

平成11年度秋田県における 腸管出血性大腸菌感染事例発生状況の概要について

八柳 潤 齊藤志保子 伊藤 功

平成11年度は、秋田県では初めて、焼肉店が原因施設の一つと考えられる EHEC O157による diffuse outbreak が発生し、それに伴い、県内で過去最多となる67事例の腸管出血性大腸菌 (EHEC) 感染事例が確認された。

散発事例において分離された EHEC の血清型は O157、O26、O111 : NM、O121、O165 : Hrough であった。無症状 EHEC 保菌者は、給食従事者検査、小型球形ウイルス (SRSV) 食中毒検査などにおいて確認され、分離された EHEC の血清型は O3 : H10、O28ac : H25、O91 : NM、O103、OX179 : H8、O91、O55、O146 : H21、O165 : H18、O32 : NM、Ouk : NM、O131 : H4、O103 であった。また、EHEC の輸入感染事例として、中国へ修学旅行した秋田市内の高校生が EHEC O157 : H7 を含む複数の下痢原性細菌に感染した事例が確認された。

平成8年に確立された秋田県の EHEC 検査体制は、検体数4,000に及ぶ大規模な EHEC 食中毒事例にも対応可能であることが証明された。従って、現行の体制はその迅速性、および検体処理能力からも、今後県内で起こりうる EHEC 感染事例に充分対応可能な体制であることが明かとなった。

キーワード : diffuse outbreak、パルスフィールド電気泳動、EHEC 輸入感染事例、散発事例、無症状 EHEC 保菌者、EHEC 検査体制

I. はじめに

秋田県では平成3年に初めて腸管出血性大腸菌 (EHEC) 感染症が確認¹⁾され、平成7年までは年間1人ないし数人の EHEC 感染者が確認されるのみであった。しかし、平成8年に EHEC O157による集団食中毒が全国的に流行したことを契機として EHEC 感染症が指定伝染病として扱われるようになったことにより、秋田県内で年間30事例程度の EHEC 感染事例が発生していることが明らかになってきた。一方、平成10年まで、秋田県では EHEC による大規模な集団感染事例は発生していなかった。

平成11年度は、秋田県で初めての焼肉店が原因施設の一つと考えられる EHEC O157による diffuse outbreak が発生した。これに伴い、県内では過去に例がない程多い67事例の EHEC 感染事例が確認された。今回は、平成11年度に秋田県で発生した腸管出血性大腸菌感染事例の概要について報告する。

II. 材料と方法

EHEC 感染者の確定診断は糞便からの EHEC の分離同定により実施した。EHEC の分離同定は既報⁵⁾に準じて実施し、分離平板には目的菌の血清型や検体の種別に応じて CT-SMAC、CT-RMAC、CT-SorMAC、DHL、BCM、レインボーアガーなどのうち最適な平板を選択

して使用した。EHEC O157の分離に際しては免疫磁気ビーズ法を併用し、EHEC O26の分離に際しても、一部に免疫磁気ビーズ (自家調製) 法を併用した。また、EHEC の選択分離培養方法としては CT 加分離平板、BCM、レインボーアガーの使用に加えて、HCl 処理法を適宜併用した。

大腸菌の同定は β -グルクロニダーゼ活性と当該酵素の構造遺伝子の有無を指標として実施し、一部の菌の性状確認のために Api20E を併用した。分離された EHEC の血清型別は、市販型別用血清キットにより加熱処理 O 抗原を対象として実施した。市販血清キットにより型別できない EHEC の一部については Ewing らの方法³⁾により自家調製した免疫血清を使用して、O 抗原群参照株と比較定量凝集試験を実施して O 抗原群を決定した。いずれの方法によっても型別できなかった EHEC 分離株については、既報⁴⁾のとおり国際大腸菌・クレブシエラセンターに型別依頼した。

表1に EHEC の検索に供した検体の一覧を検体種別、依頼機関毎に平成8年度から平成11年度までの年次推移として示した。検体内訳に関する平成11年度の特徴としては、EHEC O157による diffuse outbreak の発生に伴い、行政依頼件数が前年までと比較して著しく増加したことであり、検査件数の合計は前年の2899件を2倍以上上回る7514件に達した。

