

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

尾崎延芳・大庭三和子・武田昭

福岡市保健環境研究所保健科学部門

An Outbreak of Enterohemorrhagic *Escherichia Coli* O157:H7 Infection, Probably Caused by Overseas School Excursion

Nobuyoshi OZAKI, Miwako OHBA,
and Akira TAKEDA

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

要旨

2003年12月、高校2年生女子生徒1名から腸管出血性大腸菌O157が検出されたと届出があった。調査の結果、12月初旬にオーストラリアへ修学旅行に行ったことが判明した。

修学旅行に参加した生徒等の健康調査により下痢・嘔吐等の消化器症状を呈する生徒が10数名いたことから集団感染が疑われ、高校2年生全員396名、修学旅行に同行した教員15名、添乗員10名に対し検便検査を実施した。菌陽性者は、医療機関を受診した3名を含めると2年生58名(14.7%)、教員2名(13.3%)であった。また、菌陽性者の家族89名(市外分は除く)中1名(1.1%)から本菌が分離された。分離された菌株の代表菌株についてパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)を実施した結果、同一パターンが認められた。

感染経路を究明するため、聞き取り等の疫学調査を行った結果、オーストラリアにおける修学旅行での感染による集団感染であることが推察された。

Key Words: 腸管出血性大腸菌 *Enterohemorrhagic Escherichia coli* (EHEC), 集団感染事例 Outbreak, O157, 修学旅行 School excursion, 高校生 High school student, パルスフィールドゲル電気泳動 Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), オーストラリア Australia

はじめに

腸管出血性大腸菌感染症は、1999年4月から3類感染症とされ、全数把握の対象疾患となり、感染症発生動向調査により感染者の報告がなされるようになり、患者及び無症状病原体保有者は毎年3,000名前後が報告されている。¹⁾ 感染者のほとんどは国内感染例で、海外由来の本菌感染症の報告はあまり例をみない。

2003年12月市内の高校生が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集団感染事例を経験

したので報告する。

概要および方法

2003年12月12日、市内医療機関から管轄保健福祉センターへ17歳女性(高校2年生)から腸管出血性大腸菌O157(VT1&2)が検出された旨の届出があった。

調査の結果、患者は12月2日から8日にかけてオーストラリアへの修学旅行に参加しており、修学旅行に参加した生徒等419名のうち16名に12月7日から下痢、

腹痛、嘔吐等の食中毒症状を呈していることが判明し、集団感染が疑われた。

初発患者の届出を受けた 12 月 12 日から 14 日にかけて健康調査を、また 13 日から 15 日にかけて、修学旅行に参加した生徒、教員、添乗員の第 1 回目の検便を実施した。1 回目の検便の結果、無症状保菌者が多かったこと及び潜伏期間を考慮して 1 回目検便陰性者に対して 2 回目検便を 12 月 18 日に実施した。

検査は、シードスワブ(トランスシステム)により採便し、2.5mg / L 亜テルル酸カリウム加ソルビット寒天培地、クロモアガー O157 寒天培地での直接分離培養と平行して、マイトマイシン C (最終濃度 100 µg / L) を添加した CAYE 培地で 37 18 時間以上浸漬培養後、ノバパスペロ毒素 EIA キット (BIO-RAD) によりペロ毒素の測定を行った。

分離された疑わしいコロニーは PCR 法にてペロ毒素遺伝子の型別を行い、型別できたものについては生化学性状検査、血清学的検査および代表株について薬剤感受性試験と RPLA 法 (デンカ生研) によりペロ毒素の定量試験を実施した。

また、医療機関より入手した菌株と当所で分離された菌株の代表株について制限酵素 *Xba* によるパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) を行った。

結果及び考察

12 月 12 日から 14 日までの健康調査の結果、下痢、腹痛、嘔吐等の食中毒症状を呈した者は 16 名で、修学旅行中の 12 月 5 日から出現していることが判明した。

当所において 12 月 13 日から 15 日にかけて、2 年生 394 名、修学旅行に同行した教員 15 名、添乗員 10 名について第 1 回目の検便を実施したところ、2 年生 50 名および教員 1 名の計 51 名から腸管出血性大腸菌 O157 が検出された。また、第 1 回目の検便で本菌陽性者の家族 72 名 (市外分は除く) に対しての家族検便では、生徒の母親 1 名から本菌が分離された。しかし、1 回目検便で感染が判明した生徒等に無症状保菌者が多く見受けられたことから、潜伏期間も考慮して、第 1 回目検便陰性者 (367 名) に対して第 2 回目の検便を実施した。その結果、2 年生 7 名、教員 1 名の計 8 名から新たに本菌が分離された。2 回目検便で新たに本菌が検出された生徒等の家族 (17 名) については全員陰性であった。

