

## 続発した腸管出血性大腸菌 O157 感染症への対応

石畝 史・京田芳人・中村雅子・前田央子\*1・望月典郎\*2・浅田恒夫\*3・堀川武夫

Measures to Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 Infection Occurred in Succession

Fubito ISHIGURO, Yoshito KYOTA, Masako NAKAMURA, Chikako MAEDA

Michio MOCHIZUKI, Tsuneo ASADA, Takeo HORIKAWA

### 1 はじめに

2001年から2004年の全国における腸管出血性大腸菌（以下、EHEC）感染症集団発生（10人以上）は58例報告されているものの、原因食品が判明したの牛タタキ、和風キムチおよびきゅうりの浅漬けなど数事例であった<sup>1-6)</sup>。1996年以降、福井県ではEHEC感染症患者は同一家族で複数の発生はみられるが、多くが散発事例である。しかし、集団給食施設および弁当などを原因とする集団発生はないものの、健康福祉センターの喫食調査および当センターによる食品や糞便などの検査により、拡散型集団発生(diffuse outbreak)と考えられた事例が2001年から2004年まで毎年確認されている。そこで、この4年間の毎年1事例ずつについて、diffuse outbreakと推定するに至った経緯および行政側の対応などをまとめてみた。

### 2 材料および方法

#### 2.1 材料

##### 2.1.1 EHEC O157 菌株

2001年～2004年に医療機関で分離され、当センターに送付されたO157 100株およびO26、O111 18株の計118株（表1）。また、他県から分与されたEHEC O157の10株（2002年の金沢市保健所からの1株、2003年の京都府保健環境研究所からの5株および2004年の石川県保健環境センターからの4株）。

##### 2.1.2 糞便

2001年～2004年に当センターに搬入された患者の濃厚摂食者

（以下、接触者）の449検体、患者が通園する保育園児および職員の139検体および患者の会社同僚の21検体（表1）。

#### 2.1.3 2001年

diffuse outbreakの原因食品の可能性が有ると思われた牛内臓（以下、ホルモン）および食肉等を対象に、急遽、県内のすべての健康福祉センターにおいて収去検査が実施され、ホルモン9検体およびカルビなどの食肉13検体が搬入された。また、原因施設と推定されたN焼肉店の従事者の糞便2検体、ホルモンなどの食材5検体および拭き取り材料5検体も搬入された。

#### 2.1.4 2002年

健康福祉センターによる患者の喫食調査により、ホルモンあるいは焼肉が原因食品の可能性が有る事例が5月下旬から発生し始めた。そこで、発生防止対策の一助とするために、福井市内の食品スーパーマーケットおよび直売店で3製造者（X、Y、Z商店）を中心に35検体のホルモンを購入し、検査に供した。X商店は2001年の収去検査でO157が検出されていること、Y商店は納入先の飲食店でホルモンを喫食したヒトがO157感染症を発症したとの情報が健康福祉センターから得られたこと、Z商店は県内において販売量が多いことがそれぞれの選定理由であった。

#### 2.1.5 2003年

7月13日と14日に届出があった患者について、所轄健康福祉センターが調査した結果、7月5日に小浜市内のSラーメン店

表1 患者数および濃厚接触者等の糞便におけるEHEC検出状況

年	O157							O26, O111etc				
	医療機関での検出	濃厚接触者 P*	保育園関係 N**	P	N	会社同僚 P	N	医療機関での検出	濃厚接触者 P	保育園関係 N	P	N
2001	43	18	154	0	26			5	1	15		
2002	20	10	114	0	36	0	21	2	4	7	0	38
2003	14	5	55	0	2			4	3	17	0	28
2004	23	10	68	0	17			7	3	19	0	6
計	100	43	391	0	81	0	21	18	11	58	0	72

\*P; 陽性数 \*\*N; 検体数

\* 1 丹南健康福祉センター

\* 2 食品安全・衛生課

\* 自然保護センター



(以下、S店) で喫食していることおよび京都府にも患者がいることが判明した(図1)。なお、京都府の患者の一部は福知山市のT店を利用していた。そこで、患者と同一喫食者3名、患者家族13名、原因施設と推定されたS店の従事者7名および7月5日利用者21名および7月6日以降の利用者6名の糞便も搬入された。またキムチを含む食材5検体および拭き取り材料5検体も搬入された。

