

秋田県における平成3－14年度のEHEC感染事例発生状況と 感染給食従事者の陰性化確認で経験した問題点

八柳 潤 齊藤志保子 佐藤 晴美

秋田県における平成3－14年度のEHEC感染事例発生状況、および給食従事者定期検査においてEHEC O91 VT-1+が2ヶ月後に再検出された事例について検討した。年間のEHEC感染事例数は40程度で推移する傾向がみられ、平成14年度はEHEC O121 VT-2+施設内集団感染事例1事例を含む41事例のEHEC感染事例が発生した。給食従事者定期検査でEHEC O91 VT-1+が検出され、2ヶ月後の検査で同一人から同菌が再検出された事例において、一旦陰性化した菌が再検出された理由は不明であるが、検出限界以下まで減少したEHEC O91 VT-1+が、その後検出感度以上に増加した可能性が考えられた。EHEC O91は市販型別血清がないため、医療機関検査室などでは菌陰性化の確認が実施できず、薬剤感受性試験が実施されないことが問題となった。型別血清が市販されていない血清型のEHECの感染者をフォローアップするためには保健所と衛研、医療機関の密接な連携が必須であると考えられた。

キーワード：腸管出血性大腸菌、給食従事者、陰性化確認、抗菌剤投与、薬剤感受性試験

I はじめに

3類感染症は感染症新法に「ベロ毒素（VT）を産生する腸管出血性大腸菌（EHEC）の感染によりおこる全身疾患」と定義されている¹⁾。EHECは50個程度の少数で発症するため²⁾2次感染予防対策として給食従事者などの定期検便の徹底、無症状保菌者の発見と除菌が重要である。無症状保菌者が発見された場合、「一次、二次医療機関における腸管出血性大腸菌感染症治療の手引き（以下、治療の手引き）」³⁾では、幼稚園など集団生活により2次感染の恐れがある場合や感染者が就業制限の対象となる職種に就いている場合には抗菌剤の使用を考慮すること、また、抗菌剤投与後、直近の1回の検便が陰性であった場合に「陰性化」とみなされ、就業制限が解除されるとされている。秋田県では、県の外郭団体である秋田県総合保健事業団でVT遺伝子を指標としたPCR法を応用した方法により給食従事者等の検便検査を実施している。この検査は市販血清を使用する一般の検査機関では検出不可能なO91、O103、OX3などの血清型のEHECを検出可能であり、これらの菌を原因とする2次感染の防止に寄与してきた。

今回は、県内における平成3－14年度のEHEC感染事例発生状況と併せて、給食従事者の定期検査においてEHEC O91 VT-1+が陽性となり、2ヶ月後の検査で同菌が同一人から再検出された事例2事例の概要、及びその対応過程で明らかとなった問題点について報告する。

II 方 法

1. 給食従事者のEHEC検査方法

秋田県総合保健事業団において、山崎らが報告したVTcomプライマー⁴⁾を使用したPCR⁵⁾により検便検体中のEHECをスクリーニングした。EHECが検出された検体について、当所においてFukushimaらの報告⁶⁻⁸⁾に準じてEHECを分離し、既報⁵⁾に準じて同定した。

2. EHEC分離株の薬剤感受性試験

「治療の手引き」³⁾に推奨されているホスホマイシンなどに対する分離株の最少発育濃度を、市販パネル（ドライプレート「栄研」DP-21）を使用した微量液体希釈法により測定した。

3. *eaeA* および *saa* 遺伝子の検出とパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）パターン

eaeA 遺伝子は既報⁹⁾に従い、*saa* 遺伝子はPattonらが報告したプライマー¹⁰⁾を使用したPCRにより検出した。また、PFGEパターンは既報⁹⁾に準じて比較検討した。

III 結 果

1. 平成3－14年度のEHEC感染事例発生状況

図1に秋田県における平成3年から14年のEHEC感染事例発生数を、O157感染事例とNon-O157感染事例毎に、有症事例と無症状事例に分けて示した。秋田県で確認された年間のEHEC感染事例数は、平成8年度以降増加し、平成10年度以降は40事例程度で推移する傾向がみられた。無症状事例は年によりO157感染事例の0-17%、Non-

