

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

尾崎延芳・真子俊博・吉田眞一

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, detected by HUS 2 Cases

Nobuyoshi OZAKI, Toshihiro MAKO,
and Shinichi YOSHIDA

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

要約

2007 年 11 月下旬から 12 月上旬にかけて市内の同じ保育園に通園する 2 名の保育園児が発熱・腹痛・水様下痢・血便を呈し、いずれも原因菌が検出されずに HUS を併発し、血清中の O 抗原凝集抗体が検出されたことから、園児 2 名が在籍しているクラス園児等の検便を実施した。その結果、園児 9 名及び園児家族等 3 名の計 12 名から O157:H7 (VT1&2) が検出され、HUS 発症園児 2 名を含むと計 14 名の感染が確認された。

Key Words : 腸管出血性大腸菌 Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC), 集団感染事例 Outbreak, O157, 溶血性尿毒症症候群 Hemolytic Uremic Syndrome (HUS), パルスフィールドゲル電気泳動 Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), 保育園 Nursery school

1 はじめに

腸管出血性大腸菌感染症は、感染症法（1999 年 4 月施行）に基づく三類感染症として、無症状保菌者を含む症例の報告が義務づけられている。また、2006 年 4 月より、溶血性尿毒症症候群（HUS）発症例については、便からのベロ毒素検出あるいは血清からの O 抗原凝集抗体または抗ベロ毒素抗体検出によって診断された場合も届出が必要となっている。その報告は、全国で毎年 3,000～4,000 例が報告されており¹⁾、そのうち無症状保菌者が約 30～40%、有症状者が 60～70%であり、有症状者のうち HUS 等を合併する重症例や死亡例も数%にみられている²⁾。また、2007 年の 10 人以上の集団感染事例は全国で 18 事例報告されている²⁾。

本市における 2007 年度の腸管出血性大腸菌感染症は、

84 事例 122 名の患者発生がみられ、その内訳は、無症状保菌者は 45 名 (36.9%)、有症状者は 77 名 (63.1%) であり、有症状者のうち HUS を発症した者が 5 名にみられ、その年齢層は 4～9 歳の小児において認められた。

今回、市内の同じ保育園に通園する 2 名の保育園児が相次いで HUS を発症したことに端を発した腸管出血性大腸菌感染症の集団感染事例を経験したので報告する。

2 概要および検査方法

2.1 概要

2.1.1 探知および調査

2007 年 11 月下旬から 12 月上旬にかけて、市内の同じ保育園に通園する保育園児、女兒 A (4 歳) 及び女兒 B

(5歳)の2名が発熱、腹痛、水様下痢、血便を呈し受診した。女兒Aは抗生剤の投与をされていないにもかかわらず、2回の便検査でいずれも有意菌は検出されず血便を呈した初診から4日目でHUSを発症し医療機関Aに入院した。管轄保健所は、この時点でHUSの診断にて医療機関Aに女兒Aが入院している事実を知り、女兒Aが通園する保育所の調査をおこなった。調査の結果、女兒Aとは別のクラスの女兒Bも下痢、腹痛で医療機関Bに入院していることが判明したが、保育園からは、その他の園児には下痢、腹痛等の症状は認めないとの情報を得た。女兒Bについては発病1日目から抗生剤の投与を受けており、一時症状は鎮静化したものの、再び下痢、腹痛を呈し医療機関Bに入院し、便検査も実施されたが有意菌は検出されないまま初診から8日目にHUSを併発していた。

女兒A及び女兒Bはそれぞれ入院している医療機関で、HUSと診断されたものの、便から有意菌は検出されず、女兒AはHUS発症から5日目に、また女兒BもHUS発症から6日目に血清中のO抗原凝集抗体が検出され、管轄保健所にそれぞれ届出がなされ、防疫活動が開始された。