2. 1. 6 2004年

4月中旬に届出があった患者および石川県の患者の原因食品がイカナゴかもしれないとの情報があり、4月18日発症患者宅にあったイカナゴの佃煮1検体を検査に供した。このイカナゴは3月末~4月上旬に兵庫県から送ってもらったものを、4月に入って喫食し始めたとのことであった。

2. 2 方法

2. 2. 1

食品はノボビオシン加mEC培地で42°C18時間増菌培養後、免疫磁気ビーズ処理し、CT-SMACに塗抹し、以下は定法のとおり実施した。糞便はCT-SMACに直接塗抹するとともに、食品と同様に増菌培養も実施した。

2. 2. 2

医療機関からの送付株および当センターで分離した接触者由来株は、次の性状を調べることにより、相互の関連性をみた。

- 1)ソルビトール分解能
- 2)生物型 サッカロース、ラムノースおよびズルシットの3種類の糖分解組合せによる。

3)VT産生型 PCR法による<sup>7,8)</sup>

4)薬剤感受性 KB法により実施し、使用薬剤はアンピシリン(ABPC)、テトラサイクリン(TC)、ストレプトマイシン(SM)、シプロフロキサシン、カナマイシン、セフトキシム、クロラムフェニコール、ST合剤、ゲンタマイシン、ホスホマイシン、ナリジクス酸、トリメトプリムの12剤である(2003年からはトリメトプリムに代わって、スルフィゾキサゾール)。

5)プラスミド・プロファイル Kado & Liuの変法<sup>9)</sup>による。

6)パルスフィールドゲル電気泳動(以下、PFGE) 国立感染症研究所の方法<sup>10)</sup>に基づき、制限酵素はXbaIを使用。

3 結果

3. 1 2001年

7月10日から9月19日に発症した患者由来の37株、および接触者149名中17名由来の計54株中45株が、5種類のPFGE型に分類された(表2)。また、X商店およびM商店のホルモン各1検体からO157が検出できたが、X商店の検体からは2種類のO157が検出でき、そのうちの1種類はM商店由来株と同一であり、それはヒト由来株の中にも同一型が存在した(表3)。この結果を受けて、所轄健康福祉センターはX商店およびM商店に対し、商品には「十分に加熱する旨」の表示をするよう指導した。一方、N焼肉店の食材および拭き取り材料等からはO157は検出されなかった。

表2 EHEC O157におけるPFGE型別患者発生状況(2001年)

	8月												9月							
	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	28	1	2	3	6		
患者数	1	3		1	4	3	2	3	1	1	1	1	1	1	1	4	1	1		
PFGE型																				
A	7月10日~8月10日に発症																			
B	○	◎					○	○	○											
C				○	○				○	○	○	○								
D					○	○	○	◎					○							
E																	○	◎	○	○
その他						○	○							○	○					

\*○:1人 ◎:2~4人

表3 O157感染症に置いて推定された原因食品等の収去検査結果 2001年

患者由来株のPFGE型	患者発症時期	患者・保菌者数	推定原因施設	収去月日	検査結果	ホルモン由来株のPFGE型
II a II a I	7.10~8.10, 10.3	11	不明			
III b IV IV	8.14~8.20	10	不明			
II a ND ND	8.17~8.24	9	X商店	8.29	検出	II a ND ND II a ND I
			M商店	8.31	検出	II a ND ND
ND II I	8.18~8.25	7	N焼肉店	8.28	不検出	
ND IV IV	9.1~9.6	7	不明			

表4 PFGE型別のヒトおよびホルモン由来EHEC O157株の各性状等について 2002年

由来	PFGE型	発症・検便月日	患者・保菌者数	VT	生物型	ソルビトール	薬剤感受性	プラスミド・プロファイル
ヒト	A ND II a I	5.13~5.18	4	1+2	I	10+ or -	すべてに感受性	a
	B II a ND I	5.12~6.6	4(3)*	1+2	I	6+ ***	すべてに感受性	a
	C I a I ND	7.31~9.1, 10.26	9(7)	1+2	I	7+	すべてに感受性	c
	D II a ND ND	8.27~9.3	3(2)	1+2	I	6+	すべてに感受性	a
	E II g' II a I	9.4~9.12	4(4)**	1+2	I	10+	すべてに感受性	f