図1 県内におけるEHEC感染事例発生状況（平成3年～14年）

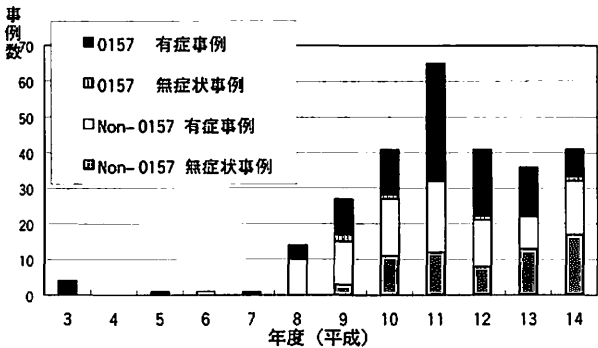


表1 Non-O157 EHECの血清型（平成3年～14年）

有症84事例（%）			無症状72事例（%）		
O26	43	(51.2)	O91	17	(23.6)
O121	14	(16.7)	O103	11	(15.3)
O103	10	(11.9)	O55	6	(8.3)
O111	5	(6.0)	O26	5	(6.9)
O91	3	(3.6)	O8	4	(5.6)
O128	2	(2.4)	O145	3	(4.2)
その他	7	(8.2)	O146	2	(2.8)
			O165	2	(2.8)
			UT	6	(8.3)
			その他	16	(22.2)

斜体：血清が市販されていないために、一般の検査機関では検査不能な血清型

O157感染事例の20～53%を占めた。表1にNon-O157感染事例の事例数を原因菌の血清型毎に、有症事例と無症事例に分けて示した。O26による事例は有症事例の51%、無症事例では6.9%を占めた。一方、O91による事例は有症事例の3.6%、無症事例の23.6%を占めた。また、O121は有症事例のみから分離された（16.7%）。以上の結果から、有症事例においてはO26、無症事例ではO91の分離頻度が高いことが示された。なお、O103は有症事例、無症事例ともにほぼ同頻度で分離された。平成14年度のEHEC感染事例一覧を表2に示した。EHEC感染事例発生数はO157感染事例9事例（有症事例8、無症事例1）、Non-O157感染事例32事例（有症事例15、無症事例17）、計41事例であった。溶血性尿毒症症候群（HUS）を併発した事例はなかった。事例数を原因菌の血清型毎に比較すると、O157とO103による事例がそれぞれ9事例と最も多く、O26による事例が8事例、O91による事例が7事例であった。集団感染事例としては、知的障害者施設でEHEC O121 VT-2+集団感染事例が1事例発生したが、HUSの併発もみられず、深刻な健康被害の発生には至らなかった。

2. 給食従事者定期検査においてEHEC O91 VT-1+が陽性となり、翌月の検査では陰性と判定されたものの、2ヶ月後の検査で同菌が同一人から再検出された2事例
平成14年度は給食従事者定期検査でEHEC O91 VT-1+感染が確認され、翌月一旦陰性化したものの2ヶ月後の検査で同一人から同菌が再検出された事例を2事例経験した。事例の概要は以下のとおりであった。

1) 事例1の概要：幼稚園勤務のAは7月の定期検査でEHEC O91 VT-1+が陽性となった。8月の定期検査では陰性と判定されたが、9月の検査で再びEHEC O91 VT-1+が検出された。O91は市販血清がなく、医療機関検査室等では検査不能のため、Aの陰性化確認は保健所が実施することとなり、検査は当所が担当した。Aが妊娠していたため主治医は抗菌剤を投与せず、9月17日と18日に検便を実施したが、その結果はいずれもEHEC O91 VT-1+が陽性であった。9月19日からセフェム系薬剤が投与されたが、26日の検査までAは陰性化しなかった。Aから分離されたEHEC O91 VT-1+の薬剤感受性試験は実施されていなかったために、当所で試験を実施したところ、当該株はホスホマイシン、カナマイシン、ノルフロキサシンのいずれにも感受性であることが判明した。この成績は保健所から主治医に情報提供され、9月27日からホスホマイシンがAに投与された。その結果、9月30日以降の検査結果から陰性化が確認された（図2）。

図2 保育園勤務AのEHEC O91 VT-1+陰性化確認経過

EHEC O91分離 検便日	↓セフェム系							↓ホスホマイシン				
	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
17日 9月	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
18日	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
19日	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
20日	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
24日	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
25日	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
26日	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
27日	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
30日	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
1日 10月	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
2日	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
3日	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-

2) 事例2の概要：小学校勤務のBが8月の定期検査でEHEC O91 VT-1+が陽性となった。9月の検査では陰性と判定されたが、10月の検査で再びEHEC O91 VT-1+が検出された。前事例の経験から分離株の薬剤感受性試験を実施し、ホスホマイシン感受性であることを保健所に情報提供した。Bにはホスホマイシンが投与され、10月18日に医療機関で採取した検便を当所において検査した結果、陰性化が確認された。

