

県内で発生した生鮮野菜を原因とする腸管出血性大腸菌 0157 食中毒及び 同一遺伝子型の腸管出血性大腸菌 0157 が検出された感染症事例について

土井りえ 佐藤孝志 瀬川由加里^{*1} 榎田希 中川佳子^{*2} 佐藤実佳
門脇奈津子^{*3} 大塚佳代子 倉園貴至 島田慎一 石井里枝

Cases of enterohemorrhagic *Escherichia coli* 0157:H7 food poisoning and diffuse outbreaks caused by fresh vegetables (*Lactuca sativa* var. *crispa*) with insufficient heating in Saitama prefecture

Rie Doi, Takashi Sato, Yukari Segawa^{*1}, Nozomi Sakakida, Keiko Nakagawa^{*2}, Mika Sato, Natsuko Kadowaki^{*3}, Kayoko Otsuka, Takayuki Kurazono, Shinichi Shimada, and Rie Ishii

はじめに

平成30年5月30日、埼玉県内高齢者福祉施設 A から管轄保健所へ、複数の入居者が胃腸炎を発症し、医療機関の検査で発症者のうち1名から腸管出血性大腸菌 0157:H7 (VT1, 2) (以下, EHEC 0157) が検出されたとの通報があり、調査を行った。その結果、サンチュを原因とする EHEC 0157 食中毒であることが判明した。また、同時期に同一の遺伝子型を示す EHEC 0157 患者の発生が埼玉県内及び複数の都県で散発的に報告された。各自治体における疫学調査及びサンチュの流通等の調査結果から、これらの散発的な発生事例についても前述の食中毒事例のサンチュと同じ生産者が出荷したサンチュが原因食品と強く疑われ、広域的な EHEC 0157 感染症・食中毒であったことが明らかとなった^{1, 2)}。今回、埼玉県内で発生した高齢者福祉施設 A で発生した食中毒事例、及び同一遺伝子型の EHEC 0157 が検出された有症事例について、その概要を報告する。

材料及び方法

1 材料

高齢者福祉施設 A の原因調査については、当所に搬入された入居者29名、施設職員18名、調理従事者6名の便検体53検体、5月11日昼食から5月25日夕食の調理後保存検食260検体及び厨房内調理設備・機器等ふき取り7検体を用いた。

また、県内で報告された EHEC 0157 患者に係る調査では、当該事例の発生日及び終息日の前後2週を含めた期間 (5月11日～6月15日) に報告された症例の疫学情報、及び同期間に検査依頼があった便検体67検体、病院等検査機関由来菌株4株及び食品 (サンチュ) 1検体を用いた。

分子疫学的検査については、各事例の便検体から分離された12株及び病院等検査機関由来菌株4株を用いた。

なお、各事例の発症状況、食品流通調査等の疫学情報については、担当保健所で作成された食中毒事件詳報、厚生

労働省報道発表資料¹⁾及び厚生労働省による既報²⁾に基づいた。

2 細菌学的検査

(1) 検便検査

便検体は CT-SMAC 培地に塗抹し、36°C、20時間培養後、培地上の典型的なコロニーについて当所の検査マニュアルに従い同定した。生化学的性状から *Escherichia coli* と同定され、0 血清型別試験で 0157 と確認された菌株については、H 血清型別試験、VT 遺伝子確認検査及び VT 産生試験を実施し、EHEC 0157 の判定を行った。

(2) 保存検食検査

保存検食は10倍量の mEC 培地を加え、十分にストマッキングしたのち、42°C、20時間、増菌培養をした。培養液 0.1 mL を分取し、アルカリ熱抽出法により抽出した DNA について、リアルタイム PCR による VT 遺伝子のスクリーニングを行った。また、すべての食品検体の培養液 10 µL、及びリアルタイム PCR で VT 遺伝子が検出された検体については、0157 免疫磁気ビーズにより集菌したビーズ濃縮液 10 µL を CT-SMAC 及び CT-クロモアガー-STEC に塗抹し、36°C、20時間培養した。各培地上の典型的なコロニーについては、検便検査と同様に、EHEC 0157 の判定を行った。

(3) ふき取り検体検査

ふき取り検体は mEC を 10 mL 加え、十分にボルテックスしたのち、42°C、20時間、増菌培養をした。培養液 10 µL を CT-SMAC 及び CT-クロモアガー-STEC に塗抹後、36°C、20時間培養した。各培地の典型的なコロニーについては、検便検査と同様に、EHEC 0157 の判定を行った。

3 分子疫学的検査

EHEC 0157 菌株をミューラーヒントン II 平板で 37°C で一晩培養したのち、コロニーダイレクト抽出した DNA を Multilocus variable-number tandem-repeat analysis (以下, MLVA) に用いた。

