

仕出し弁当が原因となった 腸管出血性大腸菌 O157 集団食中毒事例

麻生嶋七美・尾崎延芳・藤丸淑美・本田己喜子

福岡市保健環境研究所保健科学課

An Outbreak of Food Poisoning Caused by Enterohemorrhagic *Escherichia Coli* O157 Associated with Home-Delivered Meals

Nanami ASOSHIMA, Nobuyoshi OZAKI Yoshimi FUJIMARU, and Mikiko HONDA

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

Summary

In July 2012, an outbreak of enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) O157 infection occurred in Fukuoka city. All of 9 patients ate same home-delivered meals which cooked at the catering company in Fukuoka city. The stool examination of employees who cooked the meals and the examination of the meals which they ate revealed that EHEC O157 strains were isolated from 1 employee. The IS code of these 10 isolates derived from IS-printing system was corresponding, and the PFGE pattern of those was corresponding, too. These molecular epidemiological analysis of the isolates and the epidemiological survey by the public health center indicated that this outbreak was food poisoning associated with home-delivered meals. Because analysis time of IS-printing system is much shorter than analysis time of PFGE, IS-printing system is useful. IS-printing system and PFGE are needed to find the cause of food poisoning.

Key Words : 腸管出血性大腸菌 enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC), 仕出し弁当 home-delivered meal, 食中毒 food poisoning, パルスフィールド・ゲル電気泳動 pulsed-field gel electrophoresis (PFGE), アイエス・プリンティングシステム IS-printing System

1 はじめに

腸管出血性大腸菌感染症は、日本において、1999 年以降年間 2000～5000 件の届出がされており¹⁾、その血清型の半数以上は O157 が占めている。腸管出血性大腸菌はウシなどの動物に保菌されており、これらの糞便で直接あるいは間接的に汚染された食品の摂取によりヒトは本菌に感染する²⁾。そのため、本菌による食中毒の原因食品は、食肉類が大半を占めているが、野菜や井戸水など様々なものが挙げられ、その制御は難しい²⁾。O157 は、1996 年に大阪堺市で 6000 人以上の患者を出した学校給食を原因とした食中毒や、2012 年にも北海道で白菜の浅漬けを原因とした食中毒など大規模な集団食中毒を引き起こしている。このように、大量調理施設から提供された食事において O157 による食中毒が引き起こされた場

合、患者数も多く、その社会的影響力も大きい。今回、市内で大量調理施設である仕出し店が提供した弁当を原因とした腸管出血性大腸菌 O157 による集団食中毒事例が発生したのでその概要を報告する。

2 概要

2012 年 7 月 13～18 日にかけて、腸管出血性大腸菌 O157 患者 5 名の感染症発生届が、市内医療機関より管轄保健所に提出された。保健所の聞き取り調査で、この患者らは、仕出し店が提供した弁当を共通して喫食していたことがわかった。この仕出し店は、福岡市内および周辺地域で 1 日約 1800 食の弁当を提供する大規模調理施設であった。発生届が提出された 5 名は 7 月 10～12 日に下痢等

の症状を発症しており、7月4～6日の弁当を共通して喫食していた。感染の拡大防止と原因究明のために、この仕出し店の従業員31名の糞便と7月4～6日の3日分の保存食18検体および施設のふきとり10検体、弁当喫食者116名の糞便が当研究所へ搬入され、検査を実施することとなった。そして、その後さらに3名の患者の発生届が管轄保健所に提出された。

3 検査方法

3.1 糞便からの分離

亜テルル酸カリウム添加 (2.5 mg/L) ソルビトールマッコンキー培地 (Oxoid), CT-SMAC 培地 (Oxoid) およびクロモアガーO157 培地 (CHROMagar) を用いて直接分離 (37℃, 18～20 時間培養) を行うとともに, Tryptic Soy Broth 培地 (BD) にて, 37℃で6時間培養した増菌液を免疫磁気ビーズ (Dynabeads anti-E.coli O157, invitrogen) で濃縮し, 菌の分離を行った。

3.2 保存食, 施設のふきとりからの分離

ノボビオシン加 mEC 培地 (栄研化学) で, 42℃, 20～24時間増菌培養を行い, PCR法 (O-157 PCR Typing Set Plus, タカラバイオ) による増菌液からの *stx* 遺伝子の検出を行った。さらに, 増菌液を免疫磁気ビーズで濃縮し, 亜テルル酸カリウム添加 (2.5 mg/L) ソルビトールマッコンキー培地 およびクロモアガー STEC 培地 (CHROMagar) を用いて分離を行った。保存食については, BPW 培地で, 35℃, 24 時間前培養を行った。