2.2 検査方法

HUSを発症した女兒2名から血清中のO抗原凝集抗体が検出され、管轄保健所への届出に基づき、12月11日から保育園の職員及び保育園児等を対象に検便を開始したが、HUS発症女兒Bの初期症状が出て既に12日間が経過していた。最終的には12月25日までに延べ302名の検便を実施した。

当該保育園は、園児数182名で、0～1歳児、1～2歳児、2～3歳児及び3～6歳児(1～4組)にクラス分けがされており、27名の職員で構成されていた。

検査は、シードスワブ(トランシシステム)により採便し、2.5mg/L 亜テルル酸カリウム加ソルビトールマッコンキー寒天培地(OXOID)、O157:H7 ID培地(BIOMERIEUX)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100µg/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ELISAキット(BIO-RAD)により、ペロ毒素の測定も行った。また、Tryptic Soy Broth(BD)にて37℃6時間前増菌後、Dynabeads anti-*E.coli* O157 (invitrogen)にてO157を選択濃縮した。分離されたコロニーはPCR法にてペロ毒素遺伝子の型別、生化学的性状検査、血清学的検査、RPLA法(デンカ生研)によるペロ毒素(VT)の定量、薬剤感受性試験(K-B法)及び制限酵素Xba Iによるパルスフィールド電気泳動(PFGE)を実施し

た。

3 結果および考察

2007年12月11日から25日にかけてHUSを呈した女兒A及び女兒Bの家族、保育園の職員及び保育園児等302名の検便を実施した。その結果、HUSを呈した女兒2名の家族、保育園の職員から当該菌は検出されなかったが、他の園児9名及びその園児家族3名の計12名からO157:H7(VT1&2)が検出された。12月25日には今回の事例で感染が確認されたクラス(1組、2組、0～1歳児、1～2歳児)全員及び感染が確認された家族について2回目の検便を実施したが、全員陰性でその後も当該菌は検出されず、終息した。

表1 クラス別菌陽性園児

菌陽性者	クラス別	年齢	備考
女兒①	1組	5歳	男児③の姉
男児①	1組	6歳	
女兒②	2組	3歳	女兒⑤の姉
男児②	2組	4歳	
男児③	2組	4歳	女兒①の弟
女兒③	2組	5歳	
女兒④	2組	6歳	
女兒⑤	0～1歳児	1歳	女兒②の妹
女兒⑥	1～2歳児	2歳	
家族①			女兒①&男児③の母
家族②			男児②の母
家族③			男児②の父

当該菌が分離されたのはHUSを発症した園児がそれぞれ在籍する1組、2組と、0～1歳児及び1～2歳児の計4クラス9名の園児及びその園児家族3名の計12名であった。9名の園児の内訳は1組が2名、2組が5名、0～1歳児及び1～2歳児がそれぞれ1名ずつであった。このうち、1組の女兒①は弟(男児③)が2組に、2組の女兒②には妹(女兒⑤)が0～1歳児クラスに在籍していた。男児①、男児②、女兒③、女兒④及び女兒⑥の5名には保育園に通園する兄弟等はいなかった。感染が確認された家族3名についてはいずれも1組、2組の菌陽性園児の家族であった(表1)。

当該菌が検出された12名のうち、直接分離培養で当該菌が分離された者が11名、ノバパスペロ毒素ELISAキットで毒素が検出された者が9名、Dynabeads anti-*E.coli* O157で当該菌が分離された者が10名であった。当該菌が分離された12名のうち、直接分離培養でのみ

当該菌が分離された者が 2 名 (②, ④), 直接分離培養では陰性, ノバパスベロ毒素 ELISA キット及び Dynabeads anti *-E.coli* O157 による選択濃縮により当該菌が分離できた者が 1 名 (③), ノバパスベロ毒素 ELISA キットで陰性, 直接分離培養及び Dynabeads anti *-E.coli* O157 による選択濃縮で当該菌が分離された者が 1 名 (⑩) にみられた (表 2).

