

県内の観光果樹園において発生した腸管出血性大腸菌（EHEC）O157食中毒事例

○石川 加奈子、相澤 志保¹、伊師 拓哉²、織戸 優、小川 郁夫、金崎 雅子³

¹ 現：県立中央病院、² 現：ひたちなか保健所、³ 現：退職

要旨

2023年11月、県内の観光果樹園において提供された試食用りんごの喫食が原因と考えられるEHEC O157 VT2による集団食中毒事例が発生した。最終的に18名がEHEC感染症と診断され、収集した15菌株について反復配列多型解析（MLVA）法を実施したところ、すべてMLVA complex 23c076であった。また、15菌株中13菌株について全ゲノム解析を実施したところ、菌株間での単一塩基多型（SNP）は最大2か所となり、これらの菌株は遺伝的に近縁の株であることが判明した。さらに原因究明のため当該果樹園で採取したイエバエについてEHEC保菌検査を実施したところ、O168 VT2及びOg65 VT2が検出され、本事例の直接的な原因は判明しなかったが、ハエがりんごを汚染する可能性が示唆された。

キーワード：EHEC、MLVA法、全ゲノム解析、集団食中毒事例

1. はじめに

腸管出血性大腸菌（EHEC）は、100個程度の少量の菌数でも感染が成立するため、大規模な食中毒や感染症を起こしやすい。加熱不十分な食肉の摂取やヒトからヒトへの二次感染によって起こることが多いが、洗浄不十分な生野菜や汚染された井戸水の摂取、保菌動物との接触が原因となることもある。症状は無症状から致死的なものまで様々で、主な症状は腹痛、水様性下痢、血便であり、溶血性尿毒症症候群（HUS）や急性脳症を引き起こし死に至ることもある。

茨城県では年間約80件前後のEHEC感染症発生届が提出され、2023年は89件の届出があった（図1）。11月には県内の観光果樹園において、来園者に提供する試食用りんごの喫食が原因と考えられるEHEC O157 VT2による食中毒事例が発生したのでその概要を報告する。

2. 事例概要

2-1 探知

2023年11月13日から16日にかけて、県内の複数保健所へEHEC感染症発生届が相次いで提出された。管轄保健所が調査を実施したところ、患者らは11月5日に県内の同一観光果樹園を利用し、試食用りんごを喫食していたことが判明した。

2-2 立ち入り検査、疫学調査および細菌検査

管轄保健所は、当該果樹園への立ち入り検査を行うとともに、11月5日に当該果樹園を利用した者等への積極的疫学調査を実施した。当所では、調査対象者便、当該果樹園従業員便、施設内の環境拭き取りおよび施設で使用していた湧水についてEHEC検査（「腸管出血性大腸菌（EHEC）検査・診断マニュアル」国立感

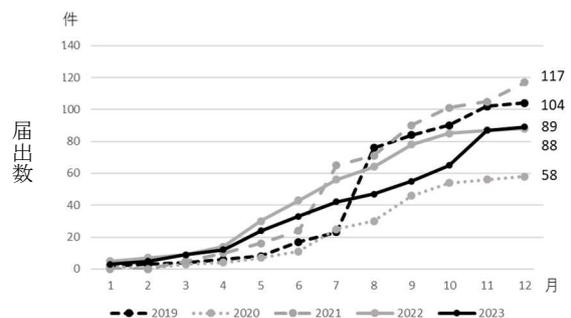


図1. EHEC感染症月別累計届出数

染症研究所2022年10月版に準拠)を実施した。加えて、11月5日の試食に使用したりんごの残品はなかったが、当該果樹園で別日に試食用として使用していたりんご2種類について、参考品として同様にEHEC検査を行った。

その結果、当該果樹園利用者16名、その同居家族1名および従業員1名の計18名がEHEC感染症と診断された(表)。18名の患者の症状は、水様性下痢13名(72%)、腹痛12名(67%)、血便8名(44%)、発熱8名(44%)、嘔吐5名(28%)、HUS3名(17%)、溶血性貧血2名(11%)、急性腎不全2名(11%)、咳1名(6%)であり、無症状病原体保有者も3名(17%)いた。HUS発症者3名のEHEC培養検査は陰性であったが、うち2名は国立感染症研究所で実

施した血清診断から大腸菌O157凝集抗体陽性となり発生届が提出された。残り1名は臨床症状からEHECと診断されたものの、大腸菌凝集抗体陰性のため発生届の提出には至らなかった。

また、利用者16名中15名が試食用りんごを喫食していた。EHECが検出された従業員1名は試食用りんごの加工担当者で、味見のため自身も試食用りんごを喫食していた。なお、試食用りんごの加工工程は、りんごを水道水で洗う、りんごカッターで16等分にカットする、塩水を入れた桶に入れる、ザルに受けて水切りをする、紙コップに入れて冷蔵庫で保管する、であった。また、患者のいるグループの利用時間帯は12時から15時と偏りが見られた(図2)。