*1 現 川口市保健所

*2 現 熊谷保健所

*3 現 食肉衛生検査センター

MLVA は Izumiya ら³⁾に準じて、特定17領域におけるフラグメント解析を実施した。なお、フラグメント解析は3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) を用いた。

結果

1 県内食中毒事例

当該事例の発症状況は、施設利用者47名中、発症者は10名で、その内訳は入居者9名、介護等職員1名であった。なお、調理従事者の発症はなかった。発症者の主症状は下痢(90%)、発熱(50%)、腹痛(30%)及び倦怠感(10%)で、溶血性尿毒症候群(HUS)を呈した者はいなかった。日別発症者数を図1に示す。患者の発症日は5月25日から6月1日までの間で、発症者数のピークは5月27日であった。便検体の細菌検査では、入居者29検体中11検体(37.9%)、介護等職員18検体中3検体(16.7%)からEHEC 0157が検出された。調理従事者6検体はすべてEHEC 0157不検出であった。

喫食状況調査によれば、発症者全員が喫食していたのは当該施設が調理した5月21日の夕食のみであったが、各メニューの喫食状況は、入居者が高齢等の理由から調査不能であった。

保存検食では、5月21日夕食の付け合わせで提供されていたサンチュのみからEHEC 0157が検出された。厨房内のふき取り検体は全て不検出であった。

食材の調査によれば、当該施設における食材は米及び調味料を除き、全て食材提供会社Bから仕入れていた。サンチュは食材提供会社Bの「福祉メニュー」のセット品で、5月18日に納入され、納入後はすぐに厨房内の冷蔵庫で保管されていた。なお、サンチュはパック詰め状態で納入されていた。5月21日の夕食のメニューは鶏肉の味噌焼き、かぼちゃ煮、しらす和え、すまし汁の4品で、サンチュは鶏肉の味噌焼きの付け合わせとして添えて提供されており、調理は14時30分から18時30分頃に行われていた。サンチュの調理は他のメニューの調理前に開始され、1枚ずつ流水による洗浄後、根元から5 cmを廃棄して約5 mm幅に千切りにし、ザルに入れて流水で洗浄していた。このあと、しばらくザルに入れたまま調理室内カウンターに置かれ、鶏肉の味噌焼きの盛付時に同時に盛付されてすぐに提供されていた。これらのことから、サンチュは加熱せずに提供されていたこと、水道水による洗浄工程があるのみで、塩素消毒等の殺菌工程がないまま調理され、さらに盛付前に室温で数時間放置されていたことが明らかとなった。

EHEC 0157菌株の分子疫学的解析では、入居者、施設職員の便検体及び食品検体から分離された12株は全て MLVA Type 15m0436で一致した。

以上の調査結果から、当該事例はサンチュに付着したEHEC 0157が殺菌されず、千切り等の調理によりサンチュ全量に拡がったと推定され、サンチュを原因とする食中毒事件と断定された。

厚生労働省の報告^{1,2)}によれば、高齢者福祉施設Aで発生

した食中毒事例の調査から、食材提供会社Bが当該施設と同じ食材を76施設に納入していたことが明らかとなった。このうち高齢者福祉施設Aを含む3自治体の8施設で、同時期(5月25日から6月1日)に17名が発症し、不顕性感染者7名を含めた24名からEHEC 0157, MLVA Type 15m0436が検出された。これらの他に、3自治体でMLVA Type 15m0436のEHEC 0157が検出された3名の患者が飲食店や高齢者施設を利用し、サンチュを喫食していたことが確認された。サンチュの流通調査の結果、これらのサンチュは全て同一の生産者Cが出荷し、卸業者Dを介して流通していたことが明らかとなった。

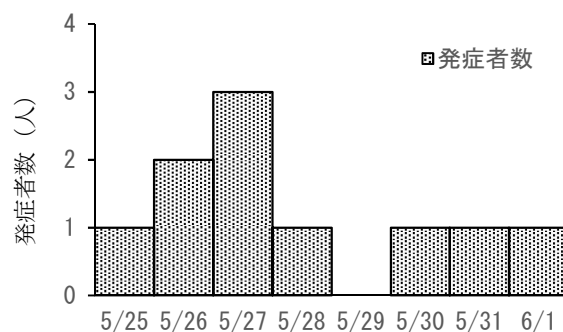


図1 高齢者福祉施設Aにおける日別発症者数

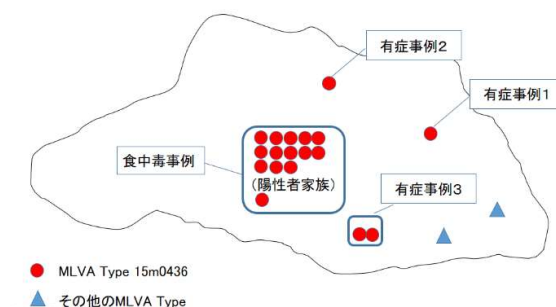


図2 埼玉県内のEHEC 0157患者発生状況 (平成30(2018)年5月11日~6月15日)