3) EHEC O91 VT-1+分離株の*eaeA*、*saa*遺伝子保有状況とPFGEパターン：AとBから分離されたEHEC O91 VT-1+はいずれも*eaeA*、*saa*遺伝子共に陰性であった。また、Aから7月26日と9月14日に分離されたEHEC O91 VT-1+の*XbaI* PFGEパターンは同一であった。

IV 考 察

平成2年に埼玉県某幼稚園でEHEC O157による集団感染事例¹¹⁾が発生し、2名の園児が死亡したことによ

表2 平成14年度に県内で発生したEHEC感染事例一覧

事例番号	年月日	担当保健所	事例種別	血清型	VT型	備考
1	6月22日	横手	散発	O26	VT-1	
2	7月6日	中央	給食従事者	O103	VT-1	
3	7月12日	横手	給食従事者	O103	VT-1	
4	7月3日	秋田市	散発	O111	VT-1	
5	7月15日	本荘	家族 ¹⁾	O26	VT-1	家族1名陽性
6	7月18日	本荘	散発	O103	VT-1	
7	7月19日	横手	施設内集発	O121	VT-2	他3名陽性
8	7月23日	秋田市	散発	O157	VT-1,2	
9	7月24日	本荘	家族 ¹⁾	O157	VT-2	家族2名陽性
10	7月25日	秋田市	散発	O157	VT-1,2	
11	7月25日	秋田市	散発	O157	VT-2	
12	7月26日	湯沢	給食従事者	O91	VT-1	
13	7月31日	大曲	散発	O157	VT-1,2	
14	8月3日	中央	散発	O157	VT-1,2	
15	8月8日	本荘	散発	O91	VT-2	
16	8月9日	湯沢	家族 ¹⁾	O26	VT-1	家族3名陽性
17	8月13日	大曲	給食従事者	O103	VT-1	家族1名 O103 VT-1+陽性 家族1名 O8 VT-2+陽性
18	8月21日	鷹巣	給食従事者	O91	VT-1	
19	8月22日	本荘	家族	O157	VT-1,2	家族3名陽性
20	8月23日	鷹巣	給食従事者	O103	VT-1	
21	8月24日	鹿角	給食従事者	O103	VT-1	
22	8月28日	横手	散発	O121	VT-2	
23	9月3日	湯沢	散発	O26	VT-1	
24	9月14日	湯沢	給食従事者	O91	VT-1	事例番号12と同一人
25	9月19日	本荘	給食従事者	O26	VT-1	
26	9月30日	中央	家族 ¹⁾	O26	VT-1	家族1名陽性
27	10月5日	能代	給食従事者	O91	VT-1	
28	10月6日	能代	給食従事者	OUT	VT-2	
29	10月9日	大館	給食従事者	O91	VT-1	事例番号18と同一人
30	10月16日	横手	散発	O26	VT-1	
31	11月13日	鷹巣	給食従事者	O8	VT-2	
32	11月15日	秋田市	給食従事者	O91	VT-1	海外旅行同行者1名陽性
33	12月4日	鷹巣	給食従事者	O8	VT-2	事例番号31と同一人
34	12月30日	中央	散発	O103	VT-1	
35	1月6日 ²⁾	秋田市	散発	O103	VT-1	
36	1月9日	秋田市	給食従事者	O103	VT-1	
37	1月24日	中央	散発	O18	VT-2	
38	1月30日	鷹巣	給食従事者	O157	VT-2	
39	1月30日	大曲	散発	O26	VT-1	
40	3月8日	大曲	給食従事者	O148	VT-2	
41	3月21日	秋田市	散発	O157	VT-2	

1) 家族内感染事例

2) 事例番号35以降は平成15年に発生した事例

り、国内においてEHEC感染による健康被害の深刻さが初めて認識された。この事例を契機として、秋田県においても平成3年に初めてEHEC O157感染者が確認¹²⁾された。その後、平成8年にEHEC O157による食中毒事例が全国的に多発したことによりEHEC感染症が指定感染症となり、さらに感染症新法では3類感染症に位置付けられた。その結果、EHEC感染者の発生時に家族や感染源の調査が実施される体制が確立し、本感染症の発生実態が明らかとなってきた。秋田県における年間のEHEC感染事例発生数は、平成10年度以降、40事例程度で推移する傾向がみられ、今後もこの傾向は継続するものと推察される。Non-O157 EHEC感染事例においては、無症状事例が20-53%を占めることが示された。この原因は、給食従事者の定期検査において検出されるEHECの多くがNon-O157 EHECであることによると考えられる。また、有症事例の原因菌としてはO26、無症状事例の原因菌としてはO91が最も多いことが明らかとなった。EHEC感染により発生する健康被害のうち、特に深刻なものはHUSの併発など感染者の重篤化である。国内において感染者にHUSを惹起したEHECの血清型はO157がほとんどである¹³⁾が、我々はEHEC O121が症状の重篤化を招く可能性が高い菌型であることを指摘¹⁴⁾ ¹⁵⁾してきた。諸外国においてもEHEC O121感染に伴うHUS発症事例が報告されている¹⁶⁻¹⁸⁾ また、佐賀県においてはEHEC O121により保育園で集団感染事例が発生¹⁹⁾しており、今後も深刻な健康被害を惹起する可能性が高い菌型としてEHEC O121の動向に注目する必要があると考えられる。

