

平成 19 年度の腸管出血性大腸菌感染症事例

Cases of Enterohemorrhagic *E.coli* Infection in 2007

矢崎 知子 佐々木美江 後藤 郁男
畠山 敬 渡邊 節 谷津 壽郎
齋藤 紀行*¹

Tomoko YAZAKI, Mie SASAKI, Ikuo GOTO
Takashi HATAKEYAMA, Setsu WATANABE, Juro YATSU
Noriyuki SAITO

宮城県（仙台市を除く）では、平成 19 年度に腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症が多発し、集団事例も 5 件発生した。従来から報告のある保育施設内での蔓延事例に加え、本県では初めての食品を原因とする大規模な EHEC 感染症事例や簡易水道水源の汚染が原因と推定された事例などを経験した。

キーワード：腸管出血性大腸菌；集団発生

Key words : Enterohemorrhagic *E.coli* ; Mass outbreak

1 はじめに

腸管出血性大腸菌（以下 EHEC）は、少菌量で感染が成立することに加え、下痢や血便等の典型的な症状を示さない無症状病原体保有者も多く存在するため、症例の多くは感染原因の特定が困難である。さらに、EHEC が産生するベロ毒素が乳幼児等に重篤な溶血性尿毒症候群（HUS）を引き起こすため、公衆衛生上重要な感染症である。

EHEC は他の病原性大腸菌に比べて検出数も多く、全国の患者および無症状病原体保有者からの分離報告数は年間 3,500 件程度であるが、平成 19 年には 4,606 件と例年を大きく上回った¹⁾。宮城県（仙台市を除く）でも全国と同様の傾向を示し、平成 19 年 9 月には、宮城県で初めて食品を原因とする大規模な EHEC 感染症事例が発生した。

そこで我々は、疫学調査と分離株の遺伝子解析の結果を基に、平成 19 年度に本県で発生した EHEC 感染症について、集団発生 5 事例を中心に検証を行ったので報告する。

2 材料および方法

2.1 材料

医療機関から分与された患者由来の EHEC 株、疫学調査により採取した患者家族や接触者の便、食材、水、および関連施設のふき取り検体を検査材料とした。

2.2 方法

2.2.1 EHEC 分離同定

便からの EHEC の分離は選択培地（DHL、各種糖を添加した CT-Mac、クロモアガー O157TAM、RX26 等の酵素基質培地）を使用し、増菌培養については mEC ブイヨンを用いた。食材については等量の mEC ブイヨ

ン等で 1 分間ホモジナイズした 2 倍乳剤を、水については検水を濾過した 0.22 μ m のフィルターを直接選択培地に塗布して 37 $^{\circ}$ C 18 ~ 20 時間培養するとともに、mEC ブイヨンに接種した。増菌液は直接あるいは必要に応じて免疫磁気ビーズで集菌処理し各選択培地に塗布し培養した。

選択培地上に発育した疑わしいコロニーは TSI、LIM 培地に接種し生化学性状確認を行った。大腸菌が分離された場合は血清型別試験を行いベロ毒素の有無を確認した。

2.2.2 ベロ毒素の確認

ベロ毒素（VT1、VT2）の有無は、PCR（polymerase chain reaction）法による毒素遺伝子（VT 遺伝子）の検出もしくは逆受身ラテックス凝集反応（RPLA）による毒素産生の確認で行った。毒素遺伝子検出には TaKaRa 社製のプライマー（EVT、EVS）または Pollard ら²⁾ のプライマーを使用した。

2.2.3 菌株の遺伝子解析

遺伝子型比較のため、分離した EHEC 菌株全てに制限酵素 *Xba* I を用いたパルスフィールドゲル電気泳動（Pulsed-Field Gel Electrophoresis : PFGE）法を実施した。電気泳動には BIO-RAD 社製 Chef Mapper を使用した（パルスタイム 2.2 ~ 54.2 秒、泳動 19 時間）。PFGE の解析は Fingerprinting II（Dice）を用いて行った。

3 結果

3.1 平成 19 年度の件数と傾向

平成 19 年度の宮城県内の EHEC 感染症は、集団発生 5 事例（表 1）を含む 34 件で感染者数は 113 名にのぼり、ここ数年間では平成 16 年度に次ぐ発生数であった（図 1）。血清型別内訳は O157 が 18 事例 77 名、O26 が 10 事例 23 名、O121 が 4 事例 7 名であり、他に O111、O145 が 1 事例ずつ発生した。

