

〈特集：腸管出血性大腸菌 O157集団感染とその対策〉

北海道帯広市で集団発生した腸管出血性大腸菌 O-157感染症について

米 川 雅 一

1. はじめに

平成8年10月下旬、帯広市内の私立幼稚園で腸管出血性大腸菌 O-157による集団感染が発生した。

10月27日(日)、病院の小児科医師から「腸管出血性大腸菌に感染している疑いのある患者を診察した」との通報を受け調査を開始した。11月2日、患者の便及び給食に提供された「ポテトサラダ」から検出した菌についてベロ毒素産生性 (VT2) を確認し、腸管出血性大腸菌 O-157:H7 と確定した。

感染者は3～6歳の園児を中心とした169名であり、このうち37名が入院し21名が溶血性尿毒症症候群 (HUS) を併発した。HUS発症者の割合は、これまで我が国で発生した集団感染事例と比較して最も高い結果であり、重篤な中枢神経症状を発現した患者が103日間入院するなどの症例もみられたが、幸いにして患者全員が後遺症もなく完治し、対策を終息させることができた。

2. 患者発生の概要

患者発生の概要は表1のとおりである。

患者の発生は、10月24日から始まり26日をピークとして30日まで7日間継続した。

表1 感染者及び有症者

区分	調査数	感染者数(無症状保菌者)	有症者数(菌陰性者)	うち入院者数(HUS)
園児	256	142 (42)	135 (35)	36 (20)
園児家族	836	14 (12)	18 (16)	0
職員	20	3 (2)	2 (1)	0
職員家族	50	10 (7)	3 (0)	1 (1)
合計	1175	169 (63)	158 (52)	37 (21)

3. 主な対策

(1) 疫学調査

園児、園児家族、職員及び職員家族1,175名について、検病調査と喫食調査をアンケートと聞き取り調査により実施した。

調査にあたっては、十勝管内5保健所と帯広市の連携により、保健所医師1名、食品・環境衛生監視員12名、保健

(北海道帯広保健所)

婦24名(帯広市保健婦5名を含む。)、事務職員5名を8班編成として、園児の母親等からの個別聞き取りで行った。

(2) 施設及び周辺環境調査

給食施設、トイレ、砂場、飲用井戸、水飲み場などの各施設及び幼稚園周辺の衛生管理状況を調査し、細菌検査のため検体採取(保存食・ふき取り等)した。

(3) 食材納入業者の立ち入り調査

10月14日から24日までに食材を納入した16業者について、食材の流通経路に沿って立ち入り調査を行うとともに、食材の取去及び処理施設のふき取りを行った。

(4) 二次感染防止対策

10月28～30日、園児家族及び職員を対象にした説明会を開催するとともに、個別相談、調査及び幼稚園や家庭における二次感染防止と消毒法の指導を実施した。

特に家庭内の消毒については、帯広市と協力して、消毒用エタノールの配布と使用方法の指導及び塩素剤による消毒方法の指導を行った。

(5) 細菌検査

① 検査方法

厚生省から示された方法(H8・7・18付、衛食第195号・衛乳第174号通知)に基づき、培養法、磁気ビーズ法、PCR法、EIA法並びにRPLA法により実施した。

② 検査検体数

検便2,516(検査対象者について、延べ3回実施)、食品76(10月7～25日の給食保存食36、原材料40)、ふき取り113、飲料水33、その他23(ハエ、砂場の砂、鑑賞魚水槽水、河川水、厨芥)

4. 主な調査結果

(1) 原因食品の特定

10月22日の給食に提供された「ポテトサラダ」と患者の便から検出された菌のVT2遺伝子の塩基配列が同一であり、欠席のため22日の給食を食べなかった園児からの感染者が無いことなどから、これを原因食品と特定した。

(2) 細菌検査の結果

10月22日の給食で提供された「ポテトサラダ」及びパン以外の保存食、納入業者から取去した食材、飲料水、ふき取り検体、環境調査関係検体等からは菌が検出されなかった。