EHEC感染症を予防する上で感染源の特定が重要と考えられる。秋田県ではこれまで、畜産農家の飼育牛からEHEC O103に感染したと考えられた事例²⁾、牛舎の糞便が井戸水を汚染したことが発生要因と考えられたEHEC O121によるHUS発症事例²⁰⁾、飼育牛からEHEC O26に感染したと考えられる事例（未発表）が発生しており、飼育牛の衛生管理などがこのような事例の予防に重要と考えられる。一方、焼肉店が原因施設と考えられたEHEC集団感染事例も数事例発生しており、これらの事例においては輸入牛肉の関与が疑われた。即ち、県内で流通している輸入牛肉のEHEC汚染実態を把握することが、このような事例の発生予防対策を構築する上での第1歩と考えられる。EHECは50個程度の少数で発症するため²⁾、ヒトからヒトへの感染が成立する。従って、給食を伴う施設におけるEHEC感染事例の発生予防するために給食従事者の定期検便の徹底による無症状保菌者の発見、および保菌者の除菌が重要である。治療の手引き²⁾には、感染者が就業制限の対象となる職種に就いている場合や幼稚園など集団生活により2次感染の恐れが

ある場合には抗菌剤の使用を考慮することと記されている。今回、我々はEHEC O91が2ヶ月後に再検出された給食従事者の感染事例を2事例経験した。O91の型別用血清は国内で市販されていないために、医療機関の検査室などではO91の菌陰性化の確認ができないこと、従って、適切な抗菌剤を選択する上で必須な薬剤感受性試験も実施し得ないことが問題として認識された。この問題は表1に斜体で示した血清型のEHECの感染事例にも共通すると考えられる。事例1では保健所が陰性化確認を実施する方針をとり、検査と薬剤感受性試験を当所が担当した。事例2では保健所の指導により医療機関で採取した検便を当所が検査を実施して陰性化の確認に至った。このような対応は上記問題点を解決する手法の一つと考えられた。

EHECに感染した給食従事者が翌月に陰性化し、2ヶ月後に再び陽性となったことは県内で過去に例をみない。陰性化した菌が再検出された理由は不明であるが、事例1で7月と9月に分離された菌のPFGEパターンが同一であったことから、検出限界以下まで減少したEHEC O91 VT-1+が、その後検出感度以上に増加した可能性が考えられる。事例1の原因菌はEHECの既知腸管定着因子である*eaeA*²¹⁾と*saa*²²⁾が共に陰性であるにもかかわらず、陰性化確認過程で約2週間感染者から検出され続けた。このことは、当該菌が未知の定着因子を保有する可能性を示唆する事実として興味深い。

県内ではEHEC O91の他にEHEC O121、O103など、型別血清が市販されていない血清型のEHEC（表1、斜体）による感染者が毎年発生している。このような菌の感染者については、有症者、無症状者ともに2次感染防止策を講じることが健康被害の拡大を防止する上で重要と考えられ、感染者を確実にフォローアップするためには保健所と衛研、医療機関の密接な連携が必須であると考えられた。

V ま と め

平成3-14年度のEHEC感染事例発生状況、および給食従事者定期検査においてEHEC O91 VT-1+が検出され、2ヶ月後の検査で同菌が再検出された2事例について検討して以下の知見を得た。

- ・秋田県における年間のEHEC感染事例数は40事例程度で推移すると考えられた。
- ・Non-O157感染事例のうち、有症事例においてはO26、無症状事例ではO91の分離頻度が高かった。
- ・平成14年度のEHEC感染事例発生数は41事例、集団事例（EHEC O121 VT-2+感染事例）が1事例発生したが、深刻な健康被害の発生には至らなかった。
- ・EHEC O91、EHEC O121、EHEC O103など、市販