表. 食中毒患者およびEHEC感染症診断者

No.	年齢	性別	発症日	症状	果樹園利用/りんご試食	O157検出
1	10歳未満	男	11月6日	水様性下痢、発熱、咳	○/○	有
2	10歳未満	男	11月7日	腹痛、水様性下痢、血便、発熱	○/×	有
3	10歳未満	男	11月8日	腹痛、水様性下痢、発熱	○/○	有
4	10歳未満	女	11月8日	腹痛、水様性下痢、嘔吐	○/○	有
5	10歳未満	男	11月8日	水様性下痢	○/○	有
6	10代	女	11月8日	腹痛、水様性下痢、発熱	○/○	有
7	60代	男	11月11日	腹痛、水様性下痢	○/○	有
8	70代	女	11月11日	腹痛、水様性下痢、血便、嘔吐、発熱	○/○	有
9	80代	女	11月11日	腹痛、血便	○/○	有
10	30代	女	11月12日	水様性下痢、血便、嘔吐	×/×	有
11	60代	女	11月12日	腹痛、血便	○/○	有
12	30代	女	11月15日	腹痛、水様性下痢、嘔吐	○/○	有
13	40代	女	なし	なし	○/○	有
14	60代	女	なし	なし	○/○	有
15	60代	女	なし	なし	○/○	有
16	10歳未満	男	11月8日	腹痛、水様性下痢、血便、発熱、溶血性貧血、急性腎不全、HUS	○/○	なし：大腸菌O157凝集抗体陽性
17	10歳未満	女	11月8日	腹痛、水様性下痢、血便、発熱、溶血性貧血、HUS	○/○	なし：大腸菌O157凝集抗体陽性
18	70代	女	11月9日	腹痛、水様性下痢、血便、嘔吐、発熱、急性腎不全、HUS	○/○	なし：大腸菌凝集抗体陰性、発生届なし

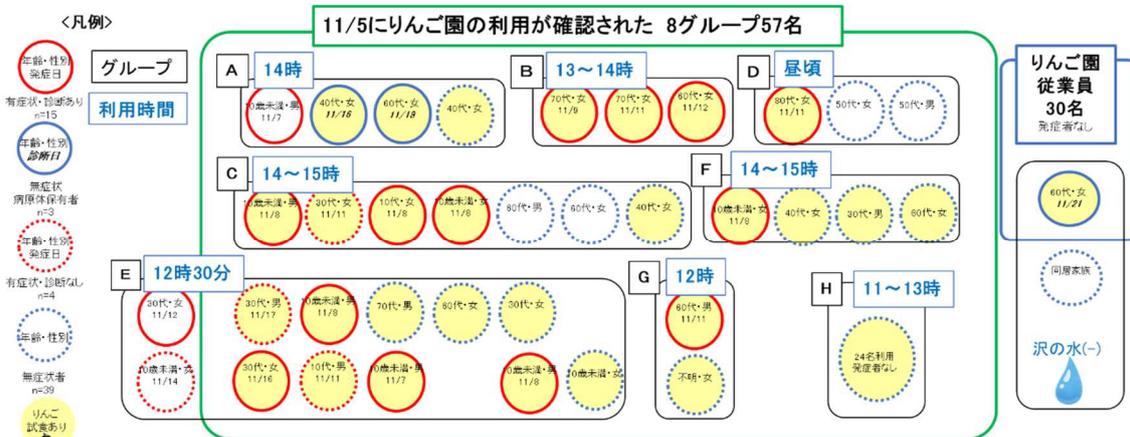


図2. 積極的疫学調査および細菌検査結果

施設内の環境拭き取り、施設で使用していた湧水、収去したりんご（参考品）はすべて EHEC 陰性であった。さらに、EHEC 陽性となった従業員の同居家族および自宅で使用していた沢の水について追加検査を行ったが、EHEC は検出されなかった。

一連の検査で検出された 15 菌株を反復配列多型解析（MLVA 法）により解析（「腸管出血性大腸菌 MLVA ハンドブック」（第 1 版）に準拠）したところ、すべて MLVA complex 23c076 であった。MLVA complex が一致したことから国立感染症研究所に 13 菌株の全ゲノム解析を依頼したところ、菌株間での単一塩基多型（SNP）は最大 2 か所となり、これらの菌株は遺伝的に近縁の株であることが判明した（図 3）。さらに全ゲノム解析の結果からは、VT2 サブタイプが HUS 発症率と最も相関があると言われている VT2a および VT2c であること²³⁾、O157 に共通する病原性遺伝子（*eae* 等の LEE 遺伝子群、*ehxA*、*nleA* 等）を保有し、治療上重要な β -ラクタム系抗菌薬やホスホマイシンの耐性遺伝子は認められないこと、O157 の高病原性系統の 1 つとされている clade8 であること⁴⁾が合わせて明らかになった。

現地調査時に試食用りんごが屋外で保管され、さらにハエが多数付着している状況であったことから、りんご販売所付近で採取したハエ 71 匹を 6~7 匹ずつ 10 ロットに分け、EHEC