特に、飲料水として飲用井戸を使用しているが、水質検査及び管理状況調査の結果から、飲料水からの感染は否定された。

なおパンからの検出は「ポテトサラダ」と密着させての保管が原因と判断した。

(3) 有症者、感染者の発生状況

男児148名及び女児108名の有症者、感染者の出現率はいずれも男児より女児が高く、入院やHUSの併発で重症化した率も男児より女児が高い結果であった。

「ポテトサラダ」を食べたかどうか不明で感染した者が16名いたが、そのうちの3名（園児の兄弟）は家庭内での二次感染が強く疑われ、残り13名は、給食の配膳形態からみて、「ポテトサラダ」が他の食品に付着していたと考えられる。

① 男児の63名（42.6%）女児の72名（66.7%）が発症し、男児13名（20.6%）女児23名（31.9%）が入院

② 男児の75名（50.7%）女児の67名（62.0%）が菌陽性

(4) 給食調理における問題点

「ポテトサラダ」がO-157で汚染され、集団発生の原因となった給食調理における主な問題点は次のとおりであった。

① 調理場は、汚染区域と非汚染区域の区分が不明確な1室構造

② 調理器具機材の殺菌消毒が不十分で、食材の種類による使用区分も不明確

③ 調理従事者2名は、互いに調理の全工程に携わっているため、作業や使用器具が交差するなど、二次汚染の可能性を否定できない

④ サラダの材料のうちポテト、キュウリ、魚肉ソーセージを前日調理

⑤ ポテトを煮て押し潰し約50℃の状態まで室温放冷した後、キュウリ、魚肉ソーセージとともに各々別容器で冷蔵庫に1夜保管（冷蔵庫の過信）

5. 平成8年に十勝支庁管内で発生した腸管出血性大腸菌O-157感染症

十勝支庁管内では、7月末から10月末までの3カ月間に5例の腸管出血性大腸菌O-157感染症が発生した。

最初の発生では、発症日から医師の通報日まで10日間を要したが、それ以降の4例では、2～4日中に医師から保健所に通報されるようになった。

患者の便から分離された菌のベロ毒素型は、4例がTV2型、1例がVT1・2型であり、VT2型が多い傾向であった。

6. 集団感染の臨床的及び細菌学的検討

帯広保健所に「原因究明専門家会議」及び「腸管出血性大腸菌感染症の診断・治療・予防法に関する研究帯広班」

（大学教授、医師及び保健行政専門家等で構成）を設置し、集団感染の臨床的検討及び細菌学的検討を行った。

(1) 臨床的検討

患者治療にあたった10医療機関の協力を得て、臨床診断、症状、血液検査結果、治療内容等についてデータ処理し検討した。

① 調査方法

日本小児腎臓病学会で作成した調査票をもとに、帯広班で作成した調査票に患者個々のカルテから主治医が必要項目を転記して集計した。

② 主な検討結果

得られたデータは、「腸管出血性大腸菌感染症の診断・治療・予防法に関する研究班」において詳細な検討が行なわれる予定であるため、要点の記載に止める。

ア. 初発症状として、下痢、腹痛が約7割に、発熱、嘔吐、感冒様症状が1割前後に出現した。血便は18名（13.8%）、血尿は3名（2.3%）に出現した。

イ. 入院した園児の男女の割合は、女児が63.9%、HUSの併発も女児が65.0%を占め、人工透析治療を必要とした5名も全員女児であった。

ウ. 入院した園児の病日ごとの臨床検査データの分析、入院治療における抗生物質の使用状況の分析を行った。（詳細は研究班で検討）

(2) 細菌学的検討

札幌大・藤井教授、帯畜大・牧野助教授、道衛研・木村所長以下スタッフ6名による細菌学的研究が行われた。

① DNA解析

（方法）

○ ランダムプライマーを用いたPCR法によるDNAフィンガープリンティング法(RAPD法)による解析（道衛研）

・使用プライマー 国立予研推奨プライマー

AO7 (TGCCCTCGCACCA)

AO9 (CCGCAGTTAGAT)

○ パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)による解析

（結果）（道衛研）

○ 患者の便及び原因食品から分離された菌株は、いずれも同一パターンを確認（道衛研）

② VT2遺伝子の塩基配列の比較

（方法）

○ 標準VT2遺伝子菌株をコントロールに用い、通常の方法で比較

（結果）

○ 患者の便及び原因食品から分離された菌株は、VT2遺伝子配列が同一であることを確認

○ 平成8年7～9月に十勝地域で発生した散発4例由来株と集団由来株について遺伝子の塩基配列を比較したが、散発4例の中に全く同じ配列の株を確認

③ 薬剤耐性試験

（道畜大）

11月に菌陽性者全員の除菌治療が行なわれ菌陰性を確

表2 発生一覧

市町村	性別(年齢)	発症(医師通報日)	VT確認日	VT型	患者数(HUS数)
①帯広市	女児(1才)	7/20 (7/29)	7/30	VT 2	1
②帯広市	女児(7才)	8/21 (8/23)	8/29	VT1・2	1
③郡部	男児(8才)	8/22 (8/24)	8/29	VT 2	1 (1)
④帯広市	男児(1才)	8/30 (9/2)	9/6	VT 2	1 (1)
⑤帯広市	集団	10/24 (10/27)	11/2	VT 2	169 (21)

認していたが、12月の検便検査（幼稚園関係者全員を対象に実施）で2名の菌陽性者が検出されたことから、除菌治療に至る抗生物質使用等により耐性菌の出現があったかどうか確認するため、次の薬剤を用いて、プレート法及びディスク法により試験を実施

（使用菌株）

- ・1回目の検便で検出された患者由来株 31株
- ・12月の検便で検出された患者由来株 2株

（使用薬剤）

- | | |
|-----------|-------------|
| ・ペニシリンG | ・フォスフォマイシン |
| ・ミノサイクリン | ・テトラサイクリン |
| ・アンピシリン | ・セフジニル |
| ・ノルフロキサシン | ・クロラムフェニコール |
| ・カナマイシン | ・ストレプトマイシン |

（主な結果）

- 31株についてのテトラサイクリン判定では、-23株、±7株、+1株と差異が見られた。
- 31株についてのストレプトマイシン判定では、-4株、±22株、+5株と差異が見られたが、テトラサイクリン耐性株や分離時期等の相関性は見られていない。
- 12月に分離された2株はフォスフォマイシンに阻止円が小さくなっていた。
- 全体的な結果として、大きな薬剤耐性化は認められなかった。

7. 原因食品の汚染に関する検討

「ポテトサラダ」を集団感染の原因食品と特定したが、幼稚園8クラスの患者発生数がほぼ同様であったことから、食品はO-157でほぼ均一に汚染されていた可能性が高いと考えられ、「原因食品の汚染に関する検討会」を開催し、汚染経路や調理工程における問題点等について検討した。

検討会においては、保健所で行った疫学調査、細菌検査等の結果に基づいて検討するとともに、O-157の増殖要因等確認が必要と考えられた事項について試験を行った。

検討会のメンバーは、帯審大・品川教授、牧野助教授を中心に十勝管内5保健所食品衛生・食肉検査主管課長で構成した。

(1) 原因食品の汚染経路等に関する検討

《問題点》

① 給食施設の構造上の問題点

- ア. 厨房では、原材料の受け入れ、保管、下処理から調理後の配食まで明確な区分がされずに調理作業が行われていた。
- イ. 食材、器具器材等の保管庫、調理従事者の更衣室が設置されていない。

② 給食施設の管理上の問題点

- ア. 原材料や調理済み外注食品等が容器包装とともに持ち込まれ、施設内で保管されていた。（立ち入り検査から、容器等の剥き出し保管が確認されている。）
- イ. 調理従事者以外の職員等が、ほぼ恒常的に出入り

