

## 馬刺しを原因食品とした EHEC O157 食中毒事例

菊地理慧 富田望 菅野奈美 二本松久子 小黒祐子<sup>1)</sup> 吉田学<sup>2)</sup>

微生物課 <sup>1)</sup> 前衛生研究所 <sup>2)</sup> 県南保健福祉事務所

### 要 旨

2014年3月28日から4月14日に馬刺しによる腸管出血性大腸菌（以下，“EHEC”とする。）O157食中毒事件が発生した。事件は本県を含め11都県におよび、患者は88名（うち入院38名、溶血性尿毒症症候群（HUS）5名）である。このため、本県内の喫食者、接触者、馬刺し加工会社の従事者の糞便、食品及び加工器具等の拭きとり検体について検査を行った。その結果、喫食者28名、接触者4名及び馬刺し3検体から菌が分離された。それらについて遺伝子型別解析を実施した結果、全て同一株であると判明した。また、同時期に疫学情報から馬刺しを原因食品とした食中毒とは関連性が認められないEHEC O157が4菌株搬入されたが、遺伝子型別解析の結果全て馬刺しを原因食品とした食中毒関連株と一致することが明らかとなった。

キーワード：EHEC O157, 馬刺し食中毒, PFGE 法, IS-printing System, MLVA 法

#### はじめに

近年、食肉による食中毒が増加している<sup>1)</sup>。2011年4月に発生した焼肉チェーン店でのEHEC広域集団食中毒事件を受け、同年10月生食用食肉に関して罰則を伴う強制力のある「生食用食肉に係る規格基準」<sup>2)</sup>が改正された。さらに、翌年7月には牛肝臓の生食用として提供が禁止<sup>3)</sup>となった。しかし、生食用馬肉については、EHECを原因とする食中毒事件が報告されていないことから、上記の規格基準は適用されていない。

本県では2014年3月から4月にかけて馬刺しを原因食品としたEHEC O157食中毒事件が発生した。この事件は、4月4日に新潟市からの連絡により探知し、調査の結果本県

の初発患者は3月28日に発症していた。このことについて、本県の患者情報、検査体制、検査状況及び遺伝子型別解析結果について報告する。

#### 材料及び方法

##### 1 検査状況

検査は、当所の試験検査課、県中支所、会津支所及び郡山市保健所、いわき市保健所で菌株を分離し、微生物課で遺伝子型別解析を実施した。検体は、喫食者、接触者（二次感染者）及び馬刺し加工会社の従事者の糞便、食品並びに器具等の拭きとりで、総数238検体であった。その内訳を表1に示す。

表1 衛生研究所・保健所別検体数

内 訳	衛生研究所			保健所		総 計
	試験検査課	県中支所	会津支所	郡山市	いわき市	
喫食者	3	8	32	3	2	48
接触者	14	6	15	9	8	52
従事者			25			25
食 品			17		5	22
拭きとり			91			91
総 計	17	14	180	12	15	238

表2 衛生研究所・保健所別菌株検出数（医療機関を含む）

内 訳	衛生研究所			保健所		総 計
	試験検査課	県中支所	会津支所	郡山市	いわき市	
喫食者	2	1	15	4	6	28
接触者	2	3	2		1	8
従事者						
食 品					3	3
拭きとり						
総 計	4	4	17	4	10	39

2 遺伝子型別解析

遺伝子型別解析は、デンカ生研の病原大腸菌免疫血清を用いたO型別試験でO157であると判明した菌株32菌株並びに新潟県、新潟市、山形県及び秋田県からの譲渡13菌株について実施した。さらに、同時期に疫学情報からは馬刺しを原因食品とした食中毒とは関連性が認められないEHEC O157が4菌株搬入され、それらについても実施した。なお、当所では東洋紡のIS-printing System（以下、“IS法”とする。）及びパルスフィールドゲル電気泳動法（以下、“PFGE法”とする。）により解析した。国立感染症研究所では、PFGE法及びMultiple Locus Variable Number Tandem Repeats Analysis（以下、“MLVA法”とする。）を実施し解析した。

結果及び考察

1 検査状況

当所及び各市保健所別菌株検出数を表2に示す。医療機関で分離した菌株を含め36名から菌が検出された。なお、菌を検出した36名の内訳は、喫食者28名、二次感染者4名、関連性が認められない4名である。また、各都県患者発症状況については表3に示す。

本県における36名中でわかり得た日別喫食と発症状況については図1に示す。喫食日は3月28日から4月6日の10日間であり、その内84%は4月1日までの5日間に喫食している。発症日については3月29日から4月22日となっているが、4月22日発症者1名を除いては4月7日までの10日間に発症している。この4月22日に発症した患者は3月31日に喫食しており、4月7日に保健所で検査を受けているが、検出されなかった。

よって、菌の陰性化に時間がかかった家族からの二次感染であると考えられる。

次に、患者及び保菌者の年齢分布については表4に示す。1歳から91歳まで分布しており、10歳以下は5名である。また、菌を検出した36名中有症者は24名であり、性別による症状の有無については図2に示す。男性が女性より有症者がやや多くみられた。症状の発現状況は表5のとおりであり、有症者のうち血便の症状を呈していたのは約7割であった。

