

アサマNEWS レポート

1991-7 No. 23

食 品 衛 生 三 三 講 座

23 腸管出血性大腸菌（EHEC）とその食中毒 —浦和市の幼稚園で集団下痢を引き起こした犯人—

去る平成2年10月29日、埼玉県浦和市にある私立S幼稚園で、園児ら55人が下痢症や粘血便、発熱などの症状を訴えた。このうち2人の園児が死亡する事件が発生した。この集団下痢の犯人は、腸管出血性大腸菌（EHEC）O157:H7であることが判明したが、死亡原因は溶血性尿毒症性症候群（HUS）に伴う腎不全によるもので、患者は尿毒症などの合併症を起こしたといわれている。

埼玉県衛生部の調査により、この集団下痢の発生原因は、幼稚園内の浅井戸（深さ6～7m）の井戸水によることが分かったが、この井戸から4～5mの場所にトイレの浄化槽、雑排水の汚水タンクがあり、これに生じた亀裂から流出した汚水が井戸水を汚染したための事故とのことである。

なお、本年に入り大阪市の私立保育園T学園で同様な集団下痢が発生し、50人以上の園児から浦和のケースと同じ腸管出血性大腸菌O157:H7が検出されたが、この場合は感染ルートは明らかにされていない。

病原大腸菌については、本講座でも2年前に取り上げたことがある（アサマニュースNo.11、1989年7月号）。その中でもEHECについて解説したが、最近、米国やカナダでハンバーガーなど食肉やその加工品によりかなりの規模のEHEC食中毒が発生していて、世界的にも大きな関心事となっているので、今回はEHECの問題を再び取り上げ、その食中毒について考えてみることにした。

わが国における病原大腸菌食中毒発生状況

—— 大規模食中毒の原因菌として第3位に ランクされている ——

わが国の食中毒統計で、最近5か年間（昭和60～平成元年）の細菌性食中毒（件数合計3,353件、患者数合計150,549名）の中で病原大腸菌による事例は合計123件（全体の3.7%に相当）と、それほど多くはない。しかし、患者数は14,148名で全体の9.4%を占めている。ことに1事件当たり患者数500名以上の大規模食中毒について見ると、発生件数ではカンピロバクター、サルモネラに次いで第3位、患者数でもサルモネラ、カンピロバクターに次いで第3位を占めている。

病原大腸菌の分類および特徴は表1に示したように、狭義の病原大腸菌*¹、——→ 腸管侵襲性大腸菌*²、腸管毒素原性大腸菌*³、——→ および腸管出血性大腸菌*⁴ ——→ の4種類に分けられている。

表1 病原大腸菌の分類

	狭義の病原大腸菌 (EPEC)	腸管侵襲性大腸菌 (EIEC)	腸管毒素原性大腸菌 (ETEC)	腸管出血性大腸菌 (EHEC)
主要臨床 症状	下痢、腹痛	発熱、腹痛、粘血便 しづり腹	下痢、嘔吐、腹痛	血便（下痢）、腹痛
感染様式	飲食物媒介（接触）	飲食物媒介（接触）	飲食物媒介（接触）	飲食物媒介
病原（発 病）機序	不詳	組織侵入増殖	エンテロトキシン （易熱性、耐熱性）	細胞毒？
関連O血 清型	26, 44, 55, 56, 111, 114, 119, 125, 126, 127, 128, 142, 146など	28ac, 112ac, 124, 136, 143, 144, 152, 162など	6, 8, 11, 25, 27, 78, 148, 159など	O157:H7 O145:NM O111:NMなど
診 断 法	血清型別	血清型別 侵入性試験	エンテロトキシンの検出	血清型別 細胞毒の検出