由来	PFGE型	商店	検体採取日	VT	生物型	ソルビトール	薬剤感受性	プラスミド・プロファイル
ホルモン	F ND ND ND	X商店	8月 7日	1+2	I	7+	ABPC,SM,TC	g
	G ND ND III	X商店	8月 7日	2	I	7+	ABPC,SM	a
	H ND ND II	X商店	8月13日	1+2	I	8+	すべてに感受性	a
	I I a I ND	Y商店	8月13日	1+2	I	8+	すべてに感受性	c
	J II a' ND III	Y商店	8月13日	1+2	I	8+	すべてに感受性	a
	K II a ND III	X商店	8月19日	1+2	I	3+	すべてに感受性	a
	L II a II b ND	Z商店	8月19日	1+2	I	6+	すべてに感受性	a

\*( )ホルモンあるいは焼肉喫食者数 \*\*原因施設は県外 \*\*\*6日目に陽転

表5 市販のホルモンにおけるEHEC O157検出状況

商店名	量り売り		袋入り(量販店)		計		タレ	
	P*	N**	P	N	P	N	P	N
X商店	3	10	0	2	3	11	0	1
Y商店	2	11	NT		2	11	0	1
Z商店	NT		1	5	1	5	NT	
その他	0	3	0	4	0	3	NT	
計	5	24	1	11	6	35	0	2

\*P;陽性数 \*\*N;検体数

### 3. 2 2002年

5月11日から9月4日までに発症した患者由来15株、および接触者65名中9名由来の計24株中23株は5種類のPFGE型(仮に、A~E型とする)に分類された(表4)。喫食調査により、C型の患者8名中少なくとも2名はY商店のホルモンを喫食していること、さらに集計すると患者等の70%(16名)がホルモンあるいは焼肉を喫食していることが分かった。

一方、購入したホルモンからの検出状況は、表4および表5のとおりである。X商店では8月7日に3検体中1検体から2種類のO157が検出され、その後2週間続けて同一商品から異なるPFGE型の株が検出された。Y商店では8月13日に2検体から異なるPFGE型のO157が検出された。Z商店では8月19日の検体から検出された。合計すると、35検体中6検体(17.1%)から7種類のPFGE型のO157が検出された<sup>1)</sup>。

ヒト由来株とホルモン由来株を比較したところ、Y商店由来のPFGE型でI型を示した株は、8月上旬より患者から分離され始めた株(表4のC)と同一の型であり、VT型が1+2、ソルビトールの遅分解、生物型I(3種類の糖を分解)および薬剤にすべて感受性などの性状も同一であった。なお、石川県では8月5日から12日に患者からこの型が検出されているとの情報があり、金沢市保健所から分与された株もこれと同一型であった。そこで、患者の多くがホルモンあるいは焼肉を喫食していること、および市販のホルモンからO157が検出されていることから、衛生指導室を通じて健康福祉センターにより、食肉販売店

および焼肉店へ監視指導が行われた。

### 3. 3 2003年

7月のS店関連で、初発患者の同行者1名、従業員1名および7月23日に受付をした7月5日の喫食者1名(A)からO157を検出し、VT型は患者同様1+2であった。福井県と京都府の計10名から検出された株のPFGE型は、福井県のA由来株(図2の6)および京都府の1株(図2の11)がそれぞれone band異なっていたものの、他は同一であり、共通の感染源から曝露を受けていたことが示唆された。また、プラスミド・プロファイルは10株すべて一致した。原因食品として、両府県の患者および保菌者、計11名中7名が喫食していたキムチ(本店が一括調達した)が考えられたが(表6)、検体採取日に店内にあったキムチは7月5日分とは異なるロットと思われ、O157は検出されなかった。キムチの製造所が京都府内ということもあり、詳しい廻り調査や7月5日の同一ロットの納入先における疫学調査な

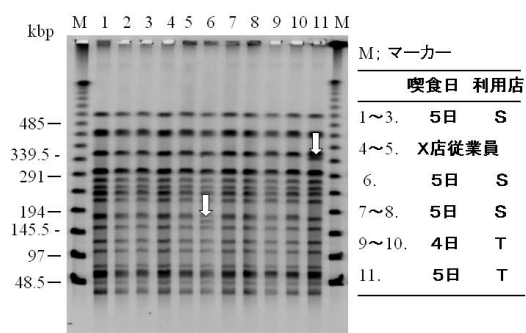


図2 福井県および京都府の患者および保菌者由来 EHEC O157:H7におけるPFGEパターン (Xba I)

表6 患者および保菌者におけるキムチの喫食状況

府県名	福井県					京都府					京都市
	患者		保菌者			患者		保菌者		患者	
No.	1	2	3	4	5*	6	7	8	9	10	11
利用日	5日	5	5	5		4	5	5	5	4	5
利用店	S	S	S	S	S	T	T	S	S	T	S
喫食状況	○	○	○	○	?	○	○	△**	△**	?	○

