

平成24年度 感染症リスクマネジメント作戦講座

疫学ケーススタディ1

～ 米国EHEC O157広域アウトブレイク事例 ～

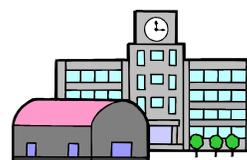
平成24年5月24日
09:00-10:30



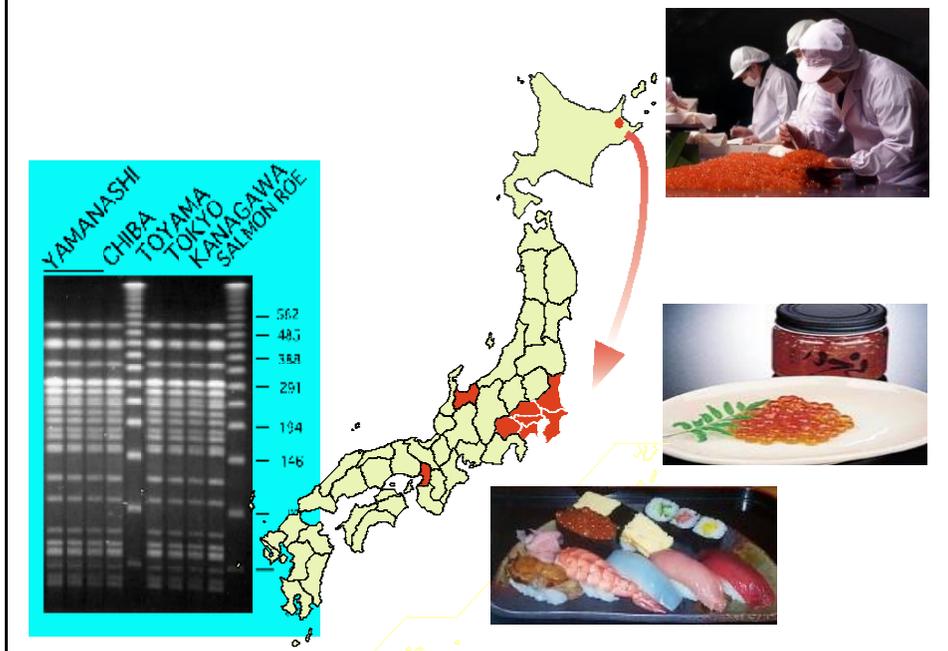
防衛医学研究センター 感染症疫学対策研究官
教授 加來浩器 (KAKU KOKI)

1996年大阪府堺市での大規模EHEC集団発生事例

- EHEC O157;H7
- 6,000名以上の子供が感染
- 3名の子供がHUSで死亡
- 学校給食(カイワレ大根)が原因



いくら醤油漬けによるEHEC広域アウトブレイク(1998年)



肉類、果物、野菜、海産物によるEHEC事例



日本国内では、毎年どれくらいのEHECが報告されているのでしょうか？

西暦	コレラ	細菌性赤痢	EHEC	腸チフス	パラチフス
1999	39	620	3,117	72	30
2000	58	843	3,648	86	20
2001	50	844	4,435	65	22
2002	51	699	3,183	62	35
2003	24	473	2,999	63	44
2004	86	604	3,764	71	91
2005	56	553	3,589	50	20
2006	45	490	3,922	72	26
2007	13	452	4,617	47	22
2008	45	320	4,321	57	27

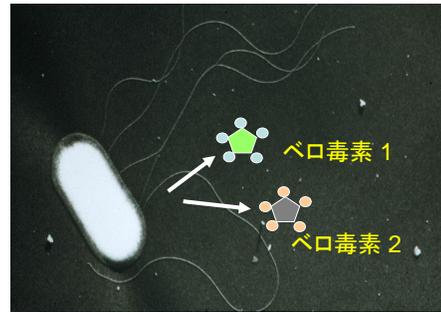
はじめに

- 腸管出血性大腸菌（以下、EHEC）O157:H7は、1982年米国でハンバーガーを原因とした血性下痢症の食中毒によって、初めてヒトに病原性を有することが確認された病原体である。それ以降、北米、西ヨーロッパ、オーストラリア、アジア、アフリカなど多くの地域で、散発例や集団発生事例が報告されている。
- EHECは、牛の腸管に定着している菌であり、感染の原因食品は牛肉、ハンバーガー、牛乳など牛に関連したものであるが、最近では多種の動物が感染を媒介することが知られている。
- EHECは、強酸下でも生存可能で、ごく少量でも感染が成立すると言われている。