直接分離培養と平行して実施した CAYE 培養液中からペロ毒素を検出する EIA 法との一致率は 88.3 % で、直接分離培養で菌が分離されたにもかかわらず、7 名は EIA 法が陰性であった。このことは、菌量や検体中の反

応妨害物質の存在、手技等の問題も考えられるが、我々は従来より EHEC の検査において、直接分離培養と EIA 法を併用しており、特に健康危機等の緊急時には迅速な菌検索を必要とすることから非常に有効な手段と考えている。

表-1 に感染者等の状況、表-2 に班別旅行参加者の感染状況を示した。

最終的な菌陽性者は医療機関を受診した 3 名を含めると 2 年生 58 名 (14.7%)、教員 2 名 (13.3%) 及び菌陽性者の家族 (市外分は除く) 1 名 (1.1%) の計 61 名となった。

表-1 感染者等の状況

区分	人数	菌陽性者 (%)
生徒	394	58 (14.7%)
教員	15	2 (13.3%)
家族等	89 (市外分除く)	1 (1.1%)
計	498	61 (12.2%)

表-2 班別旅行参加者の感染状況

区分	人数	菌陽性者 (%)
A 班	生徒	196 (36 (18.4))
	教員	7 (1 (14.3))
	添乗員	5 (0 (0))
B 班	生徒	198 (22 (11.1))
	教員	8 (1 (12.5))
	添乗員	5 (0 (0))
計	419	60 (14.3)

修学旅行は A 班 (12 月 2 日出発)、B 班 (12 月 3 日出発) の 2 つの班に分散し、オーストラリアへ出発した。A 班、B 班は一部重複する箇所は見受けられるもののそれぞれの日程により行動していた。班別の旅行参加者の感染状況は A 班 37 名 (18.0%)、B 班 23 名 (11.0%) であった。

同時期、福岡市での腸管出血性大腸菌 O157 の発生は 11 月に 2 例の散発事例があったものの、他に本菌の流行はみられず、高校に限局された集団感染が疑われた。しかも、高校関係者のなかでも感染者は修学旅行に参加した高校 2 年生を中心に感染が拡大していたことから、管轄保健福祉センターは国立感染症研究所 FETP に調査協力依頼を行った。

分離された O157 は PCR 法にてすべて VT1&2 を確認した。そのうち 20 株について RPLA 法 (デンカ生研) によるペロ毒素の定量 (振盪培養後、上清をポリミキシン B 処理) を試みた結果、VT1 で 256 ~ 2,048 倍、VT2 で 8 ~ 128 倍を示した。通常、O157 の産生するペロ毒

素は特に VT2 の産生量が高くそのため強い病害を引き起こすと考えられている。当所保存株での VT2 定量値はほとんどの株 (72 %) で 1,000 倍以上の値を示しているが、20 倍以下の株が 5 % にみられている。1999 年には市内保育園における集団感染事例 (園児家族等感染者 25 名) において分離された菌株の VT2 定量値が 2 ~ 128 倍を示し、初発患者を除き感染者は全員無症状という特異な事例も経験している。2)

Okitsu ら³⁾ は IS (Insertion Sequence) 遺伝子の挿入がヒトの O157 にも起こっていることを明らかにしており、前述の事例から分離された菌株の一部については VT2 遺伝子の A サブユニットの終わりに IS1203V の挿入を確認している⁴⁾。

今回の事例から分離された菌株が RPLA 法で VT2 に対する力価が低かった理由として、菌株がキットの抗体と反応しにくいような VT2 バリエーションを保有している可能性、IS 等の外来遺伝子の挿入および遺伝子の部分的な突然変異の可能性もあると考えられた。

そこで、VT1 と VT2 の遺伝子の全長 (OFR) PCR を依頼したところ、1.2kb 程度 (= 通常通り) の増幅産物が得られた。したがって、この時点では IS など外来遺伝子の挿入は考えにくいと思われた。

次に、VT2 遺伝子の部分的な突然変異の可能性について、シーケンシングを依頼した。その結果、VT1 はゲノム解析された O157:H7 堺株と同じで、VT2 は VT2vhd に対して 660 番目に変異 (C → A) がみられたが、アミノ酸は同一で、IS などの挿入はみられなかった。本結果から、RPLA 法で VT2 の値が低い理由としては、RPLA 法のキット (抗体) が本 VT2 バリエーションに対する検出感度が低い。菌側の何らかの機構で菌の VT2 産生量が少ない。VT2 は産生しているが、菌体外 (培養上清) に分泌される量が少ない。VT2 コード領域以外の変異などで転写や翻訳の抑制などがあることなどが考えられ、現在調査中である。