型別血清がない血清型のEHECの感染事例では、医療機関検査室などでは菌陰性化の確認および薬剤感受性試験が実施し得ないことが問題であることが明らかとなった。

- ・ EHEC O91、EHEC O121、EHEC O103などの感染者を確実にフォローアップするためには保健所と衛研、医療機関の密接な連携が必須であると考えられた。

VI 文 献

- 1) 厚生省保健医療局結核感染症課. 感染症新法に基づく医師から都道府県知事等への届出のための基準について. 感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律, 1999; 288-289.
- 2) 厚生省生活衛生局食品保健課乳肉衛生課食品化学課監修、日本食品衛生協会. 食中毒予防必携, 1998; 117-130.
- 3) 竹田美文 (腸管出血性大腸菌感染症の診断治療に関する研究班班長). 一次、二次医療機関のための腸管出血性大腸菌 (O157等) 感染症治療の手引き. 厚生省; 1998.
- 4) 山崎伸二, 他. Vero毒素産生製大腸菌のPCR (DNA増幅) 法による迅速同定. 日細菌誌, 1991; 46: 289.
- 5) 齊藤志保子, 他. 牛が感染源と考えられVero毒素産生性大腸菌O103:H2による家族内感染事例, 感染症誌, 1998; 72: 703-713.
- 6) Fukushima, H. et al. An effective, rapid and simple method for isolation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26, O111 and O157 from faeces and food samples. Zentralbl Bakteriologie, 1999; 289: 415-428.
- 7) Fukushima, H. et al. Hydrochloric acid treatment for rapid recovery of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O26, O111 and O157 from faeces, food and environmental samples. Zentralbl Bakteriologie, 1999; 289: 285-299.
- 8) Fukushima, H. et al. Selective isolation of eae-positive Shiga toxin-producing *Escherichia coli*. J. Clin. Microbiol., 2000; 38: 1684-1687.
- 9) Yatsuyanagi, J. et al. Characterization of Enteropathogenic and Enteraggagative *Escherichia coli* isolated from diarrheal outbreaks. J. Clin. Microbiol., 2002; 40: 294-297.
- 10) Patton, A.W. et al. Direct detection and characterization of Shiga toxigenic *Escherichia coli* by multiplex PCR for *stx1*, *stx2*, *eae*, *ehxA*, and *saa*. J. Clin. Microbiol., 2002; 40: 271-274.
- 11) 城 宏輔. 埼玉県某幼稚園で流行した *Escherichia coli* O157:H7 による出血性大腸炎. 臨床と微生物, 1996; 23: 869-878.
- 12) 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. 感染症誌, 1995; 69: 1286-1293.
- 13) 国立感染症研究所感染症情報センター. 腸管出血性大腸菌感染症2001年4月現在. 病原微生物検出情報月報, 2002; 22: 135-136.
- 14) 八柳 潤, 他. 1997年7月に秋田県で分離された腸管出血性大腸菌 (EHEC) O121:H19の性状. 病原微生物検出情報月報, 1998; 19: 4-5.
- 15) 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. 感染症誌, 1999; 73: 218-224.
- 16) Cornu, G. et al. Hemolytic uremic syndrome in Belgium: incidence and association with verocytotoxin-producing *Escherichia coli* infection. Clin. Microbiol. Infect., 1999; 5: 16-12.
- 17) McCarthy, T.A. et al. Hemolytic-uremic syndrome and *Escherichia coli* O121 at a lake in Connecticut. Pediatrics, 2001; 108: E59.
- 18) Stock, K.J. et al. Hemorrhagic colitis due to a novel *Escherichia coli* serotype (O121:H19) in a transplant patient. Transpl. Int., 2001; 14: 44-47.
- 19) 増本喜美子, 他. 保育園における腸管出血性大腸菌O121:H19の集団発生事例-佐賀県. 病原微生物検出情報月報, 2002; 23: 143-144.
- 20) Yatsuyanagi, J. et al. A case of Hemolytic-uremic syndrome associated with Shiga toxin 2-producing *Escherichia coli* O121 infection caused by drinking water contaminated with bovine feces. Jap. J. Infect. Dis., 2002; 55: 174-176.
- 21) McKee, M.L. et al. Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 requires intimin to colonize the gnotobiotic pig intestine and to adhere to HEp-2 cells. Infect. Immun., 1995; 63: 3739-3744.
- 22) Patton, A.W. et al. Characterization of Saa, a novel auto agglutinating adhesin produced by locus of enterocyte effacement-negative Shiga-toxigenic *Escherichia coli* strains that are virulent for humans. Infect. Immun., 2001; 69: 6999-7009.