注：*1：Enteropathogenic *E. coli* EPEC

*2：Enteroinvasive *E. coli* EIEC

*3：Enterotoxigenic *E. coli* ETEC

*4：Enterohemorrhagic *E. coli* EHEC

今までわが国で病原大腸菌食中毒として報告されているのは、主として狭義の病原大腸菌（EPEC）によるものであったが、昭和57年10月札幌市内に新設された大型スーパーで発生した患者数7,751名と、一般食中毒としては未曾有の大食中毒事件では、カンピロバクター・ジェジュニ（*Campylobacter jejuni*）と腸管毒素原性大腸菌（ETEC、O6:K15）が同時に検出された。この事件は井戸水によって媒介されたものであるが、使用した井戸水の消毒装置の故障という衛生管理のミスが原因となったものである。ETECは東南アジアなど熱帯・亜熱帯地方の旅行者で見られるいわゆる“旅行者下痢、traveller's diarrhea”の原因となることが知られていて、都立衛生研究所が1978年以来海外旅行者について行っている下痢患者からの病原菌（腸管系の輸入感染症）の調査データ（表2）によると、コレラ菌や赤痢菌をはじめ、各種食中毒細菌が毎年日本国内に持ち込まれている様子がうかがえる。国内で食中毒発生頻度の高い腸炎ビブリオ、サルモネラ、カンピロバクターに加えて、ETECによる感染症—— 旅行者下痢 —— が特に頻度が高く、全検出病原菌の46.7%と半数近くを占めている。このほかEPECおよびEIECの輸入例もかなり多い点に注意する必要がある。

のである。わが国では都立衛生研究所の伊藤らによって東京都内の食肉について調査が行われたが、今までに市販肉からEHECは検出されていない。米国やカナダの調査結果から、牛などの家禽の保菌している可能性に着目した西ドイツのM. Biiltoら（1988）は、健康な家畜牛の糞便107検体から分離した178株の大腸菌（*E. coli*）について調べたところ、EHECが16株（9%）も検出されたと報告している。この事実は、EHECを保菌する健康な牛や家畜が感染源として重要なことを示すものである。しかし、EHECの自然界の分布、その生態については不明な点が多い。また日本では井戸水が媒介した事例がいくつかあるが、これらの汚染ルートについても今後さらに解明する必要がある。

食中毒の予防対策

細菌性食中毒の予防には次の3つの原則がある。すなわち、(1)清潔の原則（食物の汚染の防止）、(2)温度の原則（加熱による殺菌、および低温による増殖の抑制）、および(3)迅速の原則（菌の増殖しないうちに食べる）。腸管出血性大腸菌（EHEC）食中毒の予防についても上記原則がそのまま適用される。これに若干補足して説明するなら、まず、EHECは芽胞を作らないので熱に弱いことが挙げられる。70℃で数分間以上の加熱調理をすれば菌は死滅する。米国やカナダでハンバーガーから感染したのは、十分に火の通っていないためと見られている。米国のCDC（疾病予防センター）では、ハンバーガーは中心部までピンク色のなくなるまでよく焼くこと、そして牛肉を扱った手指はよく洗って消毒するように注意を促している。

これまでの米国、カナダにおける研究では、EHECによる病気は潜伏期が1日～14日間と他の食中毒に比べて幅が広い。このため感染に気づくのが遅くなって、家族内で感染した例がある。浦和の事例でも、幼稚園児の家族の幼児3人が二次感染したといわれている。

ワンポイント・レッスン

やめたいもの—牛のたたきと豚のレバー刺し

すでに述べた米国やカナダの市販食肉調査結果では、食肉や食鳥肉などはかなり広くEHECによって汚染されているものと予想される。この菌は熱に弱いので十分な加熱調理をすれば容易に死滅する。牛肉などの細菌汚染は多くの場合表面に限られ、深部には少ない。従って、表面をよく火を通したローストビーフや、ピフテキでもたとえレアであってもまず大丈夫。しかし、ひき肉は内部まで汚染されているのでハンバーガーなどでは中まで十分に火を通さないと危険なことは、米国やカナダでの中毒事例が証明している。

問題なのは日本の「牛のたたき」や「豚のレバー刺し身」などである。現実には、食中毒事件録を調べると、今までにこれらによってサルモネラ食中毒などが発生している。わが国では古くから魚介類の生食（刺し身や寿司）の習慣があり、ことに夏季魚介類の生食による腸炎ビブリオ食中毒は全食中毒事件数の3分の1以上を占めている。「牛のたたき」、「豚のレバー刺し身」などは畜肉消費の歴史の古いヨーロッパや中国などでも全く考えられない食べ方であって、わが国では近年いわゆるグルメ・ブームとともに始まった悪い習

慣なのである。

牛の生肉には、無鉤条虫（サナダ虫）のような寄生虫もいる。さらに新顔のEHECも加わってきたので一層厄介になってきた。このようなゲテものを食べる者がいるからといって、いったん食中毒事故でも発生すれば、提供者、つまり調理人側の責任は決して回避されないことをよく知ってほしい。

