

香川県における腸管出血性大腸菌O157の発生について

藤井 康三・砂原千寿子・吉田真由美・三木 一男・山西 重機

Development of Enterohemorrhagic Escherichia Coli O157 in KAGAWA Prefecture

Koozou FUJII, Tizuko SUNAHARA, Mayumi YOSIDA, Kazuo MIKI and Shigeki YAMANISHI

I 緒 論

腸管出血性大腸菌O157（以後O157）による感染症は、1996年5月28日岡山県邑久町の小学校における集団発生を皮切りに全国で多発し、集団及び散発発生を合わせると1996年末までに、有症者9450名・死者12名を数える規模となった。¹⁾

香川県においては1996年4月から1997年3月までの間に50名の感染者が確認され、特に8月27日から9月21日までの約一ヶ月間に、中讃地域を中心に36人が確認された。当時は堺市における集団発生の後であり県民及び報道機関の注目の的となり、連日検査に追われる毎日であった。今回、当所で確認した37例と医療機関等で確認された13例とを合わせた50例についてまとめることにする。

II 方 法

当所に検査依頼のあった糞便は、O157を効率良く迅速に分離するためにスクリーニングPCR（以後S/PCR）を取り入れ、陽性検体についてはノボジオシン加ECブイヨンから基本法に従い分離・同定し、他の機関から同定依頼のあった菌株については、PCR法によるVT毒素産性能試験及びH血清型試験等を実施した。（図1）

S/PCRにはMK-1・2プライマー²⁾、VT毒素産性能試験PCRには小林らのプライマー³⁾を用い伊丹らの方法¹⁾に従い実施した。

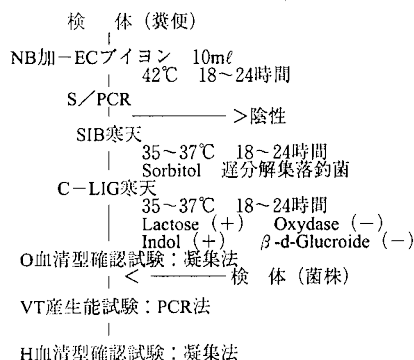


図1 O157検査法

III 結 果

菌型は検査依頼のあった37例中36例がO157:H7で、1例がO157:H-であり。VT毒素産性能は37例中35例がVT1・VT2で2例がVT2であった。（表1）

S/PCR陽性であった検体からは全てO157が分離された。

医療機関等で確認された13例を加えた50例の年齢構成は、0~10才25例、10~20才2例、20~30才9例、30~40才5例、40~50才3例、50~60才3例、60才以上3例であり0~10才の幼児が5割を示した。（図2）

月別構成は、5月1例、7月1例、8月12例、9月31例、10月1例、12月3例、1月1例であり8~9月に集中した。（図3）

地区別構成は高松地区6例、綾歌地区3例、仲多度地区38例、三豊地区3例であり、仲多度地区に集中した。（図4）

表1 O157菌型・VT産性能

菌 型	O157:H7 36例	O157:H- 1例
VT産性能	VT1・2 35例	VT2 2例

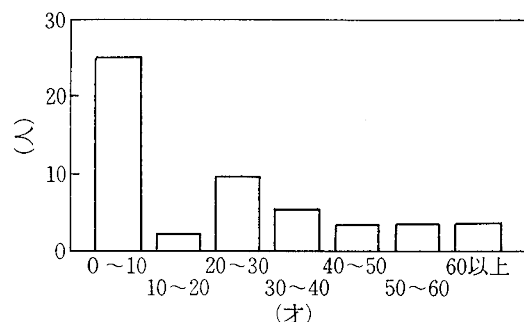


図2 O157年令別発生者数

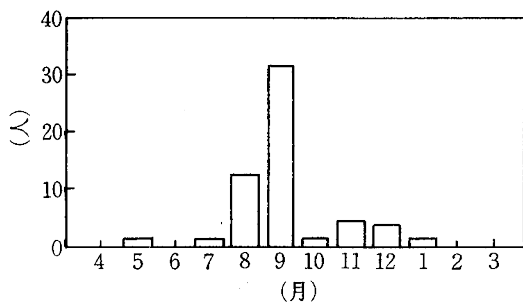


図3 O157月別発生者数

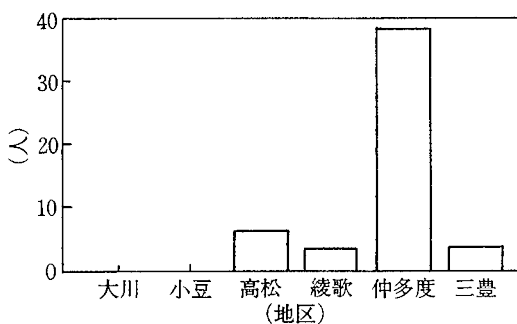


図4 O157地区別発生者数

IV 考察及びまとめ

O157の全国的な広がりの中香川県においても50例の感染が確認され、その内37例を当所で確認し、菌型はO157:H7, VT毒素産生能はVT1・VT2が殆ど占め、全国の報告⁵⁾と同様であった。

