

# 保育園における腸管出血性大腸菌 O157 集団感染事例

尾崎延芳・財津修一・藤丸淑美・樋脇弘

福岡市保健環境研究所保健科学課

## An Outbreak of Enterohemorrhagic *Escherichia Coli* O157:H7 Infection in Nursery School

Nobuyoshi OZAKI, Syuichi ZAITSU, Yoshimi FUJIMARU  
and Hiroshi HIWAKI

Health Science Division, Fukuoka City Institute for Hygiene and the Environment

### 要約

2009年7月に市内のA保育園において腸管出血性大腸菌 O157:H7 (VT2) による集団感染事例が発生した。全園児、職員及び O157 陽性者の家族について検便を行い、14名から O157 を検出した。また、これらの代表株による PFGE パターンはほぼ一致した。本事例は、疫学調査および検査結果より、初発園児を含むクラスを中心とした、園児および家族間でのヒトからヒトへの感染が強く推察されたが、原因を究明することはできなかった。

**Key Words** : 腸管出血性大腸菌 Enterohemorrhagic *Escherichia coli* : EHEC, 保育園 Nursery School, 集団感染事例 Outbreak, O157, パルスフィールド・ゲル電気泳動 Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)

## 1 はじめに

腸管出血性大腸菌感染症集団発生事例は、1996年、堺市の小学校での大規模な集団感染事例以降も依然として保育園、老人施設等における発生が報告され、最近では食中毒と断定された広域事例 (diffuse outbreak) も報告されている<sup>1)</sup>。

本市においても、1998年以降、例年100名前後の同菌感染症患者の発生がみられ、10名以上の集団感染事例も多く発生している<sup>2-11)</sup>。本年度も市内の保育園において腸管出血性大腸菌 O157 (以下 O157) 集団感染事例が発生したのでその概要を報告する。

## 2 概要及び検査

### 2.1 概要

2009年7月7日、市内医療機関より2歳男児から腸管出血性大腸菌 O157:H7 (VT2) が検出された旨の届出が

管轄保健福祉センター (保健所) にあった。この男児は市内のA保育園 (園児135名、職員36名) に通園していたため、保健福祉センターが保育園の調査を行ったところ、同じクラスの別の2歳男児も7月7日より軟便を呈していたことが判明した。

保健福祉センターは初発の2歳男児の家族、全園児および職員を対象に検便を実施した。そして、この検便により O157 が検出された園児家族等の接触者検便が実施され、最終的に、延べ383件の検体が当所に搬入された (園児、職員については2回の検便を実施)。

### 2.2 検査

検査は、直接分離培養と免疫磁気ビーズ法による O157 の選択濃縮およびスクリーニング検査として増菌液からの EIA 法によるベロ毒素の測定を行った。O157 と同定された分離株についてはベロ毒素遺伝子の型別および代表株による PFGE を実施した。

#### 2.2.1 直接分離培養

糞便を 2.5mg/L 亜テルル酸カリウム添加ソルビトール

マッコンキー寒天培地（自家製；基礎培地はBD）及びクロモアガーO157 培地（CHROMagar）に塗抹後、37℃で18～20 時間培養した。

### 2.2.2 免疫磁気ビーズ法

糞便を Tryptic Soy Broth (BD) に接種し、37℃で6 時間培養後、免疫磁気ビーズ法（Dynabeads anti-E.coli O157；invitrogen）により O157 を選択濃縮後、2.2.1 の方法で分離培養した。

### 2.2.3 スクリーニング検査

糞便を 100 μg/L マイトマイシン C 添加 CAYE 培地（自家製）に接種し、37℃で 18 時間以上浸漬培養後、EIA 法（ノバパスベロ毒素 EIA キット；BIO-RAD）によりベロ毒素を測定した。

### 2.2.4 分離菌の同定

分離されたコロニーは生化学的性状検査、血清学的検査およびPCR 法（One-shot O157 typing kit；TaKaRa）によるベロ毒素遺伝子の型別を行なった。

### 2.2.5 パルスフィールド・ゲル電気泳動

本事例から分離された O157 の代表株 10 株と、同月に検出された散発事例由来の腸管出血性大腸菌 1 株を併せてパルスフィールド・ゲル電気泳動（以下 PFGE と略）を実施した。制限酵素は *Xba* I を用いた。

## 3 結果および考察

園児 10 名（2 名は医療機関で検出）、職員 1 名および菌陽性園児の家族 3 名（初発園児の家族 1 名、同クラス園児の家族 2 名）の計 14 名から O157 が検出された。また、1 名からは OUT:H21（VT2）も分離された。

O157 陽性園児の年齢分布（図 1）は 1 歳児が 5 名、2 歳児が 3 名、3 歳児が 2 名であった。3 歳児 2 名を除く園児 8 名は、全て初発園児と同クラスの園児であり、O157 陽性の職員は同クラスの担任であった。なお、菌陽性（2 名）の 3 歳児クラスには初発園児の姉が在籍していたが、この姉から同菌は検出されなかった。

O157 陽性者 14 名のうち、有症者は 3 名で、残りはすべて無症状病原体保有者で医療機関を受診した 2 名以外は接触者検便で同菌が検出された。有症者のうち 1 名は少量の血便が認められたが、他の 2 名の症状は軟便程度と比較的症状が軽く、O157 陽性園児の 80% は初発園児と同クラスの園児であった。

分離された菌の代表株 10 株（図 2、2-11 レーン）について PFGE を行った結果、9 株は 17 本のバンドが同じ位置に現れた。1 株（図 2、9 レーン）は、2 本のバンドの相違が見られたが、それ以外のバンドパターンは一致した。これらのパターンは本市において同月に発生した散発事