していたと思われる。

ウ. 器具器材の殺菌、消毒が不十分であった。

③ 調理工程上の問題点

ア. 「ポテトサラダ」調理工程のうち、ポテト、キュウリ、魚肉ソーセージの処理が前日に行われていた。

・ポテト（15kg）の洗浄、皮むき、カット、煮込み、押し潰し作業

・キュウリ（2kg・20本）の洗浄、細切、食塩添加（大さじ1杯半）

・魚肉ソーセージ（1.5kg・10本）の細切

イ. ポテト、キュウリ、魚肉ソーセージは、処理後、同一冷蔵庫内で翌日まで保管されていた。

ウ. 調理台、洗浄槽、包丁、また板等の器具器材の使用区分が不明確である。

エ. 洗浄槽の使用法が不適切であれば、土などの汚れを除去する下処理を行った後の作業で、加熱しない食品の洗浄を行うことにより、汚染の危険性が生ずる。

特にこの洗浄作業が溜水で行われた場合、その危険性は高くなると考えられる。

《考察》

食品がO-157に汚染された直接の原因を特定することは出来なかった。検討会における汚染原因の可能性についての主な意見を整理した。

① 厨房内にO-157が持ち込まれた可能性

ア. 食材に付着して持ち込まれた。

イ. 容器包装に付着して持ち込まれた。

ウ. 調理従事者や厨房内に出入りした者により持ち込まれた。

エ. 幼稚園児が食べた後の食器類に付着して持ち込まれた。

オ. 衛生害虫により持ち込まれた。

② 食品が汚染された可能性

「ポテトサラダ」の調理工程における作業動線を検討したが、調理台とシンクの周辺が主に重複し、この位置での汚染が疑われた。

検討会における主な意見は次のとおりである。

ア. ポテトを押し潰した木製棒が汚染されていた。

イ. ポテトを移し変えた木製へらが汚染されていた。

ウ. 放冷時等にO-157が付着し、水滴等に混じってポテトを汚染した。

エ. 包丁・まな板・調理従事者の手指、洗浄後のキュウリのいずれか又は全部がO-157に汚染され、細切りしたキュウリや魚肉ソーセージを汚染した。

(2) 食品を汚染したO-157の増殖要因等に関する試験

① ポテトの温度変化再現試験

10月21～22日の調理工程に基づいて、ポテトを煮て押し潰した後から冷蔵庫保管中における温度変化について再現試験を行った。

- 使用器材 ・冷蔵庫（日立 R-621EF 冷凍冷蔵庫・庫内容量162ℓ）

- ・デジタル温度計 2 セット
 - ・隔測温度計 1 セット
 - ・鍋 3 個 (直径30cm・深さ15cm)
 - ・木製の棒とヘラ各 2 本
- 測定項目
- ・押し潰したポテトの表面及び中心温度の経時変化
 - ・冷蔵庫内の温度変化

(結果)

- ア. ポテトを煮た後、押し潰した直後 (10分) の中心温度は85℃、表面温度は80℃であった。
- イ. ポテトを押し潰した後、鍋蓋を半開きにして100分室温放置すると、中心温度は50℃、表面温度は45℃まで下降した。
- ウ. 100分間室温放冷した後、3個のうち1個の鍋のポテトを他の2個の鍋に均等に移し変え冷蔵庫内に収納し、10時間温度変化を測定した。
- 収納時の庫内温度は4℃であった。
- エ. 収納から10時間後の中心温度は16℃、表面温度は14℃まで下降した。
- 庫内温度は、収納時に20℃以上まで上昇し、その後15℃前後で推移した。

(考察)

- ア. キュウリ、魚肉ソーセージにO-157が付着していた場合、冷蔵庫に収納されたポテトは10時間以上増殖に必要な熱供給源になったと考えられる。
- イ. ポテトにO-157が付着していた場合、冷蔵庫内において増殖可能な状態にあったと考えられる。

② 大腸菌の生存試験

調理工程でポテトが汚染された場合、大腸菌が生存し増殖する温度条件を確認するために試験を行った。

(方法)