当所では従来O157を食中毒もしくは小児下痢症の原因菌とみなし分離・同定していた。しかしO157の指定伝染病としての指定に伴い、多量な検体の集中及び検出感度の点から、PCR法によりVT毒素産生能をスクリーニングしてから菌の分離・同定を実施し、S/PCR陽性検体から全てO157が分離された。従ってO157を分離・同定する場合S/PCRは有用であると考えられる。

医療機関で確認された13例を加えた50例について、年齢別では0～10才、月別では9月、地区別では仲多度地区が大半を占めた。

まず年齢別では本菌が元来小児下痢症の原因菌であり感受性が高く、さらに岡山県邑久町・堺市で学校給食施設での集団発生が多発した後であり、小児科医の関心が高いためと推察する。さらに接触者等の検便でも、家族内に多数の感染者が認められ、二次感染の可能性も示唆される。

次に月別・地区別では、8月27日から9月21日までの約一ヶ月間に中讃地域(仲多度・綾歌地区)を中心に36

例確認されたためである。香川県O157対策会議は、10月までに県内で分離されたO157の菌株を国立感染症研究所にDNA分析を依頼し、前述の36株については殆ど同一タイプであると報告があった。さらに感染者の一部に同一飲食店を利用した共通性が認められ、当所において食品・食材・拭き取り等の検査及び従業員の検便を実施し、従業員一人の便からO157を確認し、DNA分析でも同一タイプであると確認された。これらによりO157対策会議は中讃地域における散発発生は、同飲食店が感染経路の一つに該当する可能性が高いと報告した。⁶⁾

竹田らは⁷⁾原因菌が広域な流通などによって運ばれている場合と、各地にかなり異なるDNAタイプのO157が発生している場合とのふたつがあるとして述べている。前述の散発例では特定飲食店を利用していない人の感染も確認されており、汚染した食材が中讃地域に限定して流通した可能性も考えられる。

泉谷らは⁸⁾O157の流行は様々なタイプの菌によるものであるとして述べている。本県において10月以降の分離株のDNA分析は実施していないが、菌型の明らかに違うものが分離されており、DNAタイプも相違するものと推察する。

最後にO157の感染は、今年に入っても3月以降関東・東海地区を中心に散発例が多数報告されている。⁹⁾本県においても昨年の中讃地域と同様な散発発生が、何時起こるとも限らない状況は変わらないと考える。当所では感染源追求のために免疫磁気ビーズ法の導入及びDNA分析のための機器整備等を進めているところである。

DNA分析を実施いただいた国立感染症研究所の方々に深く感謝します。

文 献

- 1) 高谷幸：O157感染症の大流行に対する国の対応 日本食品微生物学雑誌 13 195～197 1997
- 2) Karch H：Single primer pair for amplifying segments of distinct Shiga-like-toxin genes by polymerase chain reaction J Clin Microbiol 27 2751～2757 1991
- 3) 小林一寛：遺伝子増幅法(PCR)による志賀赤痢菌様毒素遺伝子の検出とその型別法 日本細菌学雑誌 45 649～652 1990
- 4) 伊丹幸子：VTEC検出のための培養検査におけるPCR法の適用 徳島県保健環境センター年報 12 3～6 1994
- 5) 病原微生物検出情報(月報) EHEC/VTEC情報
7 17 1996
8 21～22 1996
9 14～17 1996
10 11～17 1996
11 11～15 1996
12 11～16 1996
1 11～13 1997
2 12～15 1997

- 3 17 1997
4 12 1997
- 6) 香川県病原性大腸菌O157対策会議：病原性大腸菌O157の感染の状況と原因究明について（調査結果）
- 7) 竹田多恵：1996年夏日本で多発した腸管出血性大腸菌O157感染症 日本細菌学雑誌 51 1037～1042 1996
- 8) 泉谷秀昌：腸管出血性大腸菌O157：H7の分子疫学的解析 第70回日本細菌学会講演要旨 3207 1997
- 9) 厚生省食品保健課：平成9年腸管出血性大腸菌O157による食中毒等の月別発生状況累計（1月～4月21日） WISH -NET 1997/4/21

