

茨城県内介護老人保健施設における腸管出血性大腸菌O157による集団感染事例について

○山城 彩花, 相原 義之, 海野 友梨, 中本 有美, 永田 美樹, 小川 郁夫, 山本 和則,
岩間 貞樹

要旨

平成 29 年 7 月本県の介護老人保健施設にて腸管出血性大腸菌 O157(EHEC O157)による集団感染事例が発生した。感染者数は施設入所者 22 名, 職員 4 名にのぼった。保存検食および調理従事者から EHEC O157 は検出されなかった。患者由来菌株 26 株について分子疫学解析を行ったところ, パルスフィールド電気泳動法 (PFGE 法), multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis (MLVA 法), IS-printing 法の 3 方法とも同一パターンを示した。

キーワード: 腸管出血性大腸菌, 集団感染, 分子疫学解析, PFGE 法, MLVA 法, IS-printing 法

はじめに

茨城県における腸管出血性大腸菌(EHEC)の患者届出件数は, 毎年 50 件前後であり, そのうち O157 が 75%を占めている。特に平成 29 年次においては, 広域に及んだポテトサラダ事例をはじめ, EHEC O157 がマスコミの注目を集め, また本県においても腸管出血性大腸菌の届出数 90 件と例年に比べ, 検出数が多い年であった。

そのような状況下で本県の介護老人保健施設にて EHEC O157 による集団感染事例が発生したので, その概要を報告する。

1. 概要

1-1.探知

平成 29 年 7 月 27 日に医療機関から介護老人保健施設 K (施設 K) の入所者 2 名の EHEC O157 感染症発生届が管轄保健所に提出された。その後, 同じ医療機関において, この 2 名とは別の入所者からも EHEC O157 (ベロ毒素 (VT) 型別不明) が検出されたことから, 同保健所は感染症と食中毒の双方の可能性を疑い, 調査を

開始した。

1-2.疫学調査結果

当該施設は 5 階建てであり, 4~5 階が施設 K, 1~3 階が併設病院となっており, 一部のスタッフを除き, 職員の施設間の往来はほぼなかった。

感染症発生当時の入所者は 4 階 42 名, 5 階 52 名で, 入浴は週 2 回午前と午後に分け, 各階毎に実施されていた。

食事は併設病院の給食室で調理しており, 施設食, 病院食を別メニューで提供していた。病院食喫食者および給食従事者に体調不良者はなく, 給食従事者の直近の定期検便も全員陰性であった。また, 4 階入所者のほぼ半数が経管栄養であった。

感染者の主な症状は下痢 (50%), 血便 (46.1%) であり, 無症状者(34.6%)も多数確認された (表 1)。一つ以上の消化器症状を呈し, かつ便の培養検査で EHEC O157 が陽性となった者を確定例とした推定発症日は, 7 月 23 日をピークとする 7 月 21 日~26 日までの集積例

が認められ、4 階、5 階とも同時期の発症であった (図 1)。

2. 検査方法

施設 K にて 7 月 18 日から 7 月 24 日に提供されていた保存検食 16 検体、入所者糞便 58 検体、施設職員糞便 63 検体、給食従事者糞便 16 検体、感染者の接触者糞便 17 検体、計 170 検体について EHEC O157 の検査を行った。

2-1. 食材

「食品衛生検査指針 微生物編 2015」¹⁾ に準拠し、検査を行った。増菌培地には mEC ブイヨン (Oxiod) を用い、アルカリ熱処理法にて DNA 抽出後、CycleavePCR O-157 (VTgene) Screening Kit Ver 2.0 (タカラバイオ) を使用し、リアルタイム PCR (ABI 7500 Fast Real-Time PCR System) にて、ベロ毒素 (VT) 遺伝子の検出を試みた。

2-2. 糞便

CT 添加ソルビトールマッコンキー寒天培地 (Oxiod)、クロモアガー STEC (関東化学)、パールコア DHL 寒天培地 (栄研化学) にて分離培養後、定形的集落の生化学性状を確認後、病原大腸菌免疫血清「生研」(デンカ生研) を用いて血清型を決定した。その結果、O157 に凝集が見られた菌株に対して、VTEC-RPLA「生研」(デンカ生研) を用い、ベロ毒素産生の有無を確認した。

2-3. 分子疫学解析

患者由来 EHEC O157 菌株 26 株について、PFGE 法、MLVA 法、IS-printing 法の 3 法による分子疫学解析を行った。

1) PFGE 法

制限酵素は XbaI を用い、国立感染症研究所で示されたプロトコルに基づいて実施した。データ解析については BioNumerics (Ver. 6.6) を使用し、解析は Dice 法 (最適化: 0.5%, トレランス: 0.5%)、系統樹作成は平均距離法 (UPGMA) により行った。結果の解釈は 0~3 バンド違いを同一タイプとした。

2) MLVA 法

国立感染症研究所細菌第 1 部で示されたプロトコル²⁾ に従い、17 か所の locus について解析を行った。Fragment size marker として GeneScan™ 600LIZ Size Standard (Applied Biosystems) を用い、繰り返し回数 (RN) の解析には 3500 Genetic Analyzer および Gene Mapper ver.4.1 (Applied Biosystems) を使用した。