- 菌液の調整
- 大腸菌の生理食塩水で調整 (1.6×10^8 個/ml) した菌液0.1mlを木製棒に塗布、さらに100倍希釈した菌液を木製ヘラに塗布し、使用した。
- 木製棒が大腸菌群で汚染されていた場合の生存確認
- ポテトを煮た鍋3個のうち1個を使用し、大腸菌で汚染された木製棒で押し潰した。残り2鍋は清潔な木製棒で押し潰した。
- 室温に100分間放置、冷蔵庫に20時間収納した後、EC培地で培養した。
- 木製ヘラが大腸菌で汚染されていた場合の生存確認
- 室温に100分間放置後、清潔な木製棒で押し潰した鍋2個のうち1個から、まず半分を清潔なヘラで鍋に移し変え、残り半分を大腸菌を塗布したヘラを使用して残り1個の鍋に移し変えた。
- これを冷蔵庫に20時間収納した後、培養した。

(結果)

- ア. 汚染された木製棒を使用したものからは大腸菌が

検出されなかった。

- イ. 汚染された木製ヘラを使用したものからは大腸菌が検出された。

(考察)

- ア. 木製棒の使用時とヘラの使用時では、ポテトの温度差があり、室温放冷後に使用された木製ヘラがO-157に汚染されていた場合には、ポテトを汚染する可能性がある。
- イ. 患者の発生数が幼稚園8クラスともにほぼ同様であり、3個の鍋がほぼ均等に汚染されていたものと考えられ、木製ヘラが汚染されただけで集団発生の原因となったとは考えにくい。

③ 細切キュウリの滲出液によるO-157拡散推定試験

「ポテトサラダ」が均等にO-157で汚染されるためには、調理工程のいずれかの段階で食材中にO-157がほぼ均一になるよう拡散する条件があったと推定されることから、調理工程におけるO-157拡散条件について試験を行った。

(方法)

- 試験材料
- ・キュウリ20本
 - ・食塩大サジ1.5杯
- 試験方法
- ・キュウリのヘタ部分2cm程度除去し、たて4つ切にし1mm程度にスライス (スライスキュウリの重量2kg)
 - ・キュウリを容器に入れ食塩を上から振りかけ、容器に蓋をして攪拌
 - ・この容器を冷蔵庫に収納し、24時間放置
 - ・キュウリからの滲出液を観察し、量を測定

(結果)

- ア. 24時間後、キュウリは容器内でほぼ滲出液に浸される状態であった。
- イ. キュウリを手で絞った滲出液の量は、600ccであった。

(参考)

「ポテトサラダ」の調理工程でいずれかの食材がO-157で汚染され、集団感染が発生したと考えられる。特に、キュウリからの滲出液がO-157で汚染されたため、食品内に満遍なく拡散させる役割を果たした可能性がある。

④ キュウリ及び魚肉ソーセージを用いたO-157増殖試験 (方法)

- 試験材料
- ・キュウリ500g
 - ・魚肉ソーセージ300g
- 供試菌株
- ・帯広の集団発生で分離されたO-157
 - ・サルモネラ菌
- 試験方法
- ・キュウリをたて4つ切にし1mm程度にスライスして使用
 - ・魚肉ソーセージを1mm各程度に

スライスして使用

- ・一夜培養した O-157 液又はサルモネラ菌液 10ml を、それぞれの食材 25g に接種
- ・接種した食材を滅菌パックに入れ、15℃で培養し、公定法により菌数を測定

(結果)

表 3 増殖経時変化

使用菌種	食 材	接種菌数	培 養 時 間		
			5	10	19
O-157	キュウリ	21700	13300	22000	228000
		(1)	(0.6)	(1.0)	(10.5)
O-157	ソーセージ	9520	3100	17500	70300
		(1)	(0.3)	(1.9)	(7.6)
サルモネラ菌	キュウリ	18000	17000	34000	178000
		(1)	(0.9)	(1.9)	(9.9)

※ ・菌数は 1ml 中の数
 ・() の数字は、接種菌数を 1 とした 5, 10, 19 時間後の比

(考察)