(17.9%) カット野菜で13件 (32.5%) であり、冷蔵保存がノンカット野菜で32件 (82.1%) カット野菜で27件 (67.5%) であった。

2. 生食野菜の微生物汚染状況

ノンカット野菜、カット野菜 (塩素消毒加) の生菌数、大腸菌群数の検査結果を表1、表2、表3、表4に示した。

1) 一般生菌数汚染状況

ノンカット野菜の一般生菌数は大部分が $10^3 \sim 10^6$ /gの範囲にあり 10^6 /g以上のものが32.5%みられた。(表1) 野菜単品別ではキュウリ、レタス、ダイコン、パセリ、サニーレタス、ミニトマト、ネギの大部分が $10^5 \sim 10^6$ /gの範囲にあった。オオバは1検体であったが 10^7 /gを示した。(表3)

カット野菜 (塩素消毒加) では一般生菌数は $< 3.0 \times 10^2 \sim 10^4$ /gの範囲にあり、ノンカット野菜より低めであった。(表2) このことは塩素消毒が菌数の減少をもたらしたと考えられる。しかし、野菜単品別でパセリ、キャベツのように「弁当、そうざいの衛生規範」中のサラダ、生野菜等の未加熱処理の細菌数のガイドラインである 10^6

/g以下をこえたものがみられた。このことは塩素消毒後の工程 (カット～盛付け) でなんらかの汚染があったと考えられる。

2) 大腸菌群汚染状況

ノンカット野菜の大腸菌群数は81.2%が $0 \sim 10^1$ /gの範囲であった。(表2) 単品野菜では、キュウリ、キャベツ、ダイコン、パセリ、ミニトマト、ネギ、レタス、サニーレタスが $10^2 \sim 10^4$ /gの範囲であった。(表4)

カット野菜 (塩素消毒加) では、95.9%が $0 \sim 10^3$ /gの範囲であり、そのうち50%が陰性であった。このことは一般細菌数と同様に塩素消毒が菌数の減少をもたらしたと考えられる。

3) 大腸菌汚染状況

大腸菌はノンカット野菜から7件 (18%) 検出された。これらのものは全て洗浄前のノンカット野菜であった。検出された野菜はキャベツ、ダイコン、レタス、ニンジンであった。また、カット野菜 (塩素消毒加) からは大腸菌は検出されなかった。

今回の調査の目的である下痢原性大腸菌は全ての試料から検出されなかった。

表1 生菌数の検査結果

菌数 (g)	ノンカット野菜		カット野菜 (塩素消毒加)	
	検体数	総検体数に対する (%)	検体数	総検体数に対する (%)
<300	2	5.0	7	21.8
10^2	1	2.5	6	18.8
10^3	5	12.5	4	12.5
10^4	5	12.5	9	28.1
10^5	14	35.0	3	9.4
10^6	12	30.0	3	9.4
10^7	1	2.5	0	0.0
総合計	40	100.0	32	100.0

表2 大腸菌群数の細菌検査結果

菌数 (g)	ノンカット野菜		カット野菜 (塩素消毒加)	
	検体数	総検体数に対する (%)	検体数	総検体数に対する (%)
陰性	6	15.0	16	50.0
10^0	6	15.0	4	12.5
10^1	10	25.0	5	15.6
10^2	9	22.5	6	18.8
10^3	4	10.0	0	0.0
10^4	2	5.0	1	3.1
10^5	3	7.5	0	0.0
総合計	40	100.0	32	100.0

表3 ノンカット野菜の細菌検査結果

検体名	件数	菌数													
		生菌数 (g)							大腸菌群数 (g)						
		<300	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	陰性	10	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
キュウリ	8				2	4	2		1	1	4	1			1
キャベツ	7		1	1	2		3			1	3	1	2		
レタス	7			1	1	2	3		2		1		1	1	2
ダイコン	3					3					1	2			
トマト	4	1		2		1				4					
オオバ	1							1							1
パセリ	2					1	1					2			
サニーレタス	3					1	2		1		1		1		
ニンジン	2			1		1			1			1			
ミニトマト	1						1					1			
ネギ	1					1						1			
タマネギ	1	1							1						
小計	40	2	1	5	5	14	12	1	6	6	10	9	4	2	3
%	100	5.0	2.5	12.5	12.5	35.0	30.0	2.5	15.0	15.0	25.0	22.5	10.0	5.0	7.5

