

高齢者施設で発生した下痢原性大腸菌食中毒事例

川崎恵・田上紗弥加・笠愛・堤恵実・藤代敏行

福岡市保健環境研究所保健科学課

A case of Diarrheic *Escherichia coli* Food poisoning in an elderly care facility

Megumi KAWASAKI, Sayaka TANOUE, Ai RYU,
Megumi TSUTSUMI and Toshiyuki FUJISHIRO

Health Science Section, Fukuoka City Institute of Health and Environment

要約

令和5年6月、福岡市内の高齢者施設で患者数19名の食中毒が発生した。患者の主症状は下痢、発熱及び腹痛であった。細菌検査の結果、有症者便10検体、調理従事者便1検体、保存食1検体から2種類の下痢原性大腸菌が分離された。管轄保健所の疫学調査及び検査結果から、施設給食にて提供した食品が原因の下痢原性大腸菌 O159 及び O86 a による食中毒であると断定された。

Key Words : 下痢原性大腸菌 Diarrheic *Escherichia coli*, 食中毒 food poisoning, O159, O86 腸管毒素原性大腸菌 enterotoxigenic *E.coli* ETEC, 腸管凝集性大腸菌 enteroaggregative *E.coli* EAaggEC, ST 遺伝子, aggR 遺伝子

1 はじめに

大腸菌は、通常病原性を有しないが、病原性遺伝子を保有し、特定の疾病を惹起する大腸菌を病原性大腸菌と呼ぶ。病原性大腸菌は下痢原性大腸菌と腸管外病原性大腸菌に大別される¹⁾。

下痢原性大腸菌は、発生機序の違いにより、腸管出血性大腸菌 (enterohemorrhagic *E.coli* : EHEC) ・腸管毒素原性大腸菌 (enterotoxigenic *E.coli* : ETEC) ・腸管侵入性大腸菌 (enteroinvasive *E.coli* : EIEC) ・腸管病原性大腸菌 (enteropathogenic *E.coli* : EPEC) ・腸管凝集性大腸菌 (enteroaggregative *E.coli* : EAaggEC) ・びまん付着性大腸菌 (diffusively adherent *E. coli* : DAEC) に分類される¹⁾。

全国において令和5年に報告された食中毒事例1021件中、EHEC以外の下痢原性大腸菌によるものは3事例であった²⁾。福岡市においては、EHEC以外の下痢原性大腸菌による食中毒事例は平成20年から令和4年の15年間に2事例と非常に少ない³⁾。今回、市内の高齢者施設で発生した食中毒事例において、ETEC及びEAaggECの2種類の下痢原性大腸菌を検出したので、その概要と検査結果を報告する。

2 概要及び検査方法

2.1 概要

令和5年6月4日、市内の高齢者施設から管轄保健所に入所者及び施設職員の複数名が食中毒様症状を呈していると連絡があった。患者の主症状は下痢、発熱及び腹痛であった。喫食者41名中有症者は19名で、発症日は6月2日～6月5日の間であった。原因究明及び感染の拡大防止のために、当該施設を利用する有症者の糞便（以下、「有症者便」とする。）11検体、調理従事者の糞便（以下、「従事者便」とする。）4検体、5月29日～6月4日に施設で提供された食事の保存食（以下、「保存食」とする。）47検体、施設で使用されている井戸水（以下、「井戸水」とする。）3検体及び施設のふきとり（以下、「ふきとり」とする。）3検体が福岡市保健環境研究所へ搬入され、各食中毒菌の検査を実施した。細菌検査の結果、有症者便10検体、従事者便1検体、保存食（加熱した鶏肉）1検体から下痢原性大腸菌が分離された。また、下痢原性大腸菌が分離された有症者便10検体中9検体、従事者便及び保存食にて2種類の下痢原性大腸菌を検出した。管轄保健所は当該施設が給食で提供した食品（鶏肉のトマト煮：加熱した鶏肉）を原因食品と断定した。

2.2 材料及び方法

2.2.1 検査材料

市内の高齢者施設で発生した食中毒疑いの有症者便 11 検体, 従事者便 4 検体, 保存食 47 検体 (調理施設 A 保存食 43 検体及び調理施設 B 保存食 4 検体), 調理施設 A のふきとり 3 検体, 井戸水 3 検体を対象とした。調理施設 A は, 高齢者施設内にあり, 給食受託事業者 (以下, 「事業者」とする。) が運営し, 当該高齢者施設に食事を提供する。調理施設 B は, 当該事業者が運営する別の高齢者施設にある調理施設であり, 提供日の前日に調理し, 急速冷凍, 真空包装, チルド保管を行っている。