* 1 現 東北生活文化大学

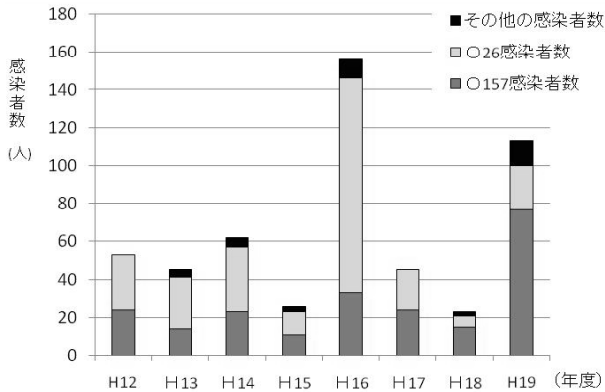


図1 EHEC感染者数の年度別推移 (宮城県)

3.2 集団発生事例

3.2.1 水系感染が疑われた事例 (事例1)

同一の簡易水道を利用している仙南保健所管内の集落で7月にO121:H19 VT2による感染症が発生し、1ヶ月間で3名の感染が判明した(表1)。この地域ではO121事例発生以降にも感染原因不明のO157事例が発生しており、EHEC多発地域として調査を行った。O121感染者(B)宅の家庭水を調査した結果、家庭水から当初疑われていたO121ではなくベロ毒素VT2を有する大腸菌O150:HNMが検出された(図2)。その後の調査で簡易水道の水源からも同一菌が確認されたため、保健所はこの簡易水道の使用停止を指導し給水中止となった。簡易水道水についての検査結果を(表2)に示した。初回の原水調査ではVT2遺伝子のみの検出であったが、2回目の採水で原水直近にあるオーバーフロー水からO150 VT2が分離され、パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)解析でも、患者B宅の家庭水から検出されたO150と遺伝子パターンが一致した。このことから、集落で使用していた簡易水道が原水付近でEHECに汚染されていたことが確認された。なお、簡易水道から検出

されたEHECはO血清型の決定が出来ず、国立感染症研究所の精査でO150と判明した。



図2 事例1の集落でのEHEC発生状況

表2 事例1での水の検査結果

採水場所	採水日	検水	結果
A宅家庭水	7月31日	2.2L	検出せず
B宅家庭水	8月1日	5L	O150VT2 検出
簡易水道水源	8月3日	2L	増菌PCRにて VT2 (+)
簡易水道水源	8月27日	4L オーバーフロー水	O150VT2 検出
		2L 貯水槽上清	検出せず
		10L 掃除用排水パイプ経由の水	検出せず

3.2.2 仕出し弁当によるO157食中毒事例(事例2)

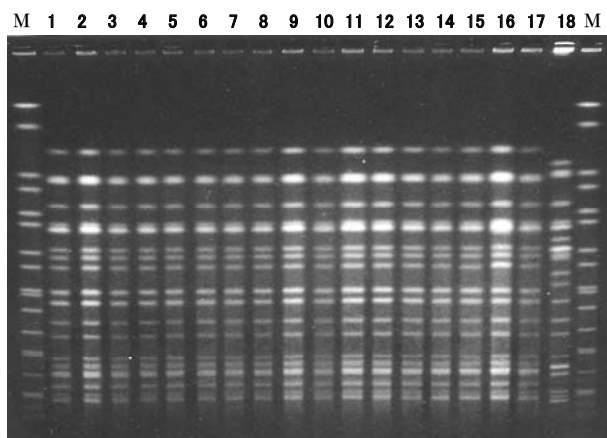
9月末~10月にかけて、塩釜保健所管内の飲食店で製造した仕出し弁当を喫食した人の多くから、ほぼ同時期にO157が検出され、保健所は仕出し弁当を原因とするO157大規模食中毒と断定した³⁾。当該弁当を喫食し、調査対象となった人数は、最初に発生のあった秋田市と、仙台市・宮城県を合わせると4,243名、うち発症者は314名であった。当センターでは弁当86件、食材・

表1 EHEC集団発生事例(平成19年度宮城県)

事例	感染経路	原因	発生場所	発生期間	対象集団	EHEC検出患者数	検出EHEC血清型別	ベロ毒素
水系感染が疑われた事例	事例1	食品媒介 (推定)	水源のEHEC汚染 (推定)	同一給水区域 (簡易水道)	7.5~8.5	80	住民3名	O121:H19 VT2
仕出し弁当によるO157食中毒事例	事例2	食品媒介 ヒト→ヒト感染	弁当のEHEC汚染 病原体保菌者	弁当喫食者	9.21~10.8	4,243	弁当喫食者49名 弁当非喫食者3名 (家族2名・従業員1名)	O157:H7 VT1,2
保育施設での発生事例	事例3	ヒト→ヒト感染	病原体保菌者	保育所	8.22~8.31	181	乳幼児5名 家族2名	O157:H7 VT2
	事例4	ヒト→ヒト感染	病原体保菌者	託児所	10.11~10.14	89	乳幼児4名 家族5名	O26:H11 VT1
	事例5	ヒト→ヒト感染	病原体保菌者	保育所	11.12~11.17	30	乳幼児3名 家族2名 保育士1名	O26:H11 VT1