3) IS-printing 法

IS-printing system (東洋紡) を使用し、添付のプロトコルに従い実施した。解析は 18 種のプライマーごとにバンドの増幅を調べ、増幅ありを「1」、増幅なしを「0」と判定した。得られた解析数値をプライマーの順に並べて 18 桁の数値とした後、3 バンドごとに「1」「2」「4」の係数を乗じた数値を加算して各セット 6 桁のコードとし、菌株間の比較に用いた。

表 1. 患者情報

菌株番号	発症届出日	年齢	性別	症状	疫学情報
1	平成29年7月27日	80代	女	血便	5階入所者
2	平成29年7月27日	80代	女	血便	5階入所者
3	平成29年7月28日	90代	男	血便	5階入所者
4	平成29年7月28日	90代	男	発熱, 下痢, 血便	5階入所者
5	平成29年7月28日	90代	女	下痢, 血便, 血尿	5階入所者
6	平成29年7月31日	80代	女	下痢, 血便	4階入所者
7	平成29年7月29日	80代	女	下痢, 血便	4階入所者
8	平成29年7月31日	90代	女	下痢, 血便	5階入所者
9	平成29年7月31日	60代	男	下痢	5階入所者
10	平成29年7月31日	80代	女	下痢, 血便	5階入所者
11	平成29年7月31日	90代	女	血便	5階入所者
12	平成29年7月31日	80代	女	下痢	4階入所者
13	平成29年7月31日	90代	男	下痢	4階入所者
14	平成29年7月31日	90代	女	下痢	5階入所者
15	平成29年8月4日	40代	女	腹痛, 下痢, 血便	職員
16	平成29年8月3日	80代	男	下痢, 血便	4階入所者
17	平成29年8月2日	70代	男	無症状	5階入所者
18	平成29年8月2日	80代	男	無症状	5階入所者
19	平成29年8月2日	90代	女	無症状	5階入所者
20	平成29年8月2日	80代	女	無症状	5階入所者
21	平成29年8月2日	90代	女	下痢	5階入所者
22	平成29年8月4日	60代	男	無症状	5階入所者
23	平成29年8月5日	70代	女	無症状	4階入所者
24	平成29年8月5日	40代	女	無症状	職員
25	平成29年8月6日	20代	男	無症状	職員
26	平成29年8月7日	30代	男	無症状	職員