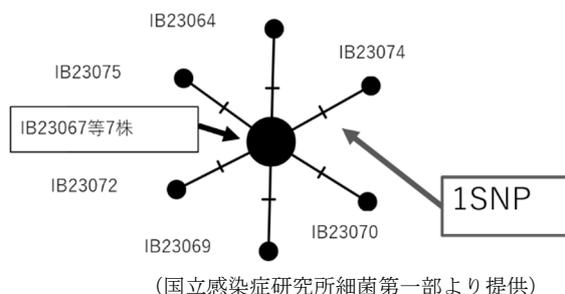


図 3. コアゲノム SNP を用いた
ハプロタイプネットワーク図

の保菌検査を実施した。その結果、O168 VT2 および Og65 VT2 がそれぞれ 1 ロットずつ検出された。さらに EHEC が検出された 2 ロットのハエ 14 個体について、国立感染症研究所昆虫医科学部に遺伝子・形態学的解析およびピレスロイド系殺虫剤抵抗性遺伝子（*kdr*）解析を依頼した。その結果、今回 EHEC が検出されたロットのハエはすべてイエバエと同定され、ピレスロイド系殺虫剤の有効性については問題なく、通常の殺虫剤での防除が可能とされる結論であった。

2-3 行政指導

本事案は、発生が一峰性であったこと、当該果樹園の試食用りんご以外に患者らに共通する食事や感染症を疑う事象は確認できなかったこと、患者および従業員から検出した O157 の MLVA complex が一致したことから、当該果樹園で提供された試食用りんごの喫食による食中毒と断定された。

本事例の公表後に腹痛、下痢等の症状があり追加調査をした者もいたが、新たな EHEC 陽性者は確認されなかった。

3. 考察

患者の発生したグループの利用時間帯が限定されていたことから、試食用りんごはごく一部のみが汚染されていたと推測された。また、最終的に EHEC 感染症と診断された 18 名のうち 16 名が試食用りんごを喫食していたが、試食用りんごの喫食歴がなかった残りの 2 名のうち 1 名は果樹園同行者であることから接触感染が、もう 1 名は果樹園利用者の同居家族であることから二次感染の可能性が疑われた。

追加調査で新たな患者が確認されなかった理由として、原因とされた 11 月 5 日から時間が経っていることから、糞便中に対象菌が残っていなかった可能性もあると推測された。

4. まとめ

試食用りんごが汚染された経緯として、りんご自体の汚染もしくは試食用りんご加工工程中の汚染が考えられたが、詳細は解明できなかった。一方で、ハエが傷ついたりんごへ EHEC を媒介しりんご内で菌が増殖するとの報告もあり⁶⁾、今回のハエの検査結果からもハエがりんごを汚染した可能性も示唆された。再発防止のためには、従業員や調理工程での衛生管理に加え、食材の保管や使用器具等の取り扱い、喫食者の手指衛生についても注意が必要であると思われた。

本事例の後、保健所は当該果樹園のみでなく、農林部局と連携して県内果樹園事業者を対象に衛生講習会を実施した。さらに本事例を受け、農林水産省から各都道府県農林部局に対し、「観光農園等における農産物の適切な取扱について(令和5年11月30日付消費・安全局食品安全政策課長、農産安全管理課長通知)」が発出され、全国的に広く食品衛生管理の注意喚起が呼びかけられることになった。

今回は、疫学情報と合わせて遺伝子解析を実施したことで、食中毒断定の一助となることができた。今後も引き続き菌株の収集と遺伝子解析を行い、主管課および保健所と連携しながら速やかに事例の把握に努め、食中毒や感染症の再発、拡大防止対策に貢献していきたい。

謝辞

情報提供いただきました関係保健所の皆様、血清診断、全ゲノム解析を実施いただきました国立感染症研究所細菌第一部の先生方およびハエの同定を実施いただきました同研究所昆虫医科学部の先生方に感謝申し上げます。

文献

1) 病原微生物検出情報 (IASR) Vol. 45 No. 5

(No. 531) 2024年5月発行

- 2) Orth D, Grif K, Khan AB, et al. The Shiga toxin genotype rather than the amount of Shiga toxin or the cytotoxicity of Shiga toxin in vitro correlates with the appearance of the hemolytic uremic syndrome, *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2007, vol. 59 (pg. 235-42)
- 3) Persson S, Olsen KE, Ethelberg S, et al. Subtyping method for *Escherichia coli* Shiga toxin (verocytotoxin) 2 variants and correlations to clinical manifestations, *J Clin Microbiol*, 2007, vol. 45 (pg. 2020-4)
- 4) Iyoda S, et al. 2014: Phylogenetic Clades 6 and 8 of Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157:H7 With Particular *stx* subtypes are more frequently found in isolates from hemolytic uremic syndrome patients than from asymptomatic carriers. *Open Forum Infect Dis*, 1(2), ofu061.
- 5) Manning SD, et al. 2008: Variation in virulence among clades of *Escherichia coli* O157:H7 associated with disease outbreaks. *Proc Natl Acad Sci USA*, 105(12), 4868-4873.
- 6) Janisiewicz WJ, et al. 1999: Fate of *Escherichia coli* O157:H7 on Fresh-Cut Apple Tissue and Its Potential for Transmission by Fruit Flies. *Appl Environ Microbiol*, 65(1), 1-5.