例とは異なったパターンであり、本市で今年度（4～6 月）分離された株のなかには同様のパターンを示すものはなかった。

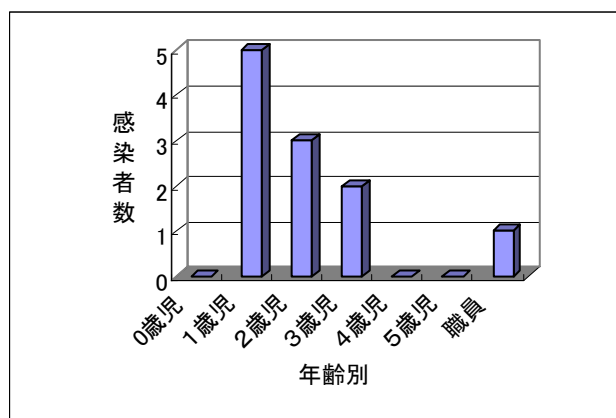


図 1 腸管出血性大腸菌 O157 陽性園児の年齢分布

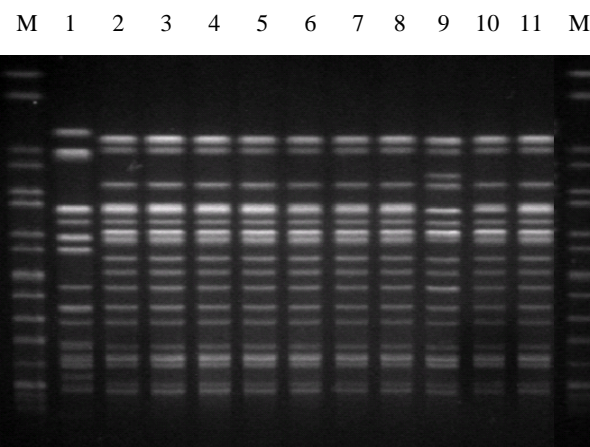


図 2 腸管出血性大腸菌の PFGE パターン  
 レーン 1：O157:H7(VT2)，散発事例  
 レーン 2～11：O157:H7(VT2)，本集団事例  
 M：DNA マーカー（*Salmonella* Braenderup H9812）

本事例は、疫学調査等の結果、O157 陽性園児が初発園児と同クラスに集中していること、菌陽性園児の家族内での感染が確認されていること、4 歳児、5 歳児および他の職員から当該菌が検出されなかったことから、保育園の給食など、園が提供した飲食物による食中毒であるとは考えにくかった。分離された菌の代表株における PFGE パターンからは、同一の感染源に由来することが示されたが、感染源を究明することはできなかった。しかし、感染経路は初発園児を含むクラスを中心とした園児および家族間でのヒト・ヒト感染であることが推察された。

近年、保育園におけるヒトからヒトへの感染による腸管

出血性大腸菌集団感染事例は数多く報告されているが、それらの事例の中では、患者発生に伴う家族内の二次感染も数多く発生している。したがって、二次感染のリスクが高い保育園などにおいては、用便後や食事前の手洗い、おむつなどの汚物の適切な処理、園内の定期的な消毒など、二次感染防止対策を厳格に実施することが必要である。

なお、当研究所では、腸管出血性大腸菌の検査にあたり、培養法とは別に、EIA法による毒素の検出によるスクリーニング検査を実施している。今回も、スクリーニング検査で陽性であった1名からはO157が検出されず、OUT:H21 (VT2) が分離された。したがって、このスクリーニング検査は、O157以外の腸管出血性大腸菌の検査にも十分有効であることが示された。

## 謝辞

今回の集団感染事例において、喫食調査及び患者情報を提供いただきました管轄保健福祉センターの職員の方々へ深謝いたします。

## 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，30，119～134，2009
- 2) 真子俊博他：保育園で発生した腸管出血性大腸菌（O26）の集団感染例，福岡市保健環境研究所報，23，168～170，1998
- 3) 真子俊博他：福岡市内保育園で発生した腸管出血性大腸菌（O157）の集団無症感染例，福岡市保健環境研究所報，24，99～103，1999
- 4) 山下由美子他：福岡市保育園における腸管出血性大腸菌 O111:H- の集団感染事例，福岡市保健環境研究所報，25，119～122，2000
- 5) 尾崎延芳他：福岡市内某保育園で発生した腸管出血性大腸菌（O26:H11）の集団感染事例，福岡市保健環境研究所報，26，158～162，2001
- 6) 尾崎延芳他：保育園における腸管出血性大腸菌（O26:H11）の集団感染事例，福岡市保健環境研究所報，27，178～180，2002
- 7) 尾崎延芳他：「キュウリの浅漬け」が原因と推察された腸管出血性大腸菌 O157 の集団感染事例，福岡市保健環境研究所報，28，120～124，2003
- 8) 尾崎延芳他：食肉販売店による腸管出血性大腸菌 O157 感染事例，福岡市保健環境研究所報，29，160～162，2004
- 9) 尾崎延芳他：海外の修学旅行が原因と推察された腸管出血性大腸菌 O157 集団感染事例，福岡市保健環境研究所報，29，163～166，2004
- 10) 尾崎延芳他：HUS 2 症例から探知された腸管出血性大腸菌 O157 の集団感染事例，福岡市保健環境研究所報，33，126～129，2008
- 11) 尾崎延芳他：バーベキュー大会の食事が原因と推察された腸管出血性大腸菌 O157:H7 集団食中毒事例，福岡市保健環境研究所報，34，66～68，2009