表4 カット野菜（塩素消毒加）の細菌検査結果

検体名	件数	菌数													
		生菌数 (g)							大腸菌群数 (g)						
		<300	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	陰性	10	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵		
レタス	5	1	1		3				3			2			
キャベツ	6		2	1	1	1	1		2	1	1	1			1
トマト	4	2	1		1				3	1					
ダイコン	2	1	1						2						
サニーレタス	3			1	1	1			1		2				
パセリ	2						2					2			
ニンジン	2		1	1					1	1					
キュウリ	5	1		1	3				2	1	1	1			
ミニトマト	2	1				1			1		1				
タマネギ	1	1							1						
小計	40	7	6	4	9	3	3		1.6	4	5	6			1
%	100	21.8	18.8	12.5	28.1	9.4	9.4		50.0	12.5	15.6	18.8			3.1

IV まとめ及び考察

最近（平成9年3月）厚生省が昨年の腸管出血性大腸菌O157による食中毒事件の続発等に対応し、大量調理施設の衛生管理の徹底及び食中毒処理の一層の迅速化効率化を図るため大量調理施設衛生管理マニュアルを作成された。生食用野菜においては下記のとおりである。

（原材料等の保管管理マニュアル）

1. 野菜・果物

① 衛生害虫，異物混入，腐敗・異臭等がないか点検

する。異常品は返品又は使用禁止とする。

② 各材料ごとに、50g程度ずつ清潔な容器（ビニール袋等）に密封して入れ、-20℃以下で2週間以上保存する。（検食用）

③ 専用の清潔な容器に入れ替えるなどして、10℃前後で保存する（冷凍野菜は-15℃以下）

④ 流水で3回以上水洗いする。

⑤ 中性洗剤で洗う。

⑥ 流水で十分すすぎ洗い

⑦ 必要に応じて、次亜塩素酸ナトリウム等で殺菌し

た後、流水で十分すすぎ洗いする。

- ⑧ 水切りする。
- ⑨ 専用のまな板、包丁でカットする。
- ⑩ 清潔な容器に入れる。
- ⑪ 清潔なシートで覆い（容器がふた付きの場合を除く）、調理まで30分以上を要する場合には、10℃以下で冷蔵保存する。¹⁾

以上のように保存温度と洗浄方法が指導されている。

今回の調査の生食用野菜の洗浄法では、次亜塩酸ナトリウムによる殺菌工程を有する施設は7施設（13施設中）で過半数を示していたが、水道水のための洗浄も1施設みられた。

保存温度も冷蔵保存がノンカット野菜で32件（82.1%）カット野菜で27件（67.5%）であったが、他のものは常温保存であった。

微生物汚染調査においては、今回の調査の目的である下痢性大腸菌は一件も検出されなかったが、大腸菌汚染はノンカット野菜から7件（18%）と高かった。しかし、カット野菜（塩素消毒加）からは一件も検出されなかった。

このことは、大腸菌の除菌に次亜塩素酸ナトリウムが

効果的であったと考えられる。しかし、一般生菌数でカット野菜（塩素消毒加）から「弁当、そうざいの衛生規範」中のサラダ、生野菜等のガイドラインである $10^6/g$ 以下を越えたものが2件みられ、塩素消毒後の工程の二次汚染も除外できないので、カット野菜の製造工程において二次汚染の防止も望まれる。

以上のことから、生食用野菜の食中毒防止には大量調理施設衛生管理マニュアルにしたがった処理が有用と考えられる。

文 献

- 1) 頭本藤雄：カット野菜の汚染防止対策と指標菌，食品と微生物，Vol 6，No 1，1989
- 2) 小沼博隆：市販カット野菜の微生物汚染状況，食品衛生研究，Vol 45，No 7，1995
- 3) 坂井千三：食中毒菌の制御—データと文献抄録—，中央法規出版株式会社，昭和63年6月10日発行
- 4) 厚生省環境衛生局食品衛生課長通知：弁当及びそうざいの衛生規範について，環境第161号，昭和54年6月29日
- 5) 厚生省生活衛生局長通知：大量調理施設衛生管理マニュアル，衛食第85号，平成9年3月24日
- 6) 河端俊治ら：実務 食品衛生，中央法規出版株式会社，昭和63年10月1日