

令和3年度希少感染症診断技術研修会

埼玉県内の学校給食で発生した *astA*陽性大腸菌による食中毒について

埼玉県衛生研究所 食品微生物担当

鹿島 かおり

令和4年2月18日

*astA*保有大腸菌による食中毒事例

発生年・発生地	概要	患者数 (人)	血清型
1996・大阪市	昼食の弁当を喫食後発症	54	0166:H15
1997・福井県	結婚披露宴の仕出し料理を喫食後発症	20	0166:H15
2003・福岡県	施設の入所者が発症	162	025:H10
2004・福井県	学校の寮の調理室で調理した食事で発症	69	0169:HNM
2006・熊本市	刑務所の入所者が発症	147	0166:H15
2013・大阪市	社員食堂の昼食喫食後発症	39	0166:H15
2016・姫路市	仕出し弁当を喫食後発症	28	0166:H15
2019・新潟県	合宿に参加した埼玉県の高校生が発症	181	0166:H15
2020・埼玉県	学校給食で児童・生徒・教職員が発症	2,958	07:H4

事例概要

概要

- 発生年月日
令和2年6月26日（金）
- 発生場所
埼玉県八潮市
- 患者
患者数 2,958人
（小学生 1,846人、中学生 949人、教職員等 163人）
- 主な症状
下痢（水様便、軟便）、腹痛
- 原因食品
海藻サラダ（6月26日提供）
- 病因物質
病原大腸菌07:H4（*astA*保有）

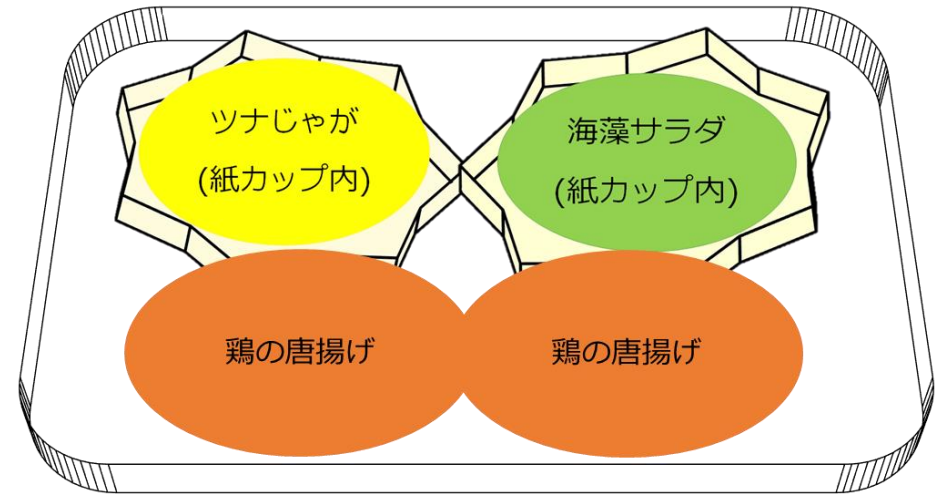
経過

月日	経過
6月28日(日)	探知
6月29日(月)	八潮市が学校給食の供給を停止 保健所が給食提供者である弁当製造施設に立入
6月30日(火)	検便(患者17検体、従業員9検体)、検食、ふきとり搬入
7月1日(水)	検便搬入(患者2検体) 保健所が弁当製造施設に立入 弁当製造施設が営業を自粛
7月2日(木)	患者12名の便から病原大腸菌を検出(従事者からは不検出) 保健所が給食を原因とする食中毒と断定 弁当製造施設を営業停止処分(7月2日から7月4日)
7月6日(月)	海藻サラダ(6月26日提供)から病原大腸菌を検出

症例定義

以下の3点について調査票から確認できた者を患者とした

- 令和2年6月26日の学校給食を喫食した者
- 症状に腹痛又は下痢を呈した者
- 発症日時が、原因食品の喫食後2時間以上経過している者



6月26日の副食プレート

患者の発生状況（学校別）

学校等	喫食者数	患者数		合計	発症率 (%)
		男	女		
A小	353	73	76	149	42.2
B小	692	161	174	335	48.4
C小	366	70	71	141	38.5
D小	574	111	82	193	<u>33.6</u>
E小	439	81	87	168	38.3
F小	229	55	60	115	50.2
G小	75	28	11	39	52.0
H小	764	157	169	326	42.7