3.3 菌の同定

生化学的性状試験, 血清型別 (デンカ生研) および PCR 法による *stx* 遺伝子の検出と型別を行った。

3.4 分子疫学的解析

IS-printing System (以下IS法, 東洋紡) は添付プロトコールにしたがって実施し, 解析は, 福岡県保健環境研究所作成の解析ソフトを用いて行った。パルスフィールド・ゲル電気泳動法 (以下PFGE) は国立感染症研究所が作成したプロトコール³⁾ にしたがって実施した。

4 結果

従業員31名中1名, 弁当喫食者116名中1名の糞便から, 腸管出血性大腸菌 O157:H- (*stx1&2*) (以下 O157) が分離されたが, 保存食および施設のふきとりから O157 は検出

されなかった。医療機関から分与された患者8名由来の菌株, 従業員から分離された1株および喫食者から分離された1株の計10株のO157は, いずれも同一の生化学的性状を示した。

Fig. 1.にIS法の電気泳動像を示す。本事例由来の10株とも, 同じISコード(57733536074)であり, 1st setにおいて, 共通して2本のエクストラバンドが検出された。これら2本のエクストラバンドは上から2番目(1-02:839bp)と3番目(1-03:742bp)の間および上から14番目(1-14:241bp)と15番目(1-15:211bp)の間に観察された。

Fig. 2.にPFGEパターンを示す。lane3の患者由来1株のみ2バンド異なっていたが, そのほかの9株は同一であった。

5 考察

本事例で, 喫食者9名と従業員1名から分離された計10株のO157は, 分子疫学的解析により, 遺伝子型が一致した。この分子疫学的解析結果と, 疫学調査の結果から, 本事例は, 仕出し弁当を原因食品とする食中毒事例であることが判明した。

本事例では, 分子疫学的解析にIS法とPFGE法を併用した。当初, 本事例は, 喫食者に対して発症者が数名と少数であり, また, 喫食調査も不明な点が多かったため, 散発事例だと考えられていた。しかし, 7月13～18日に発生届が提出された5名の患者のうち3名が, 部署は異なるものの同じ職場に勤務していたことから, 関連性の有無をIS法で確認することとなった。その結果, IS法で遺伝子型が一致し, その後の保健所の実施した疫学調査でも, 同じ仕出し弁当を喫食していることが明らかとなり, 本事例を早期に探知することができた。このように, IS法の実施により菌分離後の解析時間が大幅に短縮され, 解析結果を迅速に保健所等の関係部署へ提供することができ, 早期に感染拡大を防止できたと考える。以上のことから, IS法はPFGE法とともに, O157の食中毒発生時における原因食品の特定に有用なツールとして利用できると考えられる。

平成9年3月に厚生労働省より, 大規模食中毒を未然に防ぐために, 大量調理施設衛生管理マニュアルが通知された。今回のように, 大量に提供された食事が食中毒菌に汚染されていた場合, その被害は大規模となる。さらに原因となる菌がO157のようなヒト-ヒト感染する細菌である場合, 喫食者が本菌に感染するだけでなく, 接触者にも感染する可能性があるため, 被害はさらに拡大していくおそれがある。したがって, 今後も大量調理施設においては, このマニュアルによる衛生管理を徹底