\*X店従業員 \*\*喫食したかも知れない

どができなかったのが悔やまれた。

本事例は、所轄健康福祉センターの健康増進課と生活衛生課が平行して対応した。すなわち、初発患者は感染症として届けられたため、健康増進課により患者同行者およびS店利用者の糞便の搬入が行われた。一方、初発患者の届出2日後に飲食店が原因施設として推定されたため、生活衛生課の食品衛生監視員により食材および施設の拭き取り材料、および従事者の糞便の搬入が行われた。その結果、従事者1名からO157(VT1+2)が検出されたことから、患者2名と同行者1名から検出された株のPFGEの結果が出る前日に行政措置(2日間の営業停止)が行われた。

7月5日のS店利用者が477名と非常に大勢であったため、7月20日に県庁で対策会議が行われ、利用者への対応が検討され、県内のすべての健康福祉センターにおいて21日~27日に利用者の健康相談窓口を開設し、検査が必要と認められた場合は糞便検査も受け付けることになった。28日までに7月5日利用者を中心に27名の糞便が搬入され、23日に受付をした7月5日利用者1名からO157が検出されたのが注目された<sup>12)</sup>。

### 3. 4 2004年

#### 3. 4. 1 当センターにおける検査結果および他機関からの情報

O157において3月31日から4月18日に発症した患者由来の6株、および接触者31名中3名由来の計9株は3種類のPFGE型に分けられた(表7)。詳しくみると、4月5日と6日にこの時季としては珍しく2日連続して届出されたO157患者はM町の7歳とA市の4歳で、さらに12日に届出された患者もA市在住であり、4歳の幼児であった。そこでこの3名の関連性が疑われたが、前者の2名由来株はVT1+2産生株であり、後者由来株はVT2単独産生株であったことから、その疑いは払拭された。しかし、翌13日に届出された2名(F市の8歳と県中部のT市の63歳)由来株はVT2単独産生株であったことから、これら3名の関連性が疑われた。F市の8歳児の疫学情報として4月9日に石川県加賀市の祖父母宅で発症しているとのことであった。

また、後日この患者の接触者の糞便からもO157(VT2)が検出された。

13日に坂井健康福祉センターから石川県南部でも患者が出ているとの情報が入った<sup>13)</sup>。それは事例1として、10歳の子供で4月2日発症し、祖父も保菌者であること、事例2として73歳の高齢者で4月7日に発症し、HUS(溶血性尿毒症症候群)を続発したとの内容であった。さらに18日に石川県保健環境センターから、石川県で4事例7名(無症状2名)確認され、いずれもVT2単独産生株であり、すべて加賀市でうち2事例は同じ町内との情報が入った。県内の患者3名の共通食品はないように思われ、石川県の患者における原因食品の情報も得られなかった。19日には県内3名由来株のPFGE型が同一であること、さらに25日には福井県の4株(図3の1~4)と石川県から分与された2名由来株(図3の8,9)ともPFGE型およびプラスミド・プロファイルが同一であることが判明した。一方、県南部のT市において4月18日に発症し、22日に届出があったO157の患者も幼児(4歳)でVT2単独産生株であることが分かり、上記との関連が疑われたが、PFGE型は異なった。また、この患者宅にあったイカナゴの佃煮からはO157は検出されなかった。

#### 3. 4. 2 FETPの調査

国立感染症研究所感染症情報センターの感染症発生動向調査上にて、2004年第15疫学週(4月5日~11日)より、全国的にEHECの報告数増加(O157:VT2)を認めた(14週;3