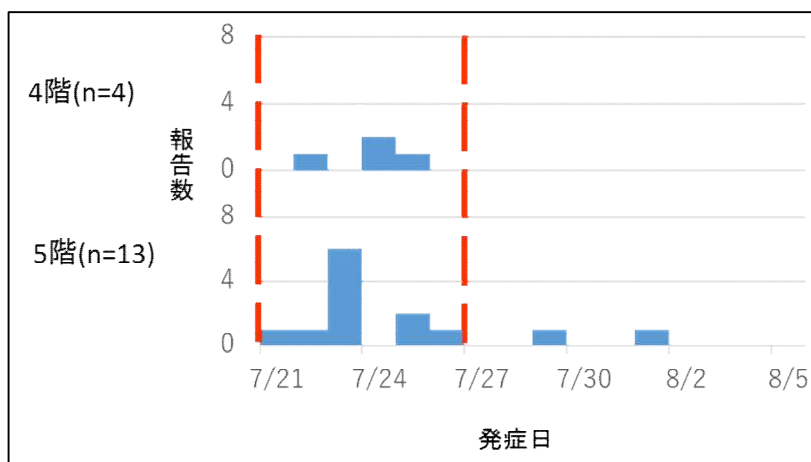


図 1. フロア別確定例発症状況

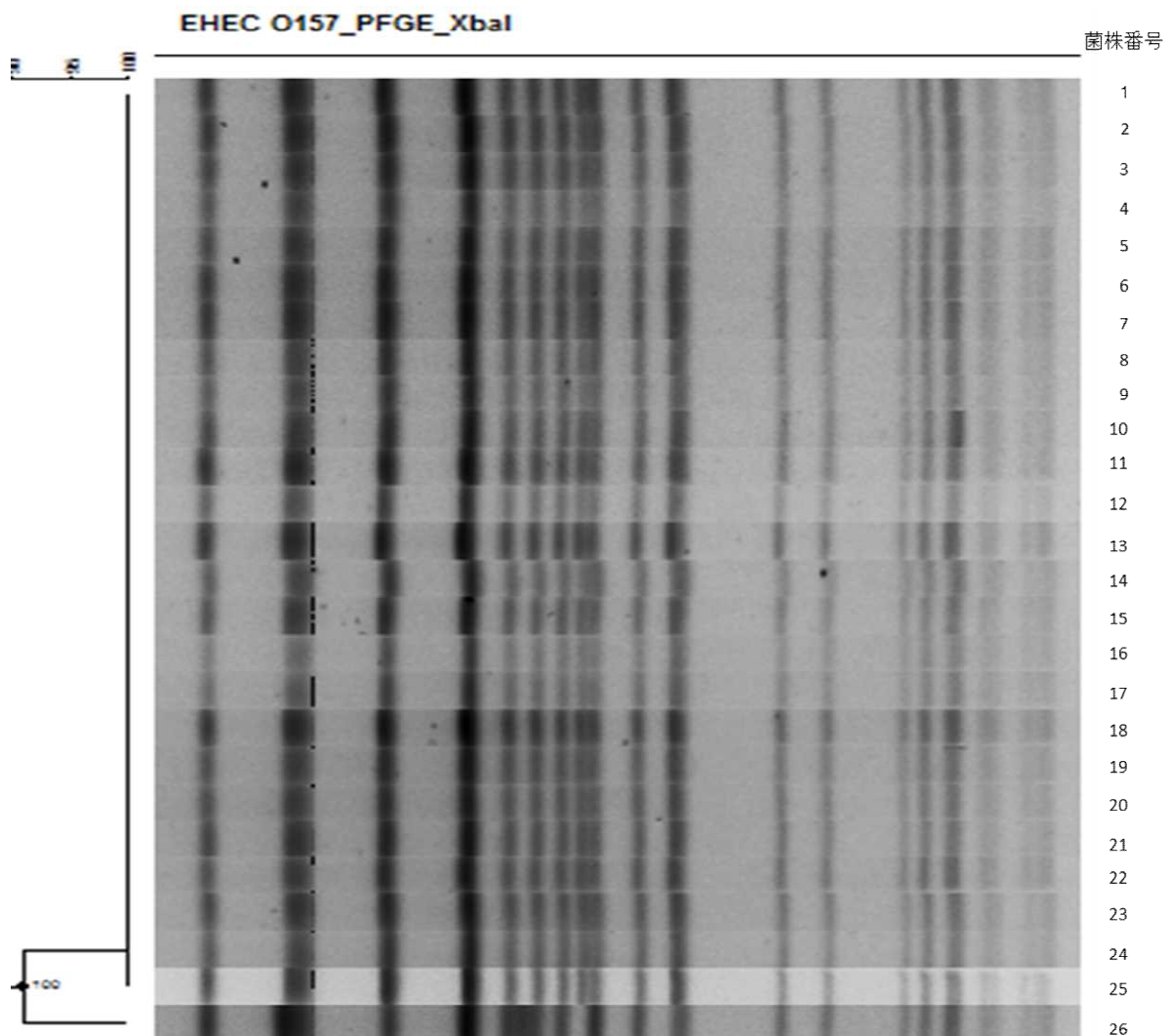


図 2. PFGE バンドパターン

表 2. EHEC O157 菌株の RN(MLVA)と IS コード

菌株番号	1st set																2nd set				IS code	
	O157-34	EHC-1	EHC-2	O157-9	EHC-5	O157-3	O157-25	EH111-8	EH157-12	EH111-14	EH111-11	O157-17	O157-36	O157-19	EHC-6	O157-37	EH26-7	1st set	2nd set			
1~26	11	7	4	8	10	13	5	1	4	0	2	6	6	6	0	6	0	317577	211756			

3. 結果

3-1.食品

保存検食 16 検体全てにおいて VT 遺伝子は検出されなかった。

追加検査として免疫磁気ビーズ O157「生研」(デンカ生研)を用い、培養液を濃縮後、CT 添加ソルビトールマッコンキー寒天培地、パールコア DHL 寒天培地にて分離培養を行

ったが、EHEC O157 は検出されなかった。

3-2.糞便

施設入所者 7 名、職員 3 名から EHEC O157 VT1VT2 を検出した。また調理従事者 16 名から EHEC O157 は検出されなかった。

3-3.分子疫学解析

PFGE バンドパターンを図 1 に、MLVA の RN および IS コードを表 2 に示した。PFGE

パターン, MLVA の RN および IS コードが完全一致していることから, 同一由来株であると推察された。

4. 考察

今回, 施設 K における EHEC O157 有症者の推定発症日に 7 月 23 日を中心とする 7 月 21 日～26 日の一峰性のピークがみられたことから, 7 月 16 日～20 日の間に何らかの単一曝露があった可能性が考えられた。しかし, 保存検食および給食従事者から EHEC O157 は検出されなかった。また, 施設入所者および職員の行動を調査したが, 感染経路を特定するには至らなかった。

一方で, 同年に収集した別事例の EHEC O157 VT1VT2 の菌株 36 株について, MLVA 法, IS-printing 法にて分子疫学解析を行ったところ, 本事例と一致する株はみられなかった。このことから, 感染は施設内に限定したものであったと推察された。

共通汚染源の特定では, 菌株情報と疫学情報を照らし合わせ, 判断することが重要である。今後も得られた分子疫学解析の結果を関連機関へ情報提供し, 感染症対策に寄与していきたい。

謝辞

本事例について情報提供をしてくださいましたひたちなか保健所の皆様に深謝いたします。

文献

- 1) 公益社団法人 日本食品衛生協会: 日本食品衛生検査指針, 微生物編 2015.
- 2) Izumiya, H. *et al*; *Microbiol. Immunol.*, 2010;54, 569-577.