- ア. O-157 は、15℃ に保たれたキュウリ及び魚肉ソーセージでいずれも増殖する結果が得られた。
- イ. 特に、キュウリなどのカット野菜で O-157 が増殖する理由は不明であるが、野菜をカットした時に出来る滲出液が増殖に関与していると考えられる。
- ウ. このことは、他の食中毒原因菌と異なり、ごく少量の菌を摂取しても発症する腸管出血性大腸菌の特性から、調理工程における野菜の汚染防止が重要であることを示唆している。
- エ. O-157 のカット野菜における増殖のメカニズム等については、今後の学術研究により、詳細な解明がなされることを期待する。

8. 幼稚園に対する改善指導

「原因究明専門家会議」及び「原因食品の汚染に関する検討会」の意見を踏まえ、集団感染を起こした幼稚園に対する指導を行った。

指導の要点は表 4 のとおりであるが、今回の対策で得られた知見を今後の集団給食施設等の指導に活用していくこととしている。

9. これからの地域における予防対策

今回の集団発生対策を踏まえ、これからの地域における予防対策の在り方を次のとおり取りまとめた。

- (1) O-157 に対する危機管理体制の充実
 - ① O-157 集団感染が発生した場合には、現場の保健所、市町村、医療機関等が中心となって対策を決定・実施できる体制を確立し、関係機関の連携と役割分担を明

表 4 改善指導の要点

主 な 問 題 点	改 善 策
① 構造設備や取り扱いが O-157 汚染防止に対応できるものに改善する必要性が確認された。	① ・調理場を汚染区域と非汚染区域に区分した施設整備 ・調理工程で食品取り扱いの改善を徹底
② ポテトサラダの調理工程で前日調理されたことが O-157 増殖を招いた。	② 前日調理の危険性の再確認と今後の行政指導への反映
③ 多量の高温な食材を冷蔵庫に収納することで、菌増殖を引き起こした。	③ 冷蔵庫の過信が招いた事故として今後の行政指導に反映
④ 食材が 50℃ 程度のときに大腸菌で汚染されると、菌は死滅せず増殖する。	④ ・温度管理の徹底 ・加熱後の食材の汚染防止
⑤ カットされた野菜が調理工程で汚染された場合、O-157 感染発生の要因となる可能性が示唆された。	⑤ ・野菜の汚染防止の重要性 ・野菜の洗浄工程の改善 ・野菜と O-157 汚染に関する学術研究の必要性

確にしておく。

- ② 発生時を想定した医療の確保について、保健所と医師会による継続的な協議の場を設けておく。
- ③ 保健所の O-157 検査体制整備と技術向上に努める。
- ④ 発生時を想定した疫学調査について、組織横断的な訓練を計画的に実施する。
- (2) 地域における獣医療の連携強化
 - ① 腸管出血性大腸菌については、性状や感染のメカニズム、野外環境中における生存メカニズムなど不明な点が多い現状にある。
食品保健行政において中心的役割を担う獣医師と家畜衛生分野の獣医師の連携により、今後の地域における予防対策を強化していくことが不可欠である。
 - ② 疫学及び細菌学の高度な知識と技術を効果的に活用していく必要があり、大学や衛生研究所等の研究機関と食品保健行政の連携強化が求められている。
- (3) O-157 に関する学術研究の促進
 - ① 診断、治療に関する学術研究情報の医療現場への迅速な還元
 - ② 細菌学的な研究情報の指導現場への迅速な還元

10. ま と め

腸管出血性大腸菌感染症の発生は、わが国だけでなく米国、カナダ、ヨーロッパ等の発生状況からみても、これで終息する状況にはないと考えられる。

帯広における原因究明専門家会議の議論においても、O-157 による感染症は、「不適切な調理工程あるいは様々な経路での汚染が考えられ、しかも O-157 はこれまでの食中毒の常識では考えられない程度の少ない菌量で発症する。」との認識で一致した。

これからの予防対策については、帯広市、盛岡市、堺市、邑久町等における対策の教訓を生かして、地域全体の課題として取り組んでいくことが必要と考える。