(図 1)

また, 調理施設 B の保存食は, 有症者 19 名の共通食である 6 月 1 日の夕食と同一時に調理したものであった。

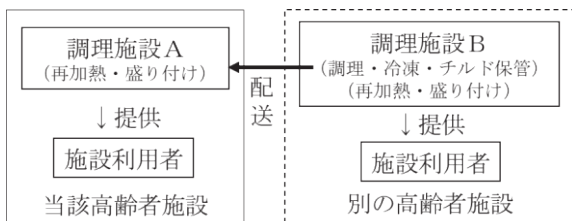


図 1 給食の提供までの流れ

2.2.2 検査方法

各食中毒菌の検査は定法^{4, 5)} に準じて実施した。

1) 分離培養

(1) 糞便からの分離

DHL 平板寒天培地及び SS 平板寒天培地を用いて直接塗抹分離培養を行うとともに, mEC 培地にて増菌培養した増菌培養液 (以下, 「増菌培養液」とする。) を DHL 平板寒天培地及び SS 平板寒天培地に塗抹分離培養を行った。必要に応じて後述するスクリーニング試験及び免疫磁気ビーズ法を行った。

(2) ふきとりからの分離

DHL 平板寒天培地及び SS 平板寒天培地を用いて直接塗抹分離培養を行った。

(3) 保存食, 井戸水からの分離

増菌培養液を後述するリアルタイム PCR 法⁶⁾ により, 8 種の病原性遺伝子検出試験を行い, 病原遺伝子を検出した増菌培養液を DHL 平板寒天培地及び SS 平板寒天培地に塗抹分離培養を行った。

2) スクリーニング試験

増菌培養液の病原性遺伝子のリアルタイム PCR 法⁶⁾ 及び増菌培養液を塗抹培養後, 生育した複数のコロニーをまとめて掻き取り, リアルタイム PCR 法⁶⁾ により病原遺伝子を検出するいわゆるコロニースイープ法を行った。

リアルタイム PCR 法は PowercheckTM Diarrheal E.coli 4-plex Real-timePCR Kit I・II⁶⁾ を用い, QuantStudio 5 (Thermo Fisher SCIENTIFIC 社製) で測定した。PowercheckTM Diarrheal E.coli 4-plex Real-timePCR Kit I・II の添付文書⁶⁾ にしたがって行った。対象検出遺伝子を表 1 に示す。

表 1 PowercheckTM Diarrheal E.coli 4-plex Real-timePCR Kit 検出遺伝子

Kit名	検出遺伝子
Kit I	VT1, VT2, LT, ST
Kit II	caeA, aggR, bfpA, ipaH

3) 免疫磁気ビーズ法

標的とする 2 種類の血清型 O159 又は O86a を選択的に分離するため, 増菌培養後, 免疫磁気ビーズ (Thermo Fisher SCIENTIFIC 社製 Dynabeads M-280 Sheep anti-Rabbit IgG⁷⁾) を用い, O159 又は O86a を選択濃縮し, 塗抹分離培養を行った。

O159 及び O86a の免疫磁気ビーズは, 各血清群の免疫ウサギ血清 (デンカ株式会社製病原性大腸菌免疫血清「生研」) 及び抗ウサギ IgG 抗体結合ビーズを用い自家調整を行った⁷⁾。

4) 菌の同定

分離されたコロニーの同定は生化学的性状試験, O 抗原・H 抗原の血清型別試験 (デンカ株式会社製病原性大腸菌免疫血清「生研」) 及びリアルタイム PCR 法⁶⁾ による 8 種の病原性遺伝子検出試験を組み合わせ実施した。

3 結果及び考察

3.1 下痢原性大腸菌の検出状況

細菌検査の結果, 有症者便 10 検体, 従事者便 1 検体, 6 月 1 日夕食の保存食 1 検体 (調理施設 A 保存食: 加熱した鶏肉) から下痢原性大腸菌が分離された。分離された下痢原性大腸菌は ST 遺伝子保有 O159: H20 (以下, 「O159」とする。) 及び aggR 遺伝子保有 O86a: H2 (以下, 「O86a」とする。) の 2 種類であった。下痢原性大腸菌を検出した 12 検体中 11 検体で, 2 種類の下痢原性大腸菌を検出した。それぞれ検出数は表 2 に示した。