表1 年度別 EHEC 検索用検体数（平成8年度－平成11年度）

	医療機関依頼			行政依頼			秋田市依頼		一般給食		合計
	糞便	菌株	血清	糞便	その他	収去食品	糞便	その他	依頼	従事者	
平成8年度	548	225	0	361	183	0	0	0	92	0	1409
平成9年度	507	495	17	590	560	235	0	0	0	56	2460
平成10年度	550	956	9	979	130	233	0	0	0	42	2899
平成11年度	282	1078	0	3392	1822	212	620	58	0	50	7514

Ⅲ. 結果と考察

表2に平成11年度に秋田県で発生したEHEC感染67事例の一覧を、表3に原因菌の血清型別発生事例数を平成8年度から平成11年度までの年次推移として示した。EHEC O157を原因とする事例数は、焼肉店を原因施設の一つとしたdiffuse outbreakが発生したために、平成10年度の発生事例数を2倍以上上回る35事例であった。一方、EHEC O26を原因とする事例数（10事例）、およびその他の血清型のEHECを原因とする事例数（22事例）共に前年の事例数を上回った。特に、EHEC O26を原因とする事例が10事例も発生したことは全国的にも珍しく、国立感染症研究所の実地疫学専門官養成コース（FETP）における検討題材として取り上げられる程であった。一方、県内で初めて、横手保健所管内で焼肉店を原因施設の一つとするEHEC O157によるdiffuse outbreakが発生し、当該事例で分離された分離株のパルスフィールド電気泳動（PFGE）パターン解析成績が、行政対応に県内で初めて活用されて成果をあげた。なお、本事例については本誌別稿において詳述する。

散発事例において分離されたEHECの血清型はO157、O26、O111：NM、O121、O165：Hroughであった。これらのうち、O111：NMはEHECの血清型としてはポピュラーでありながら県内での分離は初めてであった。また、O157以外の血清型のEHEC（non-O157 EHEC）のなかで、患者に重篤な症状を惹起することが知られているEHEC O121^{2) 5)}による事例が平成11年度も発生した。EHEC O121は欧米⁶⁾だけではなく、国内においても宮城県や佐賀県において溶血性尿毒症症候群（HUS）を惹起したことが報告されており、non-O157 EHECの中では危険な菌型と考えられる。なお、散発患者、diffuse outbreak事例の患者共に、血便を呈して出血性大腸炎となった患者は散見されたが、HUSを併発するまで重篤な状態に陥った患者は発生しなかった。

無症状EHEC保菌者は、給食従事者検査、小型球形ウイルス（SRSV）食中毒検査、検食関連検査において確認された。給食従事者などの業態者検便検査においては、平成11年度は9名の陽性者が確認され、分離されたEHECの血清型はO3：H10、O28ac：H25、O91：

NM、O103、OX179：H8、O91、O55であった。これらのうち、O3：H10、O28ac：H25、OX179：H8は国内で報告がない血清型であった。県内で発生したSRSV食中毒のうち、3事例における検査の過程で無症状のEHEC感染者が確認され（事例番号2，6，7）、分離されたEHECの血清型はO146：H21、O165：H18、O32：NMであった。検食からEHEC O26が検出されたことに伴い、小・中学校の生徒の検便検査を実施した事例では、EHEC O26感染者は確認されなかったが、EHEC Ouk：NM（事例番号60）、O131：H4（事例番号61）、O103感染者（事例番号62）が確認された。これらのうち、EHEC O103感染者は家族内感染であることも判明した。

EHECの輸入感染事例として、昨年と同様⁷⁾に、中国を修学旅行で訪れた、秋田市内の高校生がEHECに感染した（事例番号59）。生徒から分離されたEHECの血清型は昨年のO26と異なり、O157であった。この事例においては、生徒がEHEC O157だけではなく、毒素原性大腸菌、腸管凝集付着性大腸菌、Attaching and Effacing E.coli、サルモネラなど複数の種類の下痢原性細菌に感染している事実が判明⁸⁾し、前年の事例とも併せて今後中国への修学旅行を実施する際には十分な衛生指導を実施する必要があることが示された。