ふき取り等 82 件、飲食店従業員 78 名、弁当喫食者 115 名の検査を行った結果、弁当 1 件（9 月 25 日製造）と従業員 12 名、喫食者 38 名から O157:H7 VT1, 2 を検出した⁴⁾。O157 の検出された飲食店従業員の内訳は調理従事者 6 名、配達従事者 4 名、事務職員 2 名であり、うち 11 名は当該弁当を喫食していた。また接触者調査として O157 陽性者の家族等 151 名の検査を行い 2 名から O157 を確認した。

これらの菌株のうち 17 株（従業員由来の 12 株と弁当喫食者由来の 2 株、患者の家族で弁当非喫食者由来の 2 株、弁当由来の 1 株）の PFGE を図 3 に示した。最終的に、本事例で検出した O157 全 53 株（弁当由来 1 株、従業員由来 12 株、喫食者由来 38 株、O157 陽性者の家族 2 株）の相同性は 85% 以上であった。



Lane 1-9, 11-12 飲食店従業員(弁当喫食)
 Lane 10 飲食店従業員(弁当非喫食)
 Lane 13 仕出し弁当
 Lane 14-15 弁当喫食者
 Lane 16-17 感染者(弁当喫食者)の家族
 Lane 18 別事例のO157感染症患者株
 M : *S. Braenderup*

図 3 事例 2 における分離株の PFGE パターン

3.2.3 保育施設で発生した事例（事例 3, 4, 5）

保育所・託児所等保育施設で起こった集団感染事例は 3 例であった（表 1）。

事例 3 は仙南保健所管内の保育園で発生した O157 事例で、兄弟二組を含む保育園児 5 名とその家族 2 名から O157:H7 VT2 が検出された。感染者から分離された 7 株のうち 6 株が PFGE で 90% 以上の相同性を示した。やや相同性が低かった 1 株は無症状の園児から検出された株であり、感染時期は不明であった。保育園の食事についても検査を行ったが EHEC は検出されず、初発患者からの感染によるものと考えられた。

事例 4 は登米保健所管内の託児所で発生した O26 事例で、園児 4 名とその家族 5 名から O26:H11 VT1 が検出された。陽性者のうち有症者は初発の園児を含め 3 名

であったが、無症状であった園児 1 名とその家族 5 名からも O26 が検出された。この事例の PFGE 解析結果では、初発・続発の園児とその家族で 90% 以上の相同性が見られた（図 4）。食材等から菌は分離されなかったことから、託児施設と家庭内での感染と思われた。

事例 5 は仙南保健所管内の保育園で発生した O26 事例で、園児 3 名とその家族 2 名、保育園職員 1 名から O26:H11 VT1 が検出された。園児 2 名は下痢等の症状があったが家族は無症状であった。

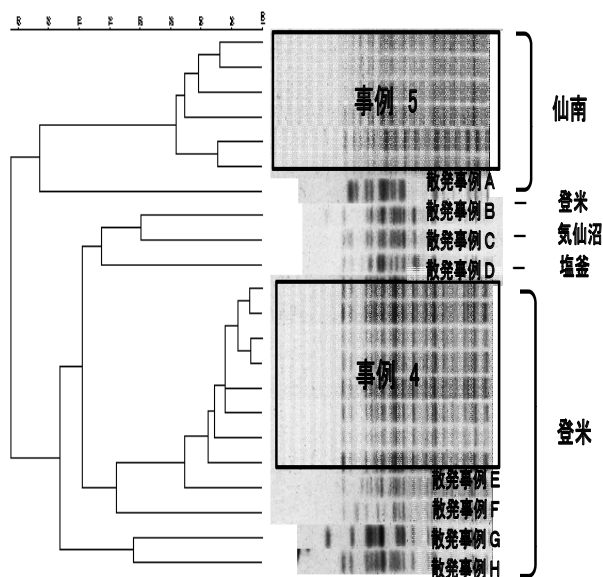


図 4 O26 事例で検出した菌株のデンドログラム

4 考察

宮城県における EHEC 感染症は、山口ら⁵⁾ によって O26 による発生が多いことが特徴的であると報告されているが、平成 19 年度は O157 による発生が事例数・感染者数ともに突出した。これは仕出し弁当による食中毒事例（事例 2）、仙南の保育園事例（事例 3）において O157 感染者が多数発生し、散発事例も 16 事例と例年より多かったことが要因である。