学校等	喫食者数	患者数		合計	発症率 (%)
		男	女		
I小	578	133	154	287	49.7
J小	204	52	41	93	45.6
K中	517	98	117	215	41.6
L中	536	130	127	257	47.9
M中	135	37	40	77	<u>57.0</u>
N中	396	87	95	182	46.0
O中	455	123	95	218	47.9
教職員等	449	95	68	163	36.3

患者の発生状況（症状）

症状		患者数	発現率（%）
下痢		2,716	91.8
状態別 (再掲、 複数回 答)	水様性	1,806	61.1
	粘液性	642	21.7
	軟便	1,107	37.4
	血便	7	0.2
腹痛		2,581	87.3
発熱		671	22.7
頭痛		552	18.7
吐き気		528	17.9
倦怠感		487	16.5
悪寒		306	10.3
嘔吐		135	4.6

検査概要

検査の状況

1 細菌検査

- ・ 便（患者19, 調理従事者9） 患者14検体から大腸菌 (*astA+*) 検出
- ・ 検食 24種27検体 海藻サラダから大腸菌 (*astA+*) 検出
- ・ 拭取り 4検体 陰性

2 ウイルス検査

- ・ 便26検体（初日搬入分の全て） ノロウイルス陰性
- ・ 便19検体（初日搬入分の一部） サポウイルス、
A群及びC群ロタウイルス } 陰性
アストロウイルス }

検査概要

便検体



平板への塗抹
SS, TCBS, mCCDA, CT-
SMAC, Mn, NGKG, Dri, CW



PCR
生化学性状
血清型別等

便検体 (患者のみ)



QIAamp Fast
DNA Stool Mini
Kit (QIAGEN) で
抽出



リアルタイム
PCRによる病原
遺伝子の確認

食品

mEC10倍乳剤を
42°Cで増菌培養



平板への塗抹
Dri, SMAC,
クモアガ-STE C



PCR
生化学性状
血清型別等

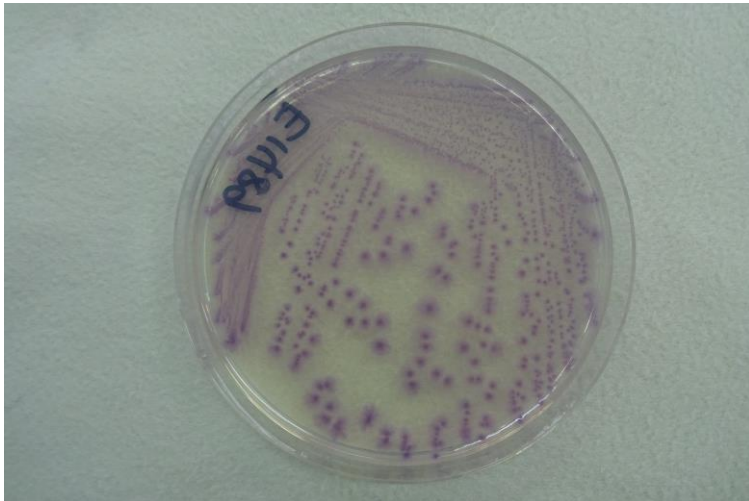
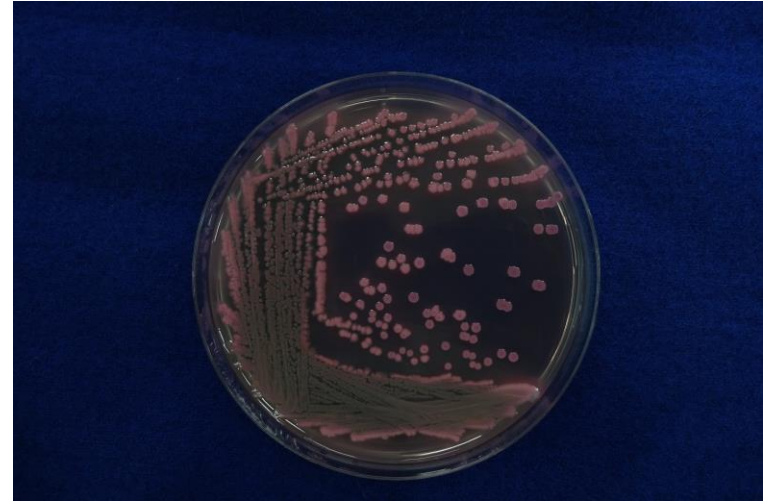
検査の経過 (1)