以上のように、平成11年度は秋田県でdiffuse outbreak、輸入感染事例を含む各種のEHEC感染事例が過去に例がない程多数発生したことが特徴であった。EHEC感染事例のうち、給食従事者やその他の無症状保菌者が確認された場合、その公衆衛生上の重要性を軽視する傾向がみられるが、無症状保菌者はEHECを排出し続けること、そしてEHECの感染菌量は僅少であることから、無症状保菌者がEHEC感染源となる危険性について再認識する必要がある。

一方、検査技術に関してはHCl処理法などの新たな選択技術や選択培地、特殊な遺伝子を標的としたPCR法などを導入することにより、EHECの検出精度と迅速性の向上、加えて検査労力の軽減を実現した反面、検査プロセス、検査の組み立ては著しく複雑化した。従って、EHEC検査を実施する際には、特に充分な検査精

表2 平成11年度EHEC感染事例一覧

事例番号	種 別	受付月日	保 健 所	性別	血 清 型	毒 素 型	備 考	No. EC
1	家族	5.13	秋田市	男	O26:NM	VT-1&2	事業団分離株	2306
		15		男	O26:NM	VT-1&2	父	2311
		15		女	O26:NM	VT-1&2	母	2312
		17		男	O26:NM	VT-1&2	祖父	2314
		17		女	O26:NM	VT-1&2	祖母	2315
2	散発	5.13	秋田市	女	O146:H21	VT-2	SRV食中毒	2308
3	散発	5.30	秋田市		O3:H10	VT-1	ワークセンター	2339
4	散発	6.1	秋田市	男	O28ac:H25	VT-2	ワークセンター	2344
5	家族	6.17	湯 沢	女	O157:H7	VT-1&2	町立羽後病院外注	2380
		6.21		女	O157:H7	VT-1&2		2381
		6.22		男	O157:H7	VT-1&2		2382
		6.24		男	O157:H7	VT-1&2		2390
6	散発	6.27	秋田市	男	O165:H8	VT-2	食中毒関連	2409
7	散発	6.27	秋田市	男	O32:NM	VT-2	食中毒関連	2410
8	家族	7.13	湯 沢	女	O26	VT-1	雄勝中央分離株	2480
		14		女	O26	VT-1	祖母	2493
		14		男	O26	VT-1	兄	2494
9	散発	7.15	中 央		O165:Hroug	VT-1&2	事業団臨床、藤原記念HP	2499
10	家族	7.19	大 曲	男	O26	VT-1	仙北組合分離株、血便	2516
		21		女	O26	VT-1		2518
11	家族	7.23	秋田市	女	O26:NM	VT-1	事業団ブロス、今村HP小児科	2531
		25		男	O26:NM	VT-1	父	2532
		23		女	O26:NM	VT-1	母	2533
12	園内	7.27	鷹 巣		O91:NM	VT-1	園生	2546
		27			O91:NM	VT-1	園生	2547
13	家族	7.27	大 曲	男	O157	VT-1&2	大曲中通分離株、下痢微熱*	2548
		30		男	O157	VT-1&2	父	2566
		8.02			O157	VT-1&2	母の実家の牛舎	2578
		8.02			O157	VT-1&2	母の実家の牛舎*	2579
		8.02			O157	VT-1&2	母の実家の牛舎* *同一PFGE	2580
14	散発	8.06	秋田市	女	O157:NM	VT-2	栄養士	2595
15	散発	8.14	秋田市	女	O26:NM	VT-1&2	事業団臨床、BTB、土崎金子医院	2633
16	家族	8.16	横 手	男	O157:NM	VT-1&2	平鹿総合 CTSM 8/15	2639
		16		女	O157:NM	VT-1&2		2659
		16		男	O157:NM	VT-1&2		2660
		16			O157:NM	VT-1&2		2661
17		8.18		女	O157:	VT-2	雄勝中央 株	2656
18	家族	8.19	秋田市	男	O26:NM	VT-1	事業団臨床、BTB、牛島土田小児科	2662
		8.20		女	O26:	VT-1	母	
		8.20		男	O26:	VT-1	兄	
19		8.20	秋田市	男	O157:	VT-1&2	赤十字 CT-SM	2663
20	散発	8.20	湯 沢	男	O157:	VT-2	雄勝中央 株、8/18受診、血便	2669
21	散発	8.23	横 手	男	O157:	VT-1&2	平鹿総合 CT-SM	2675
22	家族	8.23	横 手	男	O157:	VT-1&2	平鹿総合 CT-SM	2688
		23		女	O157:	VT-1&2	平鹿総合 CT-SM兄妹	2689
23	家族	8.23	湯 沢	女	O157:	VT-1&2	菅医院（雄勝）事業団横手支所株	2691
		24		男	O157:	VT-1&2	菅医院（雄勝）事業団横手支所株	2697
24	散発	8.24	湯 沢	女	O157:	VT-1&2	雄勝高橋内科医院事業団横手支所株	2698
25	散発	8.24	本 荘		O103:	VT-1	給食従事者事業団ブロス	2711
26	散発	8.26	横 手	男	O157:		外注	2745
27	散発	8.26	本 荘	女	O157:	VT-2	由利株	2722