今回実施した直接分離培養法, ELISA 法によるベロ毒素の測定, Dynabeads anti *-E.coli* O157 による選択濃縮法の三法で特に不一致例が見られた②, ④については, 直接分離培養でそれぞれ当該菌はかろうじて 1 個のみ発育しており, 糞便中の O157 の菌量が非常に微量であったことが覗かれた. ELISA 法で検出されなかった要因としては, ベロ毒素産生量が感度以下, 糞便中の非特異的物質等による妨害反応の可能性があり, Dynabeads anti *-E.coli* O157 で濃縮できなかった要因としては, 細菌類の非特異的な吸着等, 前培養時に他の腸内細菌の優勢な発育により, O157 の発育が抑制された等が考えられた.

表 2 各方法による検出状況

No.	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧	⑨	⑩	⑪	⑫
Isolate	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
ELISA	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
Dynabeads	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

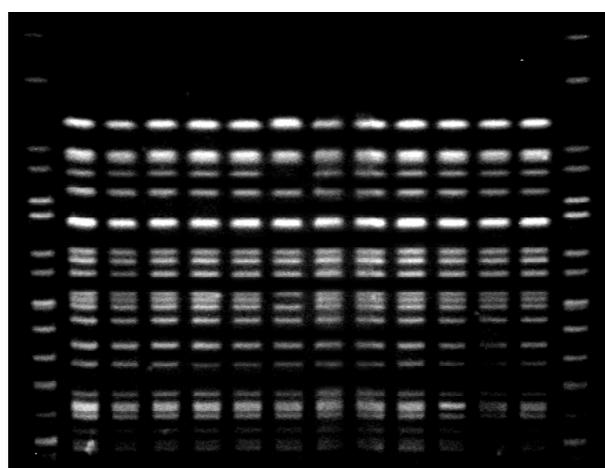
これら分離された全ての菌は, PCR 法による毒素型別, 生化学性状検査及び血清学的検査により, O157:H7 (VT1&2) が確認された.

VT1&2 が確認された全菌株について, RPLA 法 (デンカ生研) によるベロ毒素の定量 (マイトマイシン C 添加による) を試みた結果, VT1 の定量値が 1,280 ~ 2,560 倍, VT2 の定量値が 2,560 倍=<の値を示した. 通常, O157 の産生する VT は特に VT2 の産生量が高く, in vivo における様々な要因により強い病害を引き起こすと考えられている. 本事例で分離された当該菌の VT2 産生量は, 我々の調査でのカテゴリーでは低~中度産生株の範疇である. 現に, HUS を発症した 2 園児以外の感染者は, 無症状~軽微な症状で感染が推移していた. 今回, 2 園児に限りどのようなメカニズムで HUS を発症したのかは不明である. O157 の最も重要な病原因子である VT2 はファージにより導入され, その誘導の有無により病原性が大きく異なるとされていることから, VT2 産生を直接制御する因子の特定をプロモーター領域 (約 500bp) 等と比較し, VT2 遺伝子のコピー数やプロファージとして存在する VT2 ファージの特定などを調査することにより, 人により病原性が大きく異なるこ

との原因が解明される可能性もあるのではないかと考えられた.

7 薬剤「EM, KM, CP, FOM, CEZ, ABPC, TC」による薬剤感受性試験 (K-B 法) は, 全菌株で EM, ABPC, TC の 3 薬剤について耐性, KM, CP, FOM, CEZ の薬剤については感受性を示す同一パターンが確認された.

制限酵素 *Xba*-I によるパルスフィールド電気泳動 (PFGE) の結果を図 1 に示した. ①~⑤, ⑦~⑫は PFGE パターンが一致, ⑥は 2 本のバンドの相違 (2bands differ. from ①~⑤, ⑦~⑫) がみられた. 2 本あるいは 3 本程度のバンドの違う菌株は相互に密接な関連がある株と考えられることから, 全株とも同一の origin であると推察された.