6月30日搬入検体について記載

	便検体 (患者)	便検体 (従業員)	食品
6/30 (火)	17検体搬入 平板への塗抹 便からDNA抽出しリアルタイムPCR 17検体 <i>astA</i> 陽性	9検体搬入 平板への塗抹	6/24~6/26分搬入 冷凍保存
7/1 (水)	17検体中16検体のドリガルスキー改良培地 (Dri) 上に黄色コロニー発育 PCR (ExEC, EpAII) で12検体 <i>astA</i> 陽性 陽性検体を生化学性状培地へ	5検体のDriに黄色コロニー発育 <i>astA</i> 陰性	
7/2 (木)	12検体の生化学性状が大腸菌と一致 TSI (+/+), LIM (+++), VP (-), SC (-) 免疫血清を用いたO群別試験 OUT		24種27検体の検査開始 10倍乳剤の直接塗抹及び増菌培養

検査の経過 (2)

	便検体 (患者)	食品
7/3 (金)	<i>E. coli</i> 0g-typing PCR の実施 H型別のため半流動培地へ (1回目)	直接塗抹 すべて <i>astA</i> 陰性 増菌培養液からDNA抽出 リアルタイムPCRで 8検体 <i>astA</i> 陽性 陽性検体の増菌培養液を平板に 塗抹し37°Cで培養
7/4 (土)	<i>E. coli</i> 0g-typing PCR の実施 H型別のため半流動培地へ (2回目)	8検体中7検体の平板から釣菌 PCRで3検体 <i>astA</i> 陽性 陽性検体を生化学性状培地に接 種
7/5 (日)	<i>E. coli</i> 0g-typing PCR の実施 PCRにより0g7と判定 H型別のため半流動培地へ (3回目)	3検体中2検体の生化学性状が大 腸菌と一致(2検体はどちらも海 藻サラダ) 免疫血清で OUT、PCRで 0g7 H型別のため半流動培地へ (1回目)



左上：ドリガルスキー改良培地
右上：ソリトールマッコンキー培地
左下：カモアガ-STECS

検査の経過（3）

	便検体（患者）	食品
7/6 (月)	H型別試験実施 12検体すべて H4	H型別のため半流動培地への 接種（2回目）
7/7 (火)		H型別試験実施 2検体とも H4
	SSI社製免疫血清 07 を入手（感染症研究所から供与） PCRで0g7と確認できた分離菌株について0群別試験実施 検査を実施した株すべてが 07	

便抽出物のリアルタイムPCR

病原体	標的遺伝子
カンピロバクター・コリ	<i>ceuE</i>
腸管出血性大腸菌 (Stx1)	<i>stx1</i>
カンピロバクター・ジェ ジュニ	specific
腸管出血性大腸菌 (Stx2)	<i>stx2</i>
毒素原性大腸菌 (STh2)	<i>st</i>
腸管侵入性大腸菌、赤痢菌	<i>virA</i>
毒素原性大腸菌 (LT)	<i>lt</i>
サルモネラ	<i>invA</i>
ウェルシュ菌	<i>cpe</i>
セレウス菌 (下痢毒)	<i>nheB</i>
セレウス菌 (嘔吐毒)	<i>ces</i>
黄色ブドウ球菌	<i>femB</i>