事例番号	種 別	受付月日	保 健 所	性別	血 清 型	毒 素 型	備 考	No.EC
28	家族	8.26	横 手	女	O157:	VT-1&2	平鹿総合 CT-SM	2721
		27		男	O157:	VT-1&2	兄妹	2723
		27		男	O157:	VT-1&2	父	2724
		27		男	O157:	VT-1&2	祖父	2725
		27		男	O157:	VT-1&2	曾祖父	2726
		27		女	O157:	VT-1&2	母	2732
29	家族	8.29	横 手	女	O157:	VT-1&2	平鹿総合 CT-SM	2727
		30		女	O157:	VT-1&2		2749
30	家族	8.29	大 曲	男	O157:	VT-1&2	大曲吉村クリニックBCL經由728	
		30		女	O157:	VT-1&2	2746	
		30		女	O157:	VT-1&2	2747	
		30		女	O157:	VT-1&2	2748	
		30		男	O157:	VT-1&2	2750	
		30		男	O157:	VT-1&2	2751	
		30		女	O157:	VT-1&2	2752	
31	散発	8.30	横 手	女	O157:	VT-1&2	仙北 CT-SM 血便	2729
☆	環境	8.30	横 手		O157:	VT-1&2	8/28横手HC採取フキトリ、(横手焼肉屋)	2730-1
32	散発	9.01	秋田市	女	O26:	VT-1	菅原循環器呼吸器医院 事業団BTB	2753
33	家族	9.02	横 手	男	O157:	VT-1&2	平鹿総合 CT-SM 血便	2758
		02			O157:	VT-2		2773
		02			O157:	VT-1&2		2774
34	家族	9.02	大 曲	男	O26:	VT-1	仙北組合 株血便	2759
		02		女	O26:	VT-1		2771
		02		男	O26:	VT-1		2772
35	散発	9.06	横 手		O157:	VT-1&2	焼肉店従業員9/2事業団自主検	2780
36	家族	9.07	横 手	男	O157:	VT-1&2	平鹿総合 CT-SM血便入	2781
		07		女	O157:	VT-1&2		2794
37	家族	9.07	秋田市	女	O111:NM	VT-1	事業団プロス 小松内科クリニック	2782
		07		女	O111:NM	VT-1		2791
		07		男	O111:NM	VT-1		2792
38	散発	9.07	横 手	男	O157:	VT-1&2	平鹿総合 CT-SM	2783
39	散発	9.08	湯 沢	男	O157:	VT-1&2	事業団横手支所株CT-SM 雄勝高橋医院	2790
40	散発	9.09	秋田市	男	O26:	VT-1	白根胃腸クリニック 事業団臨床	2795
41	保菌	9.12	横 手	女	O157:	VT-1&2	健康相談9/10採便 一族4名検査他陰性 横117	2812
☆	環境	9.10	横 手		O55:	VT-1	横手HC 9/12採取焼肉店フキトリ	2813
42	保菌	9.14	横 手	男	O55:	VT-1	健康相談9/11採便 事No.2614	2826
☆	食品	9.13	湯 沢		O157:	VT-2	BールY掘店	2828
43	保菌	9.14	横 手	男	O157:	VT-1&2	健康相談9/14搬入ブローズ	2829
44	保菌	9.14	横 手	女	O157:	VT-2	健康相談9/14搬入ブローズ	2830
45	保菌	9.14	秋田市		O55:	VT-1&2	小学校給食従事者	2831
46	保菌	9.16	横 手	男	O55:	VT-1	健康相談9/16搬入ブローズ	2843
47	保菌	9.16	横 手	男	O157:	VT-1&2	健康相談9/16搬入ブローズ	2844
48	保菌	9.17	横 手	男	O157:	VT-1&2	健康相談9/17搬入ブローズ Y1439	2848
49	保菌	9.17	横 手	男	O157:	VT-1&2	健康相談9/17搬入ブローズ Y1303	2849
50	保菌	9.17	横 手	女	O157:	VT-1&2	健康相談9/17搬入ブローズ Y1305	2850
51	保菌	9.18	横 手	男	O157:	VT-1&2	健康相談9/18搬入ブローズ Y1631	2855
52	保菌	9.18	横 手	女	O157:	VT-1&2	健康相談9/18採取便 衛研直搬	2856
53	保菌	9.21	横 手	女	O157:	VT-1&2	健康相談9/21採取便 衛研直搬	2868

