, 即ちO-124: K72 (B17) や O-44: K74 (L) 等においては人のみに対する一種の宿主特異性が見られるのではないかと推測される。この様に本菌は人から人へ, あるいは人から動物へ, 又逆に動物から人へと菌が循環し, 特に動物においては, 猫や豚が本菌下痢腸炎, あるいは食中毒時の一つの重要な汚染源, あるいは媒介者と考えられるので, 本菌による下痢腸炎, あるいは食中毒予防の一手段を考える際には, これらの動物を無視することはできない。

又動物由来や環境由来を中心とした病原大腸菌は, 人の下痢一腸炎由来の本菌に比較し, 部分抗原がわずかに異なるものが多く, この点は本菌疫学上重要な問題であり, 更にこの種の菌の病原性が今後重視されるものと思考される。

## 論文審査の結果の要旨

著者が本研究を開始した動機としては, 人の食品中毒の原因を調査する業務のかたわら, グラム陰性腸内細菌の代表である大腸菌のうち, いわゆる『病原大腸菌』の動態に異常な関心を抱き, その結果, この種の細菌が生体としての人, その他の家畜としては特に豚, 牛, 馬, 犬, 猫, 鶏など各種の動物のほか, さらに市販の生カキ (海産物), 屠場廃水, 同下水, 井水, 浄化槽放流水, 海水など自然環境に至るまでを対象として, それぞれにどの様に分布しているのかを検索し, 分離菌株の同定を試み, 特に血清型 (抗原構造) に注目し, 結論として, 個々の血清型がとくにどのような動物に頻出するか, など生態的意義をも考察した知見を報告した。なお, 病原大腸菌に基因する人の食中毒事例は, 意外に多発する傾向にあることを警告し

ている。

以下、研究項目に従う研究成績の報告を行なう。

#### I 今回の菌検索のための調査期間および検索試料

1967年8月以降1970年2月に至る期間に供試材料として、人、牛、馬、めん羊、豚、飼犬、野犬、猫、家兎、鶏の各糞便、市販カキ、養殖カキ、天然カキと共に、河川水、海水、井戸水、浄化槽放流水、屠場内汚水、屠場廃水を対象となし、病原大腸菌の分離に際しては、とくに選択的増菌培地の効用、選択的分離培地の効果、分離株の各種薬剤感受性、血清学的型別などを試験した。

#### II 病原大腸菌検出陽性成績

上記資料の2,041例から15,044株の大腸菌 (*E. coli*) を分離し、その内病原大腸菌に該当する菌株は15種血清型187株だけ分離されて、一方、このものの陽性資料は109例 (5.3%) であった。

このような病原大腸菌検出陽性を示した資料としては、市販カキ (29.2%)、猫 (17.9%)、屠場内下水 (13.6%)、牛 (7.9%)、野犬 (7.1%)、屠場廃水 (6.7%)、豚 (6.3%)、人 (3.6%)、浄化槽放流水 (3.3%)、河川水 (2.2%)、海水 (2.1%) であった。しかし、馬、飼犬、鶏、めん羊、家兎、井戸水、養殖カキおよび天然カキからは全く本菌の検出は陰性に終った。

#### III 分離菌株としての15種血清型187株の病原大腸菌の内訳は次の通りであった。

O-112 a.c. : K66(B11)	29株 (15.5%)
O-128 : K67(B12)	28株 (15.0%)
O-136 : K78(B22)	21株 (11.2%)
O-125 : K70(B15)	20株 (10.7%)
O-26 : K60(B6)	18株 (9.6%)
O-111 : K58(B4)	16株 (8.6%)
O-127a : K63(B8)	12株 (6.4%)
O-143 : KX <sub>1</sub> (B)	11株 (5.9%)
O-28 a.c. : K73(B18)	10株 (5.3%)
O-86a : K61(B7)	7株 (3.7%)
O-55 : K59(B5)	5株 (2.7%)
O-124 : K72(B17)	4株 (2.1%)
O-119 : K69(B14)	3株 (1.6%)
O-126 : K71(B16)	2株 (1.1%)
O-86 : K62(L)	1株 (0.5%)

IV 人の糞便や水系資料から本菌を検索する場合には、dihydrostreptomycin sulfate を  $4\mu\text{g/ml}$  添加した普通ブイヨンにて増菌 (37°C, 24時間) 後、4および  $8\mu\text{g/ml}$  添加した MacConkey's agar 上に分離すれば、従来の本菌分離法に比較して、検出率の上昇が期待できる。

#### V 分離菌株としての187株の9種薬剤に対する感受性

Chloramphenicol, Colistin, Polymyxin B, Kanamycin, Paromomycin に対しては強度の感受性を示し、Tetracycline 系薬剤には中等度の感受性を示し、Streptomycin に対してはかなり耐性を示す菌株が

多く見受けられた。

VI 分離株としての15種血清型 187 株のうち、5 種血清型57株につき吸収試験を行なったところ、OおよびKの両凝集素が完全に吸収され、その結果OおよびK両凝集反応の陰性となったものが57株のうち10株(17.5%)あり、残り47株はO抗原の一部あるいはK抗原の一部に本菌標準株と比べて僅かな抗原構造の差異が見られた。

以上、主題の研究結果の概要を述べたが、著者は今回の成績について考察した結果、乳幼児下痢症を主として、一方、児童や成人の急性胃腸炎(赤痢様腸炎を含む)の原因と見なされている病原大腸菌の所在を調査した成績では、本菌の生態は *Salmonella* 属に近似の所見を呈する分布の様相を呈するのに気づいた。しかし、由来動物の種類によっては、かなりの宿主特異性 (host specificity) が見られ、特に人の生活環境の中で飼育され、その為に人の食生活などに鋭敏な影響を受け易い猫や豚において『下痢腸炎』由来の病原大腸菌と同一抗原を保有する該菌の保菌率が極めて高く、しかもその血清型は下痢腸炎、および食中毒からかなり高率に検出されるO-111: K58(B4), O-125: K70(B15) およびO-128: K67(B12) などであることは重視されるべきものと考えられる。しかし、上記の様に本菌が自然界においては *Salmonella* に近似の分布を示すとはいえ、本邦の下痢一腸炎および食中毒症例において検出頻度の最も高い血清型、すなわちO-124: K72(B17) やO-44: K74(L)などは、人体のみに対する一種の宿主特異性が見られるのではないかと推測される。

この様に本菌は人から人へ、あるいは人から動物へ、また逆に動物から人へと循環し、とくに動物においては猫や豚が本菌に由来する人の下痢一腸炎や食中毒に対する汚染源とか媒介者となり得る可能性が推測されるので、この様な人の食品衛生上の予防対策を立てる上で、この様な動物の動静を無視することはできないと著者は強調している。

しかもまた動物由来やその他の環境由来を中心とした病原大腸菌の抗原構造が人の下痢一腸炎症例由来の該菌に比較して、部分抗原 (antigenic factors) の上で僅少の相異を示すものが多く検出される事実は、今後、この種の細菌の病原性が疫学上一段と重要視されるべきものであると結論している。

以上、本研究は単に病原大腸菌の性格、分布を調査研究した成績に止まらず、人の食品衛生上、家畜やその他の環境との本菌汚染サイクルを重視するという実地上への配慮の点は高く評価されるものであり、獣医学博士の学位を受けるに値するものと認める。