なお、関連性が認められない4名については、8歳の男児が発症し、その関連調査で両親の検査を行いEHEC O157が分離されたが、両親には症状はなかった。また、もう1名は食中毒の原因となった馬刺しを取り扱っている他県の飲食店で食事をしているが、馬刺しは喫食していなかった。

表3 都道府県別発生状況

都 県	入院者	非入院者	総 計
福 島	15	14	29
山 形	7	7	14
東 京	4	10	14
新 潟	6	7	13
秋 田	3	1	4
埼 玉		4	4
茨 城		3	3
千 葉	1	2	3
宮 城	2		2
神奈川		1	1
愛 知		1	1
総 計	38	50	88

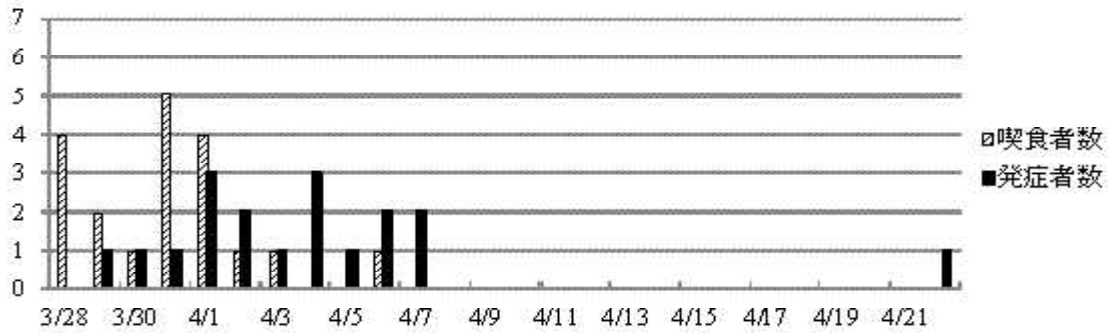


図1 日別喫食と発生状況

表4 菌を検出した患者及び保菌者の年齢分布

年齢 (歳)	男	女	総計
0～10	4	1	5
11～19	3	4	7
20～29	1	2	3
30～39	2	1	3
40～49	2	2	4
50～59	2	1	3
60～69	2	4	6
80～89	2	2	4
90～99	0	1	1
総計	18	18	36

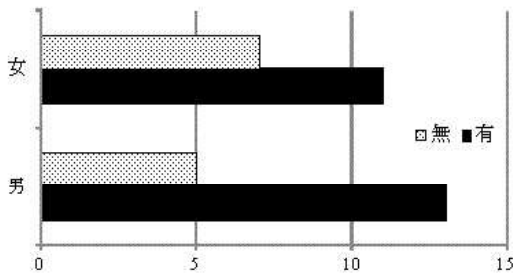


図2 性別による症状の有無

表5 症状の発現状況

症状	延べ患者数
腹痛	21
血便	17
水溶性下痢	14
発熱	4
嘔吐	2

2 遺伝子型別解析

当所で実施した遺伝子型別検査の数は、PFGE 法 52 件及び IS 法 39 件である。なお、PFGE 法は他県からの分離株も実施した。当所及び国立感染症研究所の結果を表 6 に示す。IS 法及び MLVA 法では一株を除いて一致した。IS 法の Major type については表 7 に示す。IS 法及び MLVA 法で一致しなかった株である表 6 の No.6 は 4 月 22 日に発症した者から分離された菌株であり、その菌株の IS 法の結果は表 8 に示す。primer set 2-03 において IS コードに相違があった。また、MLVA 法の結果は図 3 に示す。No.6 は、Single locus variant (SLV) となった。

さらに、PFGE 法では当所と国立感染症研究所で異なる結果になった。例えば No.5 は国立感染症研究所のデータでは、2 バンドが欠失し、1 バンドは明暗の形状違いで 3 バンド違いとなったが、当所では Major type とした。このように異なる結果になった要因として、国立感染症研究所ではバンドの有無の他、太さや明暗などの形状違いも判定に含めているが、当所ではバンドの有無のみで判定している。また、菌株送付や培養継代により変異が起こり、バンドの違いが生じたと考えられる。

図 4 は他県の患者から分離された菌株、本県の患者から分離された菌株及び本県で馬刺しから分離された菌株を同時に PFGE 解析した結果であり、バンドの明暗の違いはあるが全て一致している。

さらに、関連性が認められない 4 名から分離された菌株についてもすべて馬刺しを原因食品とした食中毒関連株と一致した。

表6 遺伝子型別解析結果

No.	IS-printing	MLVA complex	MLVA type	PFGE			分離菌株数
				Type No.	感染研	福島県	
1	Major type	14c001	14m0004	K7			31
2				k21	two bands differ. from k7	one band differ. from k7	1
3				k22	one band differ. from k7	K7	1
4				k23	one band differ. from k7		1
5				k24	three bands differ. from k7		1
6	Variant type		14m0026	K7			1