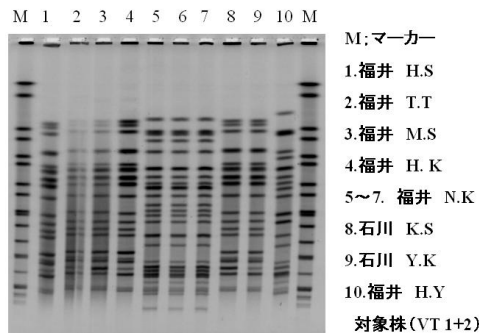


図3 福井県および石川県のO157:H7(VT2)株におけるPFGEパターン

表7 2004年4月の福井県におけるO157感染症発生状況

発症日	届出日	住所	年齢	VT	ソルビトール	生物型	薬剤感受性	PFGE型
3月31日	4月6日	A市	4	1+2	—	I	すべてに感受性	IIa IIa I
4月1日	4月5日	M町	7	1+2	—	I	すべてに感受性	IIa IIa I
保菌者*	4月9日	A市	55	1+2	8+	I	すべてに感受性	IIa IIa I
4月6日	4月12日	A市	4	2	6+	I	すべてに感受性	ND V III
保菌者*	4月17日	A市	40	2	4+	I	すべてに感受性	ND V III
4月9日	4月13日	F市	8	2	6+	I	すべてに感受性	ND V III
4月9日	4月13日	T市(県中部)	63	2	5+	I	すべてに感受性	ND V III
4月18日	4月22日	T市(県南部)	4	2	6+	I	すべてに感受性	ND ND I
保菌者*	4月25日	T市(県南部)	6	2	6+	I	すべてに感受性	ND ND I

\*当センターにおいて濃厚接触者の糞便検査によりO157を検出

図4 患者発生地点 2004年4月

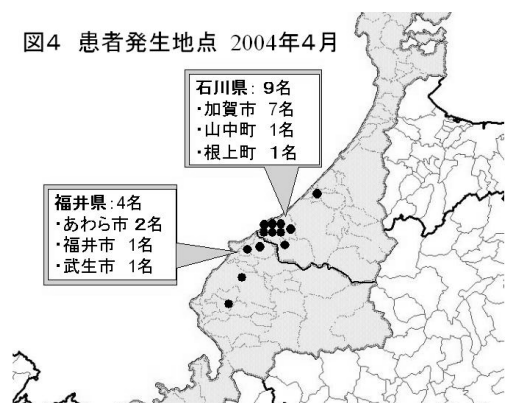


表8 2004年4月に4県において発生した diffuse outbreakの感染者数

県名	感染者総数	菌陽性 菌陰性		健康保菌者数
		有症状者数	有症状者数	
(HUS数)				
福井県	4	3(2)	1	2
石川県	9	6(1)	0	1
岡山県	16	16(3)	0	0
香川県	12	8(1)	1	3
計	41	33(7)	2	6

国立感染症研究所FETPの調査結果より

例→15週; 24例)。そこで、感染研FETP (Field Epidemiology Training Program : 実地疫学専門家養成コース) は、報告数の多かった福井県、石川県、岡山県および香川県等への問い合わせを開始し、感染者総数および有症者数などをまとめた(図4 & 表8)。感染者総数は41名で、HUS発症率が高いのが特徴であった。また、各地衛研および感染研にてPFGE型が一致することを確認し、関係自治体よりFETPへの調査協力の依頼がなされた。調査は4月27日から岡山県と香川県で、5月6日から福井県と石川県で行われた。以下、FETPの調査結果を抜粋すると、次のようであった。まず、記述疫学のまとめとして、

- ・ 症例は高齢者に多く分布していた。
- ・ 二次感染の可能性が高い者は小児に多い。
- ・ HUS発症率の高さ(17%)から、事例としての重症度は高い。

また、感染源に関する仮説として、

- ・ 感染源は、ある一時期に限定して広域に流通する食品である可能性が高い。
- ・ 生鮮食品、季節的に消費される傾向のある食材の可能性もある。

解析疫学のまとめとして、

- ・ 焼肉、イカナゴ、ホタテ、カニにおいてオッズ比で2を越え、中でもイカナゴのみが3を越えたが、統計学的には有意でなかった。
- ・ 患者宅等において保存されていた食品からは、O157は得られなかった。
- ・ 解析疫学の対象となった食品について、特に短期流通食品であるイカナゴの残品は得られておらず、菌検索はできな

かった。

### 3. 4. 2 原因食品について

FETPの記述疫学および解析疫学調査結果として、原因食品のひとつとしてイカナゴも候補に挙がったが、イカナゴからの菌検索ができておらず、断定はできなかった。なお、福井県の患者3名の喫食調査により、F市の1名は加賀市の祖父母宅で発症5日目の4月4日の朝食にイカナゴを喫食していたことが分かった。なお、このPFGE型のO157が9月に福岡県と愛媛県でも検出されたとの情報が、今年になって国立感染症研究所から得られた。