M ① ② ③ ④ ⑤ ⑥ ⑦ ⑧ ⑨ ⑩ ⑪ ⑫ M
図 1 PFGE パターン

本事例は保育園児 (女児 A 及び女児 B) 2 名が便検査において有意菌が検出されないまま HUS を発症し, 血清中の O 抗原凝集抗体が検出されたことにより, O157 感染症と診断された. 最初の消化器症状出現から O157 感染症と診断されるまでに 9 ~ 14 日間を要していた. この間, 当該保育園児 182 名中, 消化器症状を呈した者が 6 名いたことが判明したが, この 6 名は保育園を休むことなく登園していた. これら 6 名の園児については, 接触者検便で当該菌が検出されたことで保健所が保護者に詳細な聞き取りを行った結果得られた情報である.

表-3 に有症者の経過を示した. 症状としては, 軟便が 4 名 (男児①, ②, 女児②, ③), 腹痛が 1 名 (女児①), 下痢が 1 名 (男児③) であり, このうち医療機関を受診した 2 名 (男児②, ③) は時期的に感染性胃腸炎の流行時期と重なっていたため, 嘔吐下痢症と診断され, 検便は実施されていなかった. また, 2 組に在籍する女児②は今回 HUS を呈した女児 B の発病 (11 月 30 日) よりも 5 日早い 11 月 25 日から軟便の症状を呈していた

表-3 有症者の経過

	1組			2組				
	女兒 A	女兒①	男児①	女兒 B	女兒②	女兒③	男児②	男児③
11/24					軟便			
					↓			
11/30				発熱	↓			
12/1				小児科受診 (抗生剤開始)	↓			
12/2	血便・下痢 急患センター受診			症状なし	↓			下痢
12/3	小児科受診 便検査 (陰性)			下痢・腹痛 便検査 (陰性)	↓	軟便	軟便	↓
12/4	↓			↓	↓	↓		↓
12/5	↓			入院, 便検査 (陰性)	↓			
12/6	HUS(+), 入院			↓	↓			
12/7	↓		軟便	↓	↓			
12/8	↓	腹痛	↓	HUS(+)	↓			
12/9	↓	↓	↓	↓				
12/10	↓	↓	↓	↓				
12/11	O 抗原凝集抗体(+)	↓		↓				
12/12		↓		↓				
12/13		↓		↓				
12/14				O 抗原凝集抗体(+)				

ものの、この女兒②も休むことなく登園していた。この女兒②の家族については、症状もなく、女兒②の発症より3週間以上が経過した12月14日に検便が実施されたこと等もあり、当該菌は検出されず、女兒②の感染経路は不明であった。

1, 2組以外の園児では、女兒⑤(0~1歳児)は、姉(女兒②)がHUSを発症して入院した女兒Bと同じ2組に在籍し、この姉(女兒②)からも当該菌が検出されていることから、家族内感染が示唆された。女兒⑥(1~2歳児)から当該菌が分離されたことについては、HUSを発症した女兒A(1組)及び女兒B(2組)のクラスとは階段で上下に仕切られ接触もなく、他に兄弟等も保育園に通っていなかったが、HUSを発症した女兒Bの妹と同じ1~2歳児に在籍していた。しかし、女兒Bの妹からは当該菌は分離されておらず、感染経路は不明であった。

感染者12名中8名が親子及び同保育園に通園する兄妹間の感染であり、感染者はHUSを発症した女兒A(1組)及び女兒B(2組)のクラス内とその家族で大半以上を占め、職員等からは当該菌が検出されなかったこと

及び喫食調査等における資料からは保育園の給食等、園が提供した飲食物が原因とは考えにくいと思われた。

分離された菌株のPFGEパターン等の疫学的解析からは、同一の感染源に由来するものと考えられ、園児および家族間による人→人感染により拡大していったものと推察された。

しかしながら、HUSを呈した女兒A及び女兒Bから菌が分離されていないことや喫食調査等で原因となるものが見あたらないこと等から、感染源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，25，156～157，
- 2) 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，29，5，1～2
- 3) 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