2 県内有症事例

5月11日から6月15日に県内で報告されたEHEC 0157患者の分布を図2に示す。食中毒事例と同じMLVA Type 15m0436のEHEC 0157は3事例で確認され、地域的な偏りはなかった。

(1) 有症事例1

有症事例1は、食材提供会社Bが食中毒事例施設Aと同じ食材を提供した埼玉県内の高齢者福祉施設で、厚生労働省発表事例^{1,2)}の事案2にあたる。入居者1名が5月29日に発症し、EHEC 0157, MLVA Type 15m0436が検出された。食中毒原因食品であったサンチュの喫食者数は30名で、うち入居者は16名、施設職員は14名であった。検便の細菌検査の結果、感染症発生届のあった発症者1名以外の入居者及び施設職員は全てEHEC 0157は不検出であった。なお、5月21日の保存検食は既に廃棄されていたため、食品検査は実施していない。サンチュの調理工程について確認したところ、熱湯によるサンチュの消毒処理を行っていた。

(2) 有症事例2

有症事例2は県内焼き肉店を5月26日に利用した4名家族のうち、1名が5月30日に発症した事例で、厚生労働省発表事例^{1,2)}の事案7である。発症者1名から EHEC 0157, MLVA Type 15m0436が検出され、他の家族3名は不検出であった。当該店舗はサンチュ生産者 C から卸業者 D を介し、食中毒事例とは別ルートで流通していたサンチュを仕入れていた¹⁾。喫食等調査によれば、発症者の当該店舗でのサンチュの喫食はあったものの、一緒に喫食していた家族3名及び他の利用客(40~55名)の発症はなかった。また、サンチュ生産者 C の別ロットのサンチュが店舗に保管されており、細菌検査を実施したが、EHEC 0157は不検出であった。これらのことから、感染原因を特定することはできなかった。

(3) 有症事例3

有症事例3は、6月2日に県外の焼き肉屋を利用した3名のうち2名が6月7日及び6月8日に発症し、この発症者2名から EHEC 0157, MLVA Type 15m0436が検出された事例で、厚生労働省発表の事例^{1,2)}には含まれていない。喫食調査等から発症者の焼き肉屋でのサンチュの喫食が確認された。しかし、流通段階及び当該店で食品ロット管理が行われておらず、提供していたサンチュの生産者や出荷日等の詳細を特定することができなかった。また、当日の当該店舗の利用客133名に同様の発症はなかった。発症者グループ3名は同じ職場であったことから職場の接触者調査を行い、35名の検便検査を実施したが、他に発症者はなく EHEC 0157も不検出であった。これらのことから、感染原因を特定することができなかった。

考察

野菜を原因とする腸管出血性大腸菌食中毒は、これまでも多数の事例が報告されているが、腸管出血性大腸菌の潜伏期間が2~7日と比較的長く、野菜の保存期間が短いため、発生探知の時点で残品や食材がなく、食品の細菌検査を実施できないことも多い。埼玉県においては、2001年に白菜を原材料とするキムチ風漬物^{4,5)}、2019年にじゃがいも、人参、玉ねぎ、キュウリを原材料とするポテトサラダによる腸管出血性大腸菌食中毒⁶⁾が発生しているが、いずれも探知した最初の事例で原因食品を特定することができず、統発事例の疫学的調査や原因調査等により原因食品が特定された。

今回の事例では、最初に探知した高齢者福祉施設 A で喫食が保管されていたことから、サンチュが原因の食中毒と特定でき、速やかにサンチュの流通調査や同一遺伝子型の EHEC 0157事例の特定及び疫学調査が行われた。その結果、約2週間と非常に短い期間で探知から出荷者の特定及び回収要請、発生防止対策徹底の通知発出^{1,7)}に至った。なお、EHEC 0157の汚染原因は不明であったが、6月12日のサンチュ生産者 C におけるサンチュ出荷自粛¹⁾以降、MLVA Type 15m0436

の EHEC 0157による患者発生はない。

また今回、食材提供会社 B が同じ食材を提供した複数の施設で同一の遺伝子型の EHEC 0157が検出された患者が発生していた。散発的に発生した各事例については食中毒と断定されてはいないが、最終的にサンチュが原因食品と強く疑われる広域食中毒事例であると判断された^{1,2,7)}。埼玉県内で発生した有症事例1では、調査の結果、施設の調理工程で熱湯によるサンチュの消毒処理を行っており、このため患者の発生数が食中毒事例と異なり少なかったと推察された。また一方で、この施設における熱湯消毒の具体的な温度や時間は不明であったが、熱湯であっても殺菌は不十分で、消毒の方法を見直す必要があると考えられた。