## 4 まとめ

- ・ 2001年は7月下旬からホルモンあるいは焼肉等が原因と思われるO157患者が続発したため、8月にホルモン等の除去検査が実施された。その結果ホルモンからO157が検出され、そのPFGE型は9名の患者由来株と同一であった。そこで、県は販売店に対して「十分加熱する旨」の表示の徹底を指導した。
- ・ 2002年は5月からホルモンあるいは焼肉等が原因と思われるO157患者が発生し始めたため、8月～9月にホルモンの試買検査を実施した。その結果、35検体中6検体からO157を検出し、そのうちの1検体から検出したO157株は、8名の患者由来株と同一のPFGE型であった。そこで、販売店および焼肉店に対して監視指導が行われた。
- ・ 2003年7月に福井県と京都府において同時期に散発的に患者発生がみられたO157感染症の原因が、喫食調査によりラーメン店の食事であることが判明し、両府県の患者由来株のPFGE型も一致した。
- ・ 2004年4月に福井県、石川県、岡山県および香川県で同時期に散発的に発生したO157患者の感染経路は不明であったが、検査した福井県および石川県の患者由来株のPFGE型は一致したことから、原因食品が共通する可能性が示唆された。国立感染症研究所FETPの4県における調査により、原因食品はイカナゴが疑われたが、断定までには至らなかった。
- ・ 当センターにおける糞便検査結果は、濃厚接触者においてO157は391名中43名(11.0%)、O26等は58名中11名(19.0%)から検出できたが、保育園園児、保育士および会社同僚の計174名においてはO157およびO26等はいずれも検出されなかった。

## 5 謝辞

検体の採取および搬入、あるいは疫学等の情報収集を担当され、本稿作成に必要な情報をご提供いただきました関係健康福祉センター、健康増進課、食品安全・衛生課各位に深謝します。

同様の主旨で日本防菌防黴学会秋季合同シンポジウム第21回環境殺菌分野事例研究会(2004年10月、福井市)で発表した。なお、2002年の調査は、福井県食品環境衛生監視員協議会の助成を受けて実施した。

## 6 参考文献

- 1) 感染症情報センター：〈特集〉腸管出血性大腸菌感染症 2002年4月現在, 病原微生物検出情報, 23, 137-142 (2002)
- 2) 感染症情報センター：〈特集〉腸管出血性大腸菌感染症 2003年5月現在, 病原微生物検出情報, 24, 129-132 (2003)
- 3) 感染症情報センター：〈特集〉腸管出血性大腸菌感染症 2004年5月現在, 病原微生物検出情報, 25, 138-143 (2004)
- 4) 感染症情報センター：〈特集〉腸管出血性大腸菌感染症 2005年5月現在, 病原微生物検出情報, 26, 137-140 (2005)
- 5) Hidetake Tsuji et al : An outbreak of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157 caused by intestion of contaminated beef at grilled meat restaurant chain stores in the Kinki District in Japan : epidemiological analysis by pulsed-field gel electrophoresis. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 55, 91-92 (2002)
- 6) 横山栄二他 : 牛タタキを原因食品とする腸管出血性大腸菌 O157 : H7 による Diffuse outbreak. *日食微誌*, 21, 156-159 (2004)
- 7) 小林一寛 : 腸管出血性大腸菌の同定法 2. PCR 法, 臨床検査, 36, 1334-1338 (1992)
- 8) Adrienne W. Paton et al : Detection and characterization of Shiga toxinigenic *Escherichia coli* by multiplex PCR assays for *stx1*, *stx2*, *eaeA*, Enterohemorrhagic *E. coli* *hlyA*, *rfb* O111' and *rfb* O157. *J. Clin. Microbiol.*, 36, 598-602 (1998)
- 9) Kado CL et al : Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. *J. Bacteriol.*, 145, 1365-1373 (1981)
- 10) 国立感染症研究所細菌部, 腸管出血性大腸菌 O157 の検出・解析等の技術研修マニュアル, 17-27 (1997)
- 11) 石畝 史他 : 市販の牛内臓からの STEC O157 検出状況およびヒト由来株との関連性 平成 15 年度全国食品衛生監視員研修会研究発表等抄録, 155-156 (2003)
- 12) 石畝 史他 : ラーメン店が原因施設とされた志賀毒素産生性大腸菌 O157 : H7 食中毒事例—福井県, 病原微生物検出情報, 27, 265-266 (2003)
- 13) 児玉洋江 : 腸管出血性大腸菌 O157 による diffuse outbreak 事例, 平成 16 年度地衛研全国協議会東海・北陸支部細菌部会抄録集, 13 (2005)