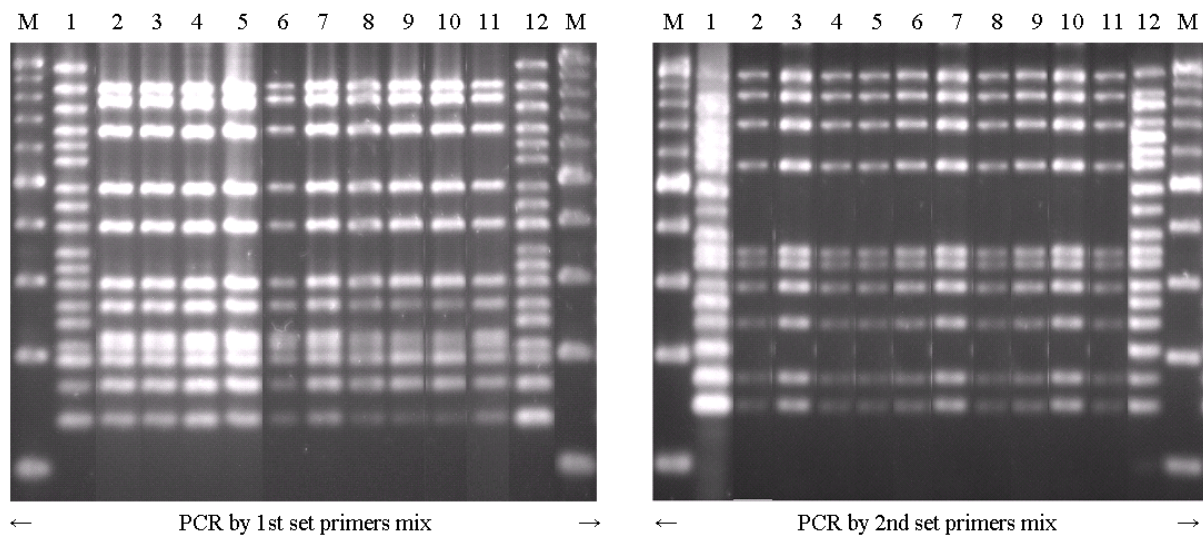


Fig. 1. Electrophoresis patterns derived from IS-printing system for the 10 strains of O157.
M: 100 bp DNA ladder, lane 1: standard DNA, lane 2-10: patients who ate the meals, lane 11: employee who cooked the meals, lane 12: positive control.

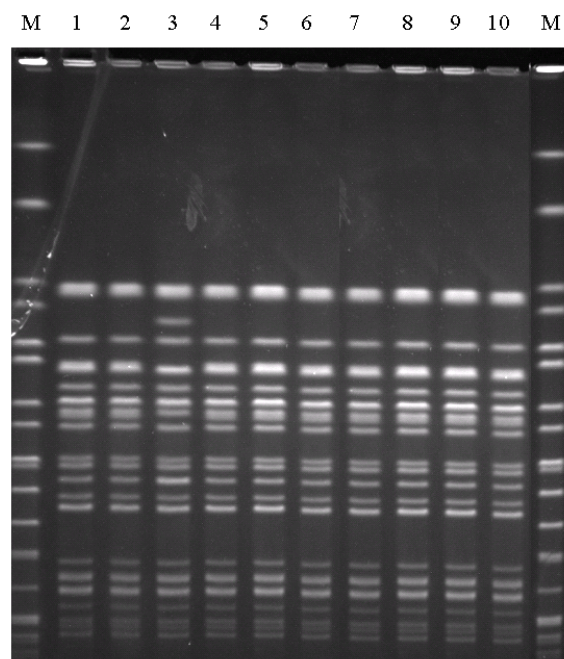


Fig. 2. PFGE patterns with *XbaI* for the 10 strains of O157.
M: *Salmonella* Braenderup H9812, lane 1-9: patients who ate the meals, lane 10: employee who cooked the meals.

していく必要があると思われる。

謝辞

今回の食中毒事例において、喫食調査および患者情報を提供いただきました管轄保健所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, 33, 115～117, 2012
- 2) 中山寿男, 丸山務：食品由来感染症と食品微生物, 281
～296, 中央法規, 2009
- 3) 国立感染症研究所細菌第一部 (主任研究者 寺嶋 淳)
：食品由来感染症の細菌学的疫学指標のデータベース
化に関する研究 平成 17 年度総括・分担研究報告書
及び平成 15～17 年度総括・総合研究報告書, 168～185,
2005

要約

2012 年 7 月に腸管出血性大腸菌 O157 患者 5 名の感染症発生届が市内医療機関より管轄保健所に提出された。5 名は同じ仕出し店の弁当を喫食していたため、この仕出し店の従業員検便、施設のふきとりおよび保存食について検査を実施したところ従業員 1 名から O157:H- (stx1&2) (以下 O157) が分離された。その後、この弁当を喫食した別の 4 名からも O157 が検出され、これら喫食者由来 9 株と、従業員由来 1 株の計 10 株の O157 は、IS-printing System による解析で IS コードが一致した。また、これら 10 株のパルスフィールド・ゲル電気泳動法のパターンもほぼ同一であった。したがって、本事例は、菌の分子疫学的解析および保健所の実施した疫学調査の結果から、仕出し弁当を原因食品とする食中毒事例であることが判明した。本事例において、IS 法の実施により菌分離後の解析時間が大幅に短縮され、解析結果を迅速に保健所等の関係部署へ提供することができた。したがって、IS 法は PFGE 法とともに、O157 の食中毒発生時における原因食品の特定に有用なツールとして利用できると考えられる。