The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	旅行者下痢患者からの毒素原性大腸菌の分離と分離菌の血清学的研究
Author(s)	塚本, 定三
Citation	大阪大学, 1983, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/33659
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【27】

氏名・（本籍）	塚本定三（つかもと ていぞう）
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 6112 号
学位授与の日付	昭和58年6月1日
学位授与の要件	学位規則第5条第2項該当
学位論文題目	**旅行者下痢患者からの毒素原性大腸菌の分離と分離菌の血清学的研究**
論文審査委員	（主査） 教授 三輪谷俊夫 （副査） 教授 井上 公蔵　教授 松田 守弘

論文内容の要旨

（目　的）

毒素原性大腸菌は東南アジア，東アジアなどの発展途上国における急性下痢症の重要な原因菌である。わが国では，これら発展途上国への旅行者が年々増加し，旅行先で毒素原性大腸菌に感染する機会が多い。そのため，今日では毒素原性大腸菌の検査は必要である。従来の毒素原性大腸菌の検出法は煩雑で日常の検査として常用できないため，簡便，迅速で再現性に富む方法を開発することを目的として，毒素原性大腸菌の検出法を検討，改良した。この方法を用い，旅行者下痢患者からの毒素原性大腸菌の検出を行うとともに，分離菌の血清型別を試み，疫学調査に役立てることを目的として本研究を実施した。

（方法ならびに成績）

毒素原性大腸菌の産生する易熱性エンテロトキシン（LT）の検出法として，受身免疫溶血反応法を用いた。方法は試料，緬羊血球，抗毒素，補体を順次加えて37℃，一定時間後に溶血の有無を測定する。原法はEvansらにより報告されたが，試料として供試菌菌体のポリミキシンB（10,000単位／mℓ）処理上清，抗毒素に精製抗コレラ毒素，緩衝液に0.9％NaClを含むHEPES緩衝液（pH 6.7）を用いることにより，再現性，感度，特異性ともに原法よりもかなり優れたものとなった。

旅行者下痢患者からの毒素原性大腸菌の検出は，患者糞便1件につき大腸菌5株を分離し，それらについてLTの検出には改良した受身免疫溶血反応法を，耐熱性エンテロトキシン（ST）の検出にはDeanらの報告した乳のみマウスの胃内投与法を用いて実施した。2,102名の旅行者下痢患者を検出した結果，445名（21.3％）から毒素原性大腸菌を検出した。ST単独産生株のみを検出した患者が185名，LT単独産生株のみが129名，LT－ST両毒素産生株が92名の順であった。さらに，このような

毒素産生株を2種類あるいは3種類同時に検出した患者も39名あった。また，毒素原性大腸菌を検出した患者の推定感染国はフィリピン，台湾，インド，タイなどが比較的多かった。

分離した毒素原性大腸菌の血清型別は，供試菌の加熱死菌と自家O血清による試験管内凝集反応で実施した。自家O血清は，Edwardsらの方法に従い，標準菌株を家兎に免疫して作製した。分離株1,538株のうち，1,225株(79.6%)が24種の血清型に型別できた。O6，O8，O25，O27，O126，O148，O159が検出頻度の高い血清型で，型別できたもののうちの約90%はこれらの血清型で占められた。このうち，O27およびO126であったすべての分離株はST単独産生株であり，また，分離株の80%以上においてO6はLT−ST両毒素産生株，O25はLT単独産生株，O148およびO159はST単独産生株であった。このように，血清型と菌の産生する毒素型との間にはかなりの相関性があることがわかった。

毒素原性大腸菌の血清型のうちで検出頻度の高いO6，O27，O148およびO159の4種類を選び，毒素非産生でこれらの血清型をもつ大腸菌がどの程度分布しているかを調査した。無作為に選出した大腸菌5,310株のうち，506株がこれら4種類の血清型に型別できた。そのうち，毒素原性大腸菌は442株(87.3%)であったが，毒素非産生大腸菌は64株(12.7%)しかなかった。血清型別にみると，O6およびO27はほとんどすべてが毒素原性大腸菌であるのに対し，O148は毒素原性大腸菌が約3/4であり，O159は毒素原性大腸菌より毒素非産生大腸菌のほうが多かった。従って，血清型別により毒素原性大腸菌を推定することはある程度可能であるが，菌型によっては推定しにくいものもあることがわかった。

（総　括）

1）大腸菌LTの検出法としての受身免疫溶血反応法の反応条件を検討し，再現性，感度，特異性の優れたものに改良した。

2）改良した受身免疫溶血反応法をLT検出用に用い，ST検出のための乳のみマウス法を併用して，旅行者下痢患者2,102名の原因菌調査を行い，445名（21.3%）から毒素原性大腸菌を検出した。

3）分離した毒素原性大腸菌の約80%が24種の血清型に型別できた。型別できたものの約90%がO6，O8，O25，O27，O126，O148およびO159であった。また，血清型と産生する毒素型との間にはかなりの相関性が認められ，特にO27およびO126のようにほぼ確実に毒素型を推定できうるものもあった。

4）無作為に選出した5,310株の大腸菌の血清型を調べた結果，506株がO6，O27，O148，O159に型別できた。このうち，442株(87.3%)は毒素原性大腸菌であったが，64株(12.7%)は毒素非産生大腸菌であった。O6，O27のほとんどが毒素産生株であるのに比べ，O148，O159は毒素非産生株がかなり混在していた。それゆえ，O6，O27のように血清型別により毒素原性大腸菌と推定できるものと，O148，O159のように推定できないものもあることがわかった。

論文の審査結果の要旨

毒素原性大腸菌の同定に必須であるエンテロトキシン産生能の検査法をいろいろ検討し，簡便，迅速

かつ再現性に富むＬＴ検出法として受身免疫溶血反応法を確立した。このＬＴ検出法を用いて発展途上国から帰国した旅行者下痢患者を対象に毒素原性大腸菌を検査し，本菌による旅行者下痢症の実態を明らかにした。さらに分離した毒素原性大腸菌の血清型別を行い，血清型と産生する毒素の種類（ＬＴ，ＳＴ，ＬＴ－ＳＴ）の間には密接な関係が成立する組合わせがあることをみいだし，血清型別により毒素原性大腸菌の同定がある程度可能であることを示唆する成績をえた。このようなことは今後の毒素原性大腸菌の疫学面において貢献するところが大きい。