また, 有症者及び従事者の糞便における直接塗抹培養による検出状況は, O159 が 10 検体のうち 6 件, O86a が 11 検体のうち 3 件であった。スクリーニング試験が陽性で, 直接塗抹培養にて分離できなかった検体は, 増菌

培養後、塗抹培養の実施及び免疫磁気ビーズ法を用いることにより分離及び同定した。有症者便の直接塗抹培養の検出状況の違いより、有症者の腸内における菌の存在比が異なることが推察された。

表2 下痢原性大腸菌の検出状況

検体種別	検体数	検出数	
		O159	O86a
有症者便	11	9	10
従事者便	4	1	1
ふきとり	3	0	0
井戸水	3	0	0
保存食	47	1	1

3.2 施設の調査結果及び原因食品の特定

有症者 11 名の糞便の細菌検査の結果、9 名から下痢原性大腸菌 O159 及び O86a, 1 名から O86a, 6 月 1 日夕食の保存食（調理施設 A）：加熱した鶏肉から下痢原性大腸菌 O159 及び O86a を検出した。

調理は、前述のとおり事業者が運営する別の調理施設 B で提供日の前日に調理し、急速冷凍、真空包装、チルド保管したものを調理施設 A で再加熱、盛り付けを行い提供していた。

調理施設 B の 6 月 1 日夕食（加熱した鶏肉を含む）の保存食からは、下痢原性大腸菌は不検出であった。また、調理施設 B から調理施設 A とは別の高齢者施設に提供されていた同日調理品の喫食者に体調不良者はいなかった。

有症者 19 名の共通食は 6 月 1 日の夕食に当該調理施設 A で提供されたもののみで、同日の夕食を調理していた従事者便から下痢原性大腸菌 O159 及び O86a を検出した。当該調理従事者は 6 月 1 日調理した給食を喫食していたが、体調不良はなかった。疫学調査の結果、感染症が疑われる事象がなく、潜伏期間及び症状が下痢原性大腸菌と一致した。そのため、管轄保健所は当該調理施設 A で再加熱、盛り付け等を行う際に食品を汚染し、ETEC 及び EaggEC による食中毒が起きた可能性が高いと推察した。以上のことから、鶏肉のトマト煮（加熱した鶏肉）を原因食品とする下痢原性大腸菌 O159 及び O86a による食中毒と断定し、高齢者施設の調理施設 A は、6 月 9 日から 6 月 12 日の 3 日間の営業停止の行政処分がなされ

た。食品の汚染原因の特定には至らなかったが、新たな有症者は確認されず、二次感染へ拡がることはなかったと推察された。

4 まとめ

当事例では大腸菌以外の有意な食中毒菌が検出されなかったことから、下痢原性大腸菌を疑い、スクリーニング試験を実施した。その結果、ST 及び aggR の 2 種類の下痢原性遺伝子を検出し、下痢原性大腸菌の存在を確認したが、塗抹培養により複数の大腸菌が同一のシャーレ上で混在しており、下痢原性大腸菌を分離することが困難であった。一般的に細菌性食中毒の発生時の行政処分は培養による原因菌の分離及び同定が必要である。同一のシャーレ上に複数のコロニーが混在するなかから特定の下痢原性遺伝子を保有する菌の同定を迅速かつ確実に実施するためには、病原性遺伝子のリアルタイム PCR 法によるスクリーニングを行い、存在を確認後、免疫磁気ビーズ法により集菌したうえで、分離及び同定を行う方が効果的であると考えられた。

今後もより迅速で正確な検査を目指し、これまで以上に食中毒事例への対応に貢献したい。

文献

- 1) 平成 21 年度食品安全確保総合調査「食品により媒介される感染症等に関する文献調査報告書」
- 2) 厚生労働省医薬品食品局食品安全部監視安全課：2023 年食中毒統計資料 令和 5 年（2023）食中毒発生状況
- 3) 福岡市食中毒発生状況（平成 20 年～令和 4 年）
- 4) 食品由来感染症と食品微生物 中央法規出版 p 250
- 5) 食品衛生検査指針 微生物編 改訂第 2 版 公益社団法人 日本食品衛生協会
- 6) Powercheck™ Diarrheal E.coli 4-plex Real-timePCR Kit I (VT1, VT2, LT, ST)・II (eaeA, aggR, bfpA, ipaH) Protocol Kogane Biotech 社
- 7) Dynabeads M-280 Sheep anti-Rabbit IgG Manuals & Protocols Thermo Fisher SCIENTIFIC 社