表7 IS-printing法Major type

primer set 1	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	eae	16	hly
Size (bp)	974	839	742	645	595	561	495	442	405	353	325	300	269	241	211	185	171	139
判定	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1
primer set 2	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	stx2	stx1
size (bp)	987	861	801	710	642	599	555	499	449	394	358	331	301	278	240	211	181	151
判定	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1

表8 IS-printing法Variant type (No.6)

primer set 1	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	eae	16	hly
size (bp)	974	839	742	645	595	561	495	442	405	353	325	300	269	241	211	185	171	139
判定	0	1	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1
primer set 2	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	stx2	stx1
size (bp)	987	861	801	710	642	599	555	499	449	394	358	331	301	278	240	211	181	151
判定	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	1

まとめ

本事例は EHEC O157 による食中毒事例であったため、結果が迅速に得られる IS 法により初期の時点から原因食品や他県の分離株と結果を照合することができた。2012 年 8 月に北海道で発生した、白菜浅漬による O157 食中毒事例においても、IS 法は PFGE 法の結果ともほぼ一致したことや迅速に結果が得られたことにより、O157 集団発生の疫学調査の有効な手段になりうると評価されている<sup>4, 5)</sup>。しかし、販売されているキットが O157 のみのため他の O 型においても迅速に対応するためには、MLVA 法について今後技術の習得が必要であると思われた。このため、当所では現在 MLVA 法の構築を検討中であ

る。

なお、今回初めて生食用馬肉を原因食品とする EHEC 食中毒が発生した。保健所の汚染原因の調査で、加工会社による適切な汚染防止対策が講じられていたとは言い難い結果であった。また、馬自体が保菌している可能性も考慮し、食肉衛生検査所と畜場においての馬の糞便を対象とした EHEC の保菌実態調査を実施したが、全て陰性であった。これらの結果から馬肉が汚染された原因を究明することはできなかった。

謝辞

遺伝子型別解析を実施及び情報を提供していただきました国立感染症研究所 細菌第一

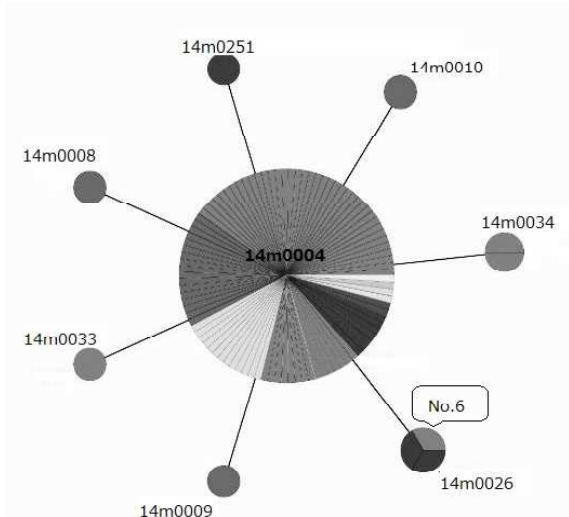


図3 MLVA解析結果

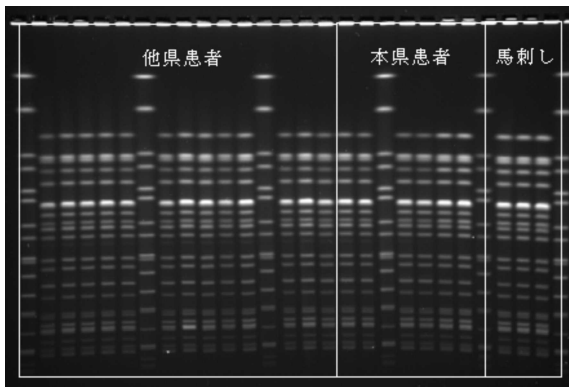


図4 PFGE解析結果

部の先生方，菌株譲渡及び情報を提供していただきました新潟市，新潟県，山形県及び秋田県の先生方並びに患者疫学情報等を提供いただきました管轄保健所の職員の方々へ深謝いたします。

引用文献

1) 品川邦汎．生食用食肉の新しい衛生基準と牛肝臓の生食禁止の経緯及び今後の対応．一般財団法人食品分析開発センター．2013年3月発行．

<http://www.mac.or.jp/mail/130301/01.shtml>

2) 食品，添加物等の規格基準の一部を改正する件について．平成23年9月12日．食安発0912第7号．厚生労働省医薬食品局食品安全全部長通知

3) 牛肝臓の取扱いについて．平成24年6月14日．食安発0614第6号．厚生労働省医薬食品局食品安全全部長通知

4) 国立感染症研究所，厚生労働省健康局結核感染症課．＜特集関連情報＞白菜浅漬による腸管出血性大腸菌 O157 食中毒事例について一札幌市．病原微生物検出情報 2013；5：126.

5) 国立感染症研究所，厚生労働省健康局結核感染症課．＜特集関連情報＞白菜浅漬による O157 食中毒事例における IS-printing system 解析例について．病原微生物検出情報 2013；5：127-128.