現時点では、単純に VT2 毒素産生性が従来の O157 に比較して極めて低いことが無症状保菌者が多くみられた原因のひとつとも考えられる。

無作為に抽出した 5 株の 12 薬剤「EM, NA, TMP, OFLX, ST, KM, AMK, CP, NFLX, ABPC/SBT, FOM, CFZ」による薬剤感受性試験 (K-B 法) は同一パターン (EM, CP に耐性) を示した。

また、斑が異なる任意の菌株について制限酵素 *Xba* によるパルスフィールド・ゲル電気泳動 (PFGE) の結果でも同一パターンが認められた (図-1)。しかし、2003 年日本で報告され、国立感染症研究所に搬入された他の O157VT1&2 株の PFGE パターンとは異なっていたことから、修学旅行での感染曝露が疑われた。

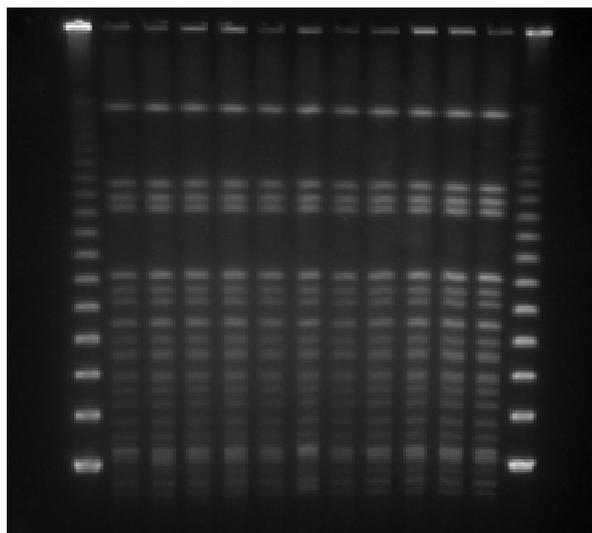


図-1 PFGE パターン

感染源を追求するため健康調査、喫食調査、行動調査および積極的症例探査、記述疫学等の疫学調査がなされ、発症確定例は 9 名 (A 斑 5 名, B 斑 4 名) に絞られた。これら確定例の発症日は 12 月 5 日から 10 日と確定例発症曲線 (図-2) が一峰性を示し、斑が異なる任意の PFGE パターンも一致していることから単一曝露が疑われた。しかも、修学旅行の行動に関して、症例すべてが 12 月 4 日 (A 斑), 5 日 (B 斑) に同じ場所での動物 (馬, 羊, 山羊, 牝牛) との接触歴があった。逆に接触歴がないものは感染していないことも判明し、動物との接触が要因の一つであると示唆された。食事に関しては共通性に乏しく、感染原因の可能性は低いと思われた。

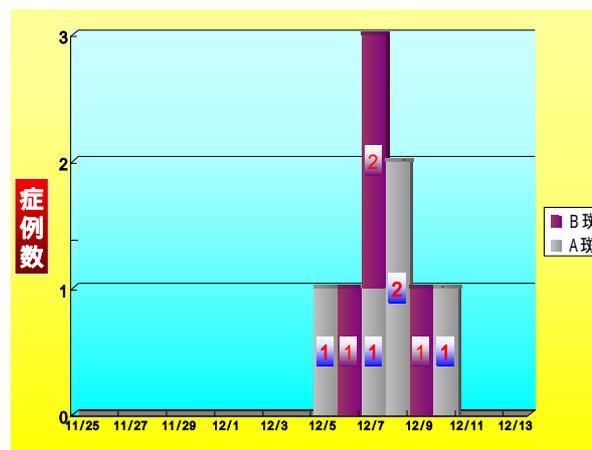


図-2 確定例発症曲線

昨今、国内外を問わず、動物とのふれあいを目的とした教室、体験施設が多々見受けられるようになってきた。本事例においても、動物との接触が危険因子の可能性も否めないことから、動物との接触後の手洗い等の励行を

喚起する必要があると思われた。

今回の事例は、調査の結果、海外における修学旅行中に感染が起きた可能性が高い。食品の取り扱い、環境、動物に関するさらなる調査により原因究明の可能性があるとされる。しかし、国外での調査は情報収集に限界があり、原因を究明することはできなかった。

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，24，6，129～130
- 2) 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
- 3) Okitsu T, *et al* : Identification of shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Possessing Insertionally Inactivated Shiga Toxin Gene,45(4),319～322，2001
- 4) 真子俊博他：マイトマイシン C による EHEC の stx 産生性，亜テルル酸カリウム感受性，溶血性に関する疫学的検討 福岡市保健環境研究所報 26 82～87，2001