左表の12種類の遺伝子を標的として実施
→ すべて不検出

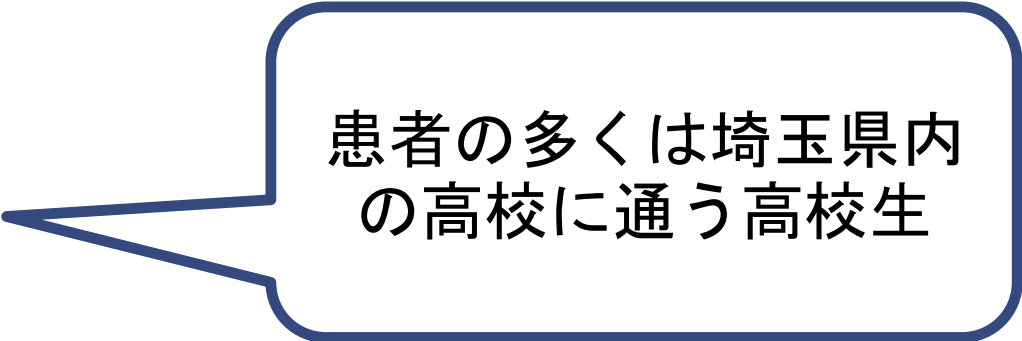
病原体	標的遺伝子
腸管病原性大腸菌	<i>eae</i>
他の下痢原性大腸菌	<i>astA</i>

追加で実施
→ *astA*を検出

*astA*の検出とOg-typing実施の背景

2019年 *astA* 保有大腸菌0166:H15による食中毒

- 発生年月日
令和元年8月19日
- 発生場所
新潟県妙高市
- 患者
患者数 181人
- 主な症状
腹痛、下痢
- 原因食品
不明（8月19日提供された食事）
- 病因物質
下痢原性大腸菌0166