平成 19 年度の集団発生のうち、事例 1 では感染者から分離された株（O121）と簡易水道水から分離された株（O150）は血清型が異なっているため、水を直接の感染原因として結びつけることはできなかった。しかし、感染者 3 名から検出された O121 は PFGE 解析で 97% の相同性を持ち疫学調査での唯一の共通点は簡易水道水であること、また、集落では同時期に感染原因不明の O157 患者が発生しており、簡易水道水源および家庭水から同一の O150 が検出されていることなどから、複数種の EHEC により簡易水道が汚染されていた可能性が示唆された。

一方、事例 2 は原因を確定することができた集団発生

であった。患者・調理従事者の便および共通食品である仕出し弁当から EHEC O157 が検出され、PFGE により遺伝子パターンが同一であることが確認され、原因が仕出し弁当と確定された。保健所の調査によると、当該飲食店は調理器具の使い分けや消毒が徹底されておらず、調理後の弁当は温度管理のなされていない場所で最大 4 時間保管され、さらに保冷能力のない運搬車での配達に最大 3 時間以上の時間を費やしていたことが判明した。このことから、何らかの原因で弁当が O157 で汚染され、保管・運搬中に増殖し、大規模な食中毒に至ったものと推測された。さらに弁当を喫食していない患者家族や飲食店従業員は、各々共用するトイレ等を介して家庭や職場内で感染したものと考えられた。

また、従来から報告のある保育施設での集団感染では、給食等を介した事例は認められず、初発患者或いは無症状保菌者との接触を介して園児、保育士、または家族間へ広がったものと思われた。保育施設の集団感染事例 4、5 を含め、平成 19 年度に検出した O26 感染症由来 22 株の遺伝子解析を行った。集団発生事例株はいずれも 85% 以上の相同性で単一のクラスターを形成していた。また、散発事例 E のように、同じ地域内で起こった事例 4 の集団発生株との相同性が比較的高い傾向も認められた (図 4)。

EHEC 事例の PFGE 解析では、宮城県での仕出し弁当の事例が他県に見られない新しいパターンであったことや、県内の散発 O157 事例で分離された株が、多くの都道府県で分離されたものと同一の PFGE パターンを持つ広域流行株であったこと等も判明している⁶⁾。以上のように PFGE による遺伝子解析は菌株の相同性を示すことで各集団事例の原因究明に有功であることが再認識された。

5 まとめ

平成 19 年度は宮城県で EHEC 感染症事例が多発した。集団発生 5 事例のうち、県内初の O157 大規模食中毒感染症事例や、水系感染が原因と考えられる事例など、感染様式の多様化がみられた。これら 2 つの集団発生事例は、複数の個別の事例の検査を進めていくうち関連が判

明していったものであった。

EHEC は微量の菌で感染が成立するため、ヒトからヒトへの伝播が容易に起こり、少数の菌で汚染された食品・生活用具が感染源になりうる。今回経験した仕出し弁当の事例のように広域に流通する食品が感染原因である場合、一時期に広範囲で感染者が発生するだけでなく、感染者からのヒト・ヒト感染による二次的、三次的な感染拡大が起こる可能性がある。また、保育施設での事例では、無症状保菌者が感染を拡大する可能性を再確認した。EHEC 感染症においては、患者との接触者を調べるのが必須であり、無症状保菌者の早期発見が感染症蔓延の防止に重要である。

謝 辞

本報告を行うにあたり、ご協力を頂いた仙台市・秋田市の関係者の方々、仙南・塩釜・登米保健所の方々に感謝いたします。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所・厚生労働省健康局結核感染症課：病原微生物検出情報，29，117 (2008)
- 2) D.R.Pollard, W.M.Johnson, H.Lior, S.D.Tyler, K.R.Rozze : *J.Clin.Microbiol.*, 28, 540 (1990)
- 3) 宮城県環境生活部食と暮らしの安全推進課：宮城県食中毒事件録 平成 19 年
- 4) 矢崎知子, 高橋恵美, 佐々木美江, 後藤郁男, 佐々木ひとえ, 加藤浩之, 小林妙子, 畠山敬, 渡邊節, 菅原優子, 谷津壽郎, 齋藤紀行: 仕出し弁当が原因となった腸管出血性大腸菌 O157 大規模食中毒事例 - 宮城県, 病原微生物検出情報, 29, 122 (2008)
- 5) 山口友美, 田村広子, 佐々木美江, 畠山敬, 御代田恭子, 秋山和夫: 宮城県における腸管出血性大腸菌 (EHEC) 感染症の発生とその傾向, 宮城県保健環境センター年報, 22, 42 (2004)
- 6) 寺嶋淳, 泉谷秀昌, 伊豫田淳, 三戸部治郎, 石原朋子, 渡辺治雄: 2007 年に広域において見出された同一 PFGE タイプを示す腸管出血性大腸菌 O157 について, 病原微生物検出情報, 29, 119 (2008)