大量調理施設衛生管理マニュアル⁸⁾では、高齢者、若齢者及び抵抗力の弱い者を対象とした食事を提供する施設において、野菜及び果物を加熱せずに供する場合には殺菌を行うこと、また、殺菌については次亜塩素酸ナトリウム200 mg/Lで5分間、又は100 mg/Lで10分間等、薬液を使用したものについて記載されている。しかし、熱湯による消毒処理については記載されていない。

工藤ら⁹⁾の報告によれば、EHEC 0157約 10^3 cfu/mLで汚染させたカイワレ大根の種子を成育させた結果、カイワレ大根の可食部で平均 $1.4 \sim 6.3 \times 10^7$ cfu/gの0157が検出され、電子顕微鏡観察では、カイワレ大根の表面だけではなく気孔内部にも菌体が確認されている。また、これらの 10^7 cfu/gの汚染菌量のカイワレ大根を100℃の沸騰水中で5秒間加熱処理することによって0157が不検出となったことを報告している。

腸管出血性大腸菌を含む *Escherichia coli* の耐熱性特性は60℃で0.27分¹⁰⁾であり、工藤ら⁹⁾の行った100℃、5秒間の加熱処理でも十分に死滅すると考えられる。しかし、カイワレ大根とサンチュではその形状や大きさが違い、サンチュにおいても同様の加熱処理で十分に殺菌できるかは不明である。また、植物の種類によっては、その表面に繊毛をもつものやワックスブルームと呼ばれる天然のロウ成分を含むものもあり、このような野菜や果物では、細菌に汚染された野菜の表面や気孔内部に温湯が直接触れにくい可能性もある。これらのことから、特に高齢者、若齢者及び抵抗力の弱い者へ食事を提供する施設での野菜等の取扱いについては、大量調理施設衛生管理マニュアル⁸⁾に示されている殺菌処理の徹底及び野菜の種類の特性を考慮した消毒方法や消毒薬の選択が必要であると考えられた。

文献

- 1) 平成30年6月15日、プレスリリース、埼玉県、東京都、茨城県及び福島県から報告された同一の遺伝子型の腸管出血性大腸菌 0157:H7による感染症・食中毒事案について(厚生労働省医薬・生活衛生局食品監視安全課), <https://www.mhlw.go.jp/stf/houdou/0000212350.html> (最終閲覧2020.06.23)

- 2) 厚生労働省医薬・生活衛生局食品監視安全課食中毒被害情報管理室：埼玉県，東京都，茨城県及び福島県から報告された同一の遺伝子型の腸管出血性大腸菌 0157:H7による感染症・食中毒事案について，病原微生物検出情報月報（IASR），40，74-75，2019
- 3) Hidemasa Izumiya, Yengxin Pei, Jun Terajima, et al. : New system for multilocus variable-number tandem-repeat analysis of the enterohemorrhagic *Escherichia coli* strains belonging to three major serogroups : 0157, 026, and 0111, *Microbiol. Immunol.*, 54, 569-577, 2010
- 4) 尾関由姫恵，倉園貴至，斎藤章暢，他：市販和風キムチに起因する腸管出血性大腸菌 0157:H7 Diffuse Outbreak 事例，感染症誌，77，493-498，2003
- 5) 斎藤章暢，大塚佳代子，倉園貴至，他：「和風キムチ」を原因とする腸管出血性大腸菌 0157集団感染事例—埼玉県—，病原微生物検出情報月報（IASR），22，290-291，2001
- 6) 土屋久幸，桑原由美子，浅井澄代，他：埼玉県熊谷保健所の腸管出血性大腸菌 0157による食中毒事例への対応，日本公衛誌，65，542-552，2018
- 7) 平成30年6月15日，30消安第1624号，生産段階における葉物野菜の衛生管理の徹底について（農林水産省関係課長通知）
- 8) 平成9年3月24日，衛食第85号，大規模食中毒対策等について（厚生労働省生活衛生局長）
- 9) 工藤由紀子，小西良子，春日文子，他：腸管出血性大腸菌 0157:H7によって実験的に汚染した野菜種子に関する研究，日食微誌，17，201-205，2000
- 10) 芝崎勲：加熱による微生物制御，田中芳一，横山理雄（編），芝崎勲（監），殺菌・除菌応用ハンドブック，株式会社サイエンスフォーラム，東京，1985，p.23