患者の多くは埼玉県内の
高校に通う高校生

海藻サラダ汚染源の調査

原材料

キャベツ

コーン

ニンジン

わかめ

海藻ミックス

加熱調理実施

前日水戻し、加熱なし

原材料由来の汚染が食中毒を引き起こした可能性が考えられた

わかめ：大腸菌陰性（当所で実施）

海藻ミックス：赤杉のりから *astA* 保有大腸菌 O_{g7}:H₄ 検出

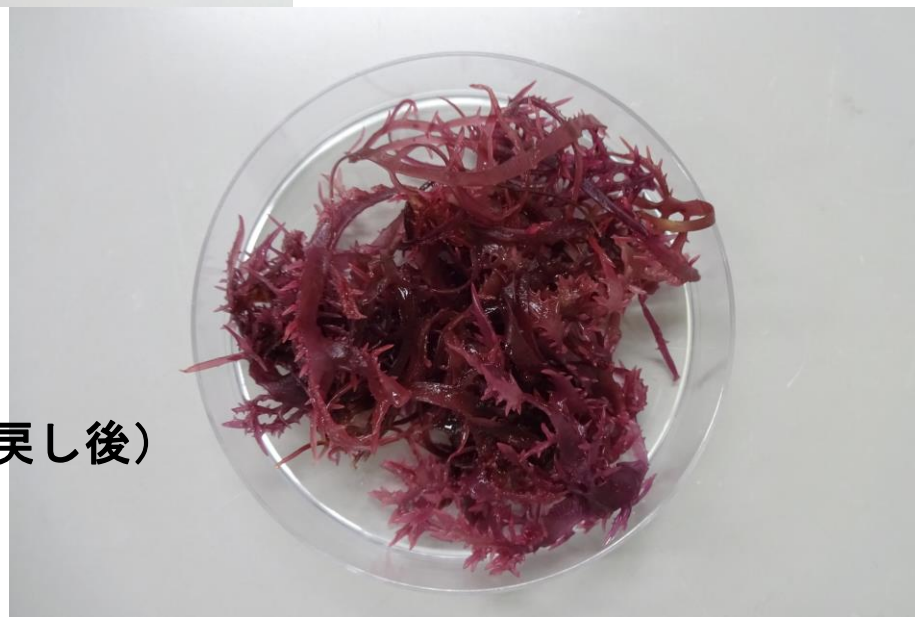
（大分県衛生環境研究センター実施）

患者由来株、海藻サラダ由来株、赤杉のり由来株の PFGE のパターンは一致

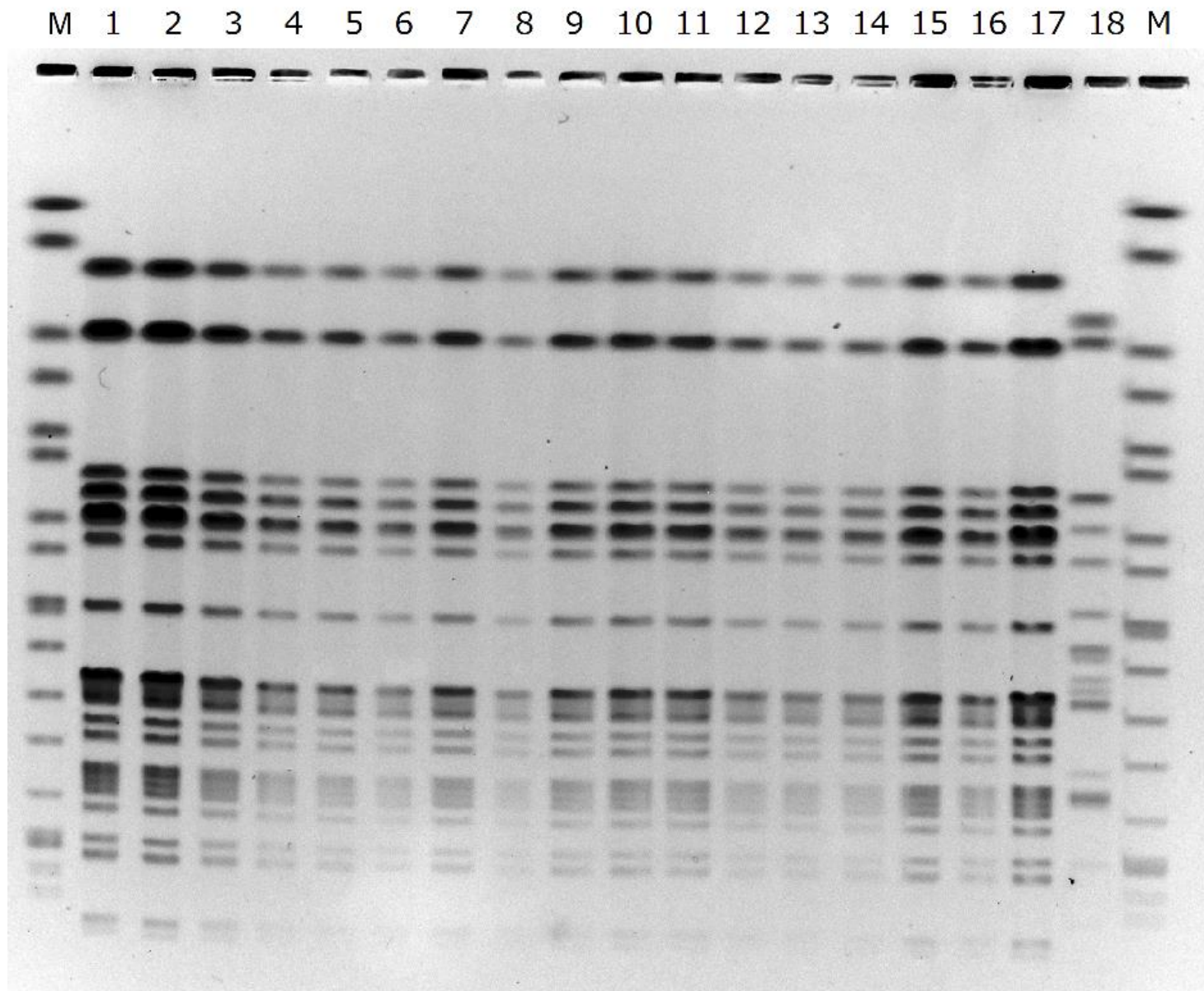
感染症研究所で実施した SNP 解析では、最大で 1 か所の SNP



赤杉のり（乾燥）



赤杉のり（水戻し後）



M : Size marker、1~14 : 患者便由来株、15、16 : 海藻サラダ由来株
17 : 赤杉のり由来株、18 : *astA* 非保有大腸菌07:H15

最後に

本事例は、原因食品及び原材料からも病因物質を検出できた貴重な事例であった。

また、過去の事例の経験により迅速な原因究明につなげることができた。近年は人事異動も多く、検査技術の向上だけでなく、経験を伝えていくことも重要なことだと考える。

さらに、食品流通の広域化で、原因究明には地研間の連携も重要である。

本事例の原因究明にあたりご協力いただきました、国立感染症研究所、大分県衛生環境研究センターの皆様へ深く感謝申し上げます。