事例番号	種 別	受付月日	保 健 所	性別	血 清 型	毒 素 型	備 考	No. EC
54	家族	9.24	湯 沢	女?	O111:NM	VT-1	雄勝中央株 水下痢・血便・発熱—	2872
		28		男	O111:NM	VT-1	湯沢HC採取便 CT-SorMacで分離	2889
		28		女	O111:NM	VT-1	湯沢HC採取便 CT-SorMacで分離	2890
		28		男	O111:NM	VT-1	湯沢HC採取便 CT-SorMacで分離	2891
55	保菌	10.11	大 館		O55	VT-2	養護学校 CT S HCl R	2918
56	散発	10.19	秋田市	女	O157	VT-1&2	青森、岩手（焼肉屋）旅行	2932
		20		男	O157	VT-1&2	同一行動（彼氏？）	2949
57	家族	10.22	大 曲	女	O26	VT-1	仙北分離株	2933
		11.02		女	O26	VT-1	大曲HC採取便	3010
		02		女	O26	VT-1	大曲HC採取便	3011
58	散発	10.22	秋田市		O121	VT-2	事業団ブローズ／BTB 福島内科	2935
59	集団	10.22	秋田市		O157	VT-2	中国修学旅行高校2年生	2940
					O157	VT-2	中国修学旅行高校2年生	2941
					O157	VT-2	中国修学旅行高校2年生	2942
					O157	VT-2	中国修学旅行高校2年生	2943
					O157	VT-2	中国修学旅行高校2年生	2944
					O157	VT-2	中国修学旅行高校2年生 事業団検査分	2945
					O157	VT-2	中国修学旅行高校2年生	2946
					O157	VT-2	中国修学旅行高校2年生 衛研分離	2991
							EPEC狙いから	
☆	収去検食	10.25	横 手		O26	VT-1	学校給食センター	2998
☆	収去検食	10.25	横 手		O26	VT-1	学校給食センター	2999
60	保菌	11.02	横 手		Ouk:NM	VT-1	検食O26陽性事例関連小中学校生徒検便eaeA+	3012
61	保菌	11.02	横 手		O131:H4	VT-1	検食O26陽性事例関連小中学校生徒検便eaeA-	3013
62	保菌	11.02	横 手		O103	VT-1	検食O26陽性事例関連小学校 eaeA+	3096
		11			O103	VT-1	家族 eaeA+	3109
		11			O103	VT-1	家族 eaeA+	3110
		11			O103	VT-1	家族 eaeA+	3111
63	家族	11.10	秋田市	男 3	O121	VT-2	外旭川病院事業団臨床 eaeA+	3105
		11.12		女32	O121	VT-2	母親（下痢・腹痛有り） eaeA+	3114
		11.12		男 8	O121	VT-2	兄 eaeA+	3115
64	保菌	11.11	本 荘		O55	VT-1&2	O町教育委員会 eaeA-	3112
65	保菌	11.12	本 荘		OX179:H8	VT-2	Y町S苑 eaeA-	3113
66	保菌	11.18	横 手		O91	VT-1	A園 eaeA-	3137
67	散発	03.24	大 曲		O157:H7	VT-1&2	横浜市事例と関連? eaeA+	3404