（河端俊治：国立予防衛生研究所食品衛生部客員研究員
・農学博士）

食品の微生物講座

食品と微生物—最近の海外における研究から（その15）

今回は前出（アサマニュースNo. 21）のリストeria菌に話題を提供するが、以下に紹介する内容はリストeria菌に限らず、その他の細菌、例えば大腸菌、サルモネラ、腸炎ビブリオなどわれわれに馴染みの深い有害菌にも当てはまる問題なのである。この話題の要になるのは微生物の温度履歴が以後の加熱調理時にその微生物の死滅に如何なる影響を及ぼすかということで、食品加工に伴う微生物の問題に深くかかわることである。

ここに引用した研究¹⁾ではリストeria菌を37℃よりも低温の培養温度から37℃の培養温度へと昇温シフト培養した場合のような温度変化が、同菌の死滅、逆に見ればその耐熱性にどのような影響を与えるのか、また種々の低温で培養したときの培養温度がその後の高熱処理による同菌の死滅あるいは損傷にどんな影響を与えるか、などを検討している。

リストeria菌（*Listeria monocytogenes*）の損傷と死滅に及ぼす温度変化の影響

28℃で前培養したリストeria菌を脳心臓浸出液肉汁培地（BHI培地）にブドウ糖を加えたBHIG培地に接種し、10～42℃の範囲の各種の温度で培養し、それぞれの培養培地を遠沈法で集菌、洗浄して得た菌塊を水に再懸濁した菌液をTPBAP、TPBAS、〔TPBAP：トリプトースリン酸ブイオン寒天培地＋1%ピルビン酸ナトリウム（非損傷菌及び損傷修復菌計測用）、TPBAS：トリプトースリン酸ブイオン寒天培地＋5%塩化ナトリウム（非損傷菌のみの計測用）〕の各培地に接種し、塗抹法により菌数を測定した。昇温培養は遠沈法による集菌の前に所定時間行った（昇温培養条件、抗生物質添加試験の方法などは表1、図1を参照）。死滅菌数、損傷菌数は次式により求めた。

$$\begin{aligned} \text{死菌数} &= (\text{TPBAPt}=0\text{時間生菌数}) \\ &\quad - (\text{TPBAPt}=1\text{時間生菌数}) \\ \text{損傷菌数} &= (\text{TPBASt}=0\text{時間生菌数}) \\ &\quad - (\text{TPBASt}=1\text{時間生菌数}) - \text{死菌数} \end{aligned}$$

表1 *Listeria monocytogenes*の52℃熱処理による死滅と損傷に及ぼす当初の培養温度とその後の昇温培養条件の影響¹⁾ (抜粋)

培養温度 (℃)	昇温培養 の条件	試験 数	52℃、1時間後の菌数 (対数) /ml	
			死滅菌	損傷菌
37	なし	29	0.39 (0.27) [※]	2.31 (0.59)
28	なし	8	2.81 (0.31)	2.98 (0.53)
	37℃に昇温、 5時間培養	8	2.22 (0.48)	3.01 (0.72)
19	なし	22	3.64 (0.63)	2.22 (0.77)
	37℃に昇温、 1時間培養	8	2.39 (0.45)	2.09 (0.68)
	37℃に昇温、 2.5時間培養	12	1.74 (0.55)	2.56 (0.64)
	37℃に昇温、 5時間培養	10	1.57 (0.44)	2.47 (0.57)
	なし	8	4.27 (0.58)	1.50 (0.45)
10	37℃に昇温、 5時間培養	10	1.95 (0.42)	2.28 (0.66)

* 1 () 内数値は標準偏差

表1によれば菌の培養温度が37℃の場合よりも10℃の場合の方が後の52℃、1時間の加熱処理における死滅菌数が著しく多い(前者は被験菌液1ml当たり $10^{0.39}$ ≒約2.5、後者は $10^{4.27}$ ≒約18,630)。このように培養温度が高ければ低い場合よりも耐熱性が強く、前記と同じ条件で加熱処理をしたときの死菌数はかなり少ないということが特徴的である。一方、損傷菌数は培養温度が低くても、培養温度が高い場合に比べてわずかに低減するに過ぎない。