表 3 年度別、血清型別 EHEC 感染事例発生数

	原因菌血清型			合計
	O157	O26	他血清型	
平成8年度	4	6	4	14
平成9年度	12	6	9	27
平成10年度	14	8	12	34
平成11年度	35	10	22	67

度を確保するために、PCR-RFLP やサザンハイブリダイゼーション法その他の遺伝子学的実験技術に習熟するだけでなく、複雑化した分離同定技術、とりわけ選択培養技術の応用方法に関する十分な知識と、実践経験が必要となり、単に PCR 法を習得しただけの技術者で

は対応不可能である。一方、欧米などの原著論文には EHEC 検査の改良に応用可能な技術がしばしば報告されており、EHEC 検査担当者には現行の方法の問題点を認識し、応用可能と考えられる技術を発見・積極的に導入することにより常に現行法の改良を目指すという姿勢が求められる。

現在の秋田県における EHEC 検査体制は平成8年に確立されたが、大規模な集団事例に対する対応能力は未知数であった。しかしながら、平成11年度には diffuse outbreak と検食に関連した事例で大規模な検査を実施する機会が生じ、当所においても1日500検体程度の処理能力があることが実際に証明された。この検査能力は、EHEC 感染事例として一般的に県内で発生する、家族内感染事例などの対応には充分であるといえる。なお、

秋田県で大規模食中毒に該当する diffuse outbreak が発生したのは平成3年以来、今回の事例が初めてであり、このような事例の発生はまれであるといえる。一方、EHEC による大規模食中毒として社会的にも最も問題となるのは堺市の事例のような、学校給食を原因として発生する食中毒であると考えられる。秋田県で最大規模の給食センターの給食提供数は1日4,000食程度であり、このことから県内で発生する可能性があると考えられる EHEC 食中毒の患者数は最大で4,000人規模と推察される。今回の事例では、秋田県総合保健事業団の協力を得ることにより、約4,000検体の検便検査を僅か5日程度の短期間で終了可能であることが実際に証明された。従って、県内で発生する可能性があると考えられる最大規模の EHEC 食中毒事例に際しても、今回と同様に秋田県総合保健事業団の協力を得ることにより実際に対応可能と考えられる。これらのことから、現行の秋田県の EHEC 検査体制はほぼ完成されたものであるといえよう。平成11年に発生した diffuse outbreak や検食に関連する事例はまれな事例であり、今後再び発生する可能性は低いと考えられるが、今後も検査精度と検査効率の向上を目指し、現行法の改良に取り組む必要があると考えられた。

VI. 文 献

- 1) 八柳 潤, 他. 秋田県で散発下痢症から分離された Vero 毒素産生性大腸菌の性状. 感染症学雑誌, 1995 ; 69 : 1286-1293.
- 2) 八柳 潤, 他. 1997年7月に秋田県で分離された Vero 毒素産生性大腸菌 O121 : H19 2株の疫学性状と Virulence factor. 感染症学雑誌, 1999 ; 73 : 218-214.
- 3) Ewing W.H. : Edward's and Ewing's Identification of Enterobacteriaceae 4th ed. Elsevier Science Pub Co, New York, 1986.
- 4) 齊藤志保子, 他. 牛が原因と考えられた Vero 毒素産生性大腸菌 O103 : H 2 による家族内感染事例. 感染症学雑誌, 1998 ; 72 : 707-713.
- 5) 八柳 潤, 他. 1997年7月に秋田県で分離された Vero 毒素産生性大腸菌 O121 : H19 2株の性状. 病原微生物検出情報月報, 1998 ; 19 : 4.
- 6) Karmali, M.A. Infection by Verocytotoxin-producing Escherichia coli. Clin. Microbiol. rev., 1989 ; 2 : 15-38.
- 7) 齊藤志保子, 他. 中国に修学旅行した高校生の EHEC O26 : H11 と Salmonella Albany 等集団混合感染事例－秋田県. 病原微生物検出情報月報, 1998 ; 19 : 5.
- 8) 八柳 潤, 他. 中国に修学旅行した高校生が EHEC O157 : H 7 など複数の下痢原性細菌に集団感染した事例の概要－秋田県. 病原微生物検出情報月報, 2000 ; 21 : 94-95.