次に、10～28℃培養のものを37℃に昇温培養した後、同様に加熱処理をした場合を見てみよう。表1の昇温培養の条件に従って死菌、損傷菌の変化状況を比べると、10～28℃のいずれの培養温度も37℃で短時間昇温培養すれば死菌数が減少(耐熱性は増大)する傾向を示しているが、この傾向は28℃を除く10、19℃培養菌に顕著に見られる。また19℃培養菌の37℃昇温培養では培養時間の影響を検討しているが、昇温培養時間が1、2.5、および5時間では死滅菌数は昇温培養をしないときに比べてそれぞれ1/18、1/79、1/117に著しく減少している。すなわち、昇温培養時間が長いほど耐熱性が増大して生残菌数は逆に増加する傾向を示すのである。しかしこの場合も損傷菌数にはほとんど目につく変化は見られない。これらのことから、当初の培養時の温度の差異、昇温培養の有無およびその時間の差異などによって死滅菌数の減少度合いにかなりの相違があることが明らかとなったのである。

そこで次に昇温培養による菌の死滅に対する防御作用に耐熱性のたん白質の合成が関与するかどうかを明

A : 19℃培養
B : 19℃培養後37℃、5時間昇温培養
C : Bの培養条件 + 100 μ g/mlクロラムフェニコール
D : Bの培養条件 + 50 μ g/mlクロラムフェニコール
E : Bの培養条件 + 100 μ g/mlアンピシリン
F : Bの培養条件 + 50 μ g/mlアンピシリン

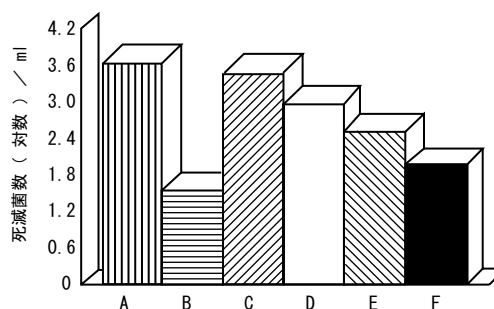


図1 19℃培養のリステリア菌の37℃、5時間昇温培養前に添加した抗生物質が、その後の52℃加熱処理により誘導される熱死滅に及ぼす影響¹⁾

らかにするため、このたん白質の合成源である菌の増殖を阻止することを考え、2種の抗生物質を添加して前記同様の加熱処理を行った。その結果は図1に示してある。図から明らかなように抗生物質の添加は昇温培養による耐熱性の獲得を阻害した。すなわち19℃培養のリステリア菌は37℃の昇温培養で獲得した耐熱性をクロラムフェニコールまたはアンピシリンの添加によって阻害されていることはBとC～Fとを比較すれば明白である。このことから原著者は菌体内に産生する耐熱性のヒートショックたん白質と思われるたん白質の合成は昇温培養によって獲得される耐熱性の増大に関係があること、また菌に対する各種のストレスに対する保護作用は、ヒートショックたん白質の存在によると思われることを提案している。そして本報に示されたデータは食品の微生物学的安全性に対して意義があるとし、その取りまとめとしてリステリア菌など細菌の耐熱性の増大に寄与する物質は37℃またはそれ以上の高温で合成されることが示唆されること、リステリア菌の熱による死滅の程度はその培養時あるいは保存時の温度履歴に関係があること、従ってリステリア菌で汚染された食品が低温に保持されていれば最小限の加熱処理でも有効であること、しかしそのような低温保持食品が加熱調理前にたとえ短時間でも高温にさらされると耐熱性を獲得して最小限の加熱処理では無効となる可能性が高くなることなどを挙げている。

文 献

- 1) J. L. Smithほか: J. of Food Safety 11、73～80 (1991)
(笹島正秋: 元水産庁東海区水産研究所保蔵部長)

アサマ化成株式会社

E-mail : asm@asama-chemical.co.jp
http://www.asama-chemical.co.jp

・本社	〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町20-3	TEL (03) 3661-6282 FAX (03) 3661-6285
・大阪営業所	〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-6-13 御幸ビル	TEL (06) 6305-2854 FAX (06) 6305-2889
・東京アサマ化成	〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町16-5	TEL (03) 3666-5841 FAX (03) 3667-6854
・中部アサマ化成	〒453-0063 名古屋市中村区東宿町2-28-1	TEL (052) 413-4020 FAX (052) 419-2830
・九州アサマ化成	〒811-1311 福岡市南区横手2-32-11	TEL (092) 582-5295 FAX (092) 582-5304
・桜陽化成	〒006-1815 札幌市手稲区前田五条9-8-18	TEL (011) 683-5052 FAX (011) 694-3061