- EHECは、強酸下でも生存可能で、ごく少量でも感染が成立すると言われている。
- 腸粘膜に付着すると、志賀毒素(ベロ毒素)を産生し、赤痢菌と同様の症状を呈する。



(<http://idsc.nih.gov.jp/index-j.html>)



- 感染様式は、汚染された食材の経口摂取の他に、ヒト-ヒト感染、ヒト-物-ヒト感染の接触感染である。潜伏期は2~8日(中央値3日)である。
- 初期症状は腹痛、下痢であるが、次第に膿や粘液を伴わない血便を排泄するようになる。
- 2~7%が、数日から2週間以内に溶血性尿毒症症候群Hemolytic uremic synd (HUS)を発症し、致死的となることがある



鮮血の血便

第一部 事例の始まり

- 1997年6月、ミシガン公衆健康局 (MDCH) は、EHECO157の報告例が前年の6月が18例であるのに対して、52例と増加していることに気がついた。



- 予備調査の結果では、患者間に疫学的な関連性は見当たらなかったが、7月になっても患者数は増加しつづけた。

問: MDCHへの報告数増加にどのような可能性があるか、グループで考察して下さい。

- 共通の感染源によるアウトブレイクの場合、菌が同一の親株に由来するため、微生物学的、遺伝子学的性状が同じサブタイプに属するという結果が得られる。近年このことを利用して、感染源を追及するための疫学調査が実施可能となった。
- パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) は、病原微生物の DNA を制限酵素で切断し、パルス状の電流を流すことによって、いわゆる“DNA 指紋”を得るという方法である。

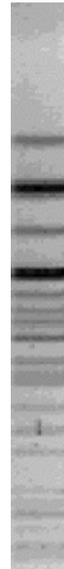
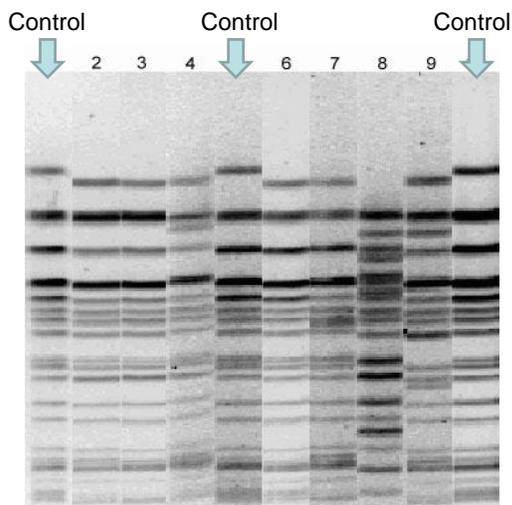


図1 PFGEによるDNAパターン

図 ミシガン州での検出菌のPFGEパターン、1997年6～7月



レーン 1, 5, 10 はコントロールの大腸菌である。
 1バンドの違いだけのものは同一パターンと定義される。
 レーン 2, 3, 4, 6, 7 は同一パターン (レーン 4は1本だけバンドが多い)

- 7月の第2週にMDCHの州立研究所で行われたDNA指紋法の結果、6月、7月に検出されたEHEC O157 19株中、17株が同一のパターンを示し、5月以前に検出されたものとは一致しなかった。
- MDCHは今回のEHEC O157感染は、共通の感染源の可能性が高いとの判断を下し、7月15日に更なる調査を開始するとともに、CDCへ協力を依頼した。



第二部 記述疫学と仮説作成

- EHEC O157感染症の潜伏期は、2～8日（中央値：3～4日）である。感染によりしばしば血性下痢と腹痛を生ずるが、時に血便を伴わない下痢や無症状に終わることもある。
- また一部の患者、特に5才以下の小児と高齢者において、溶血性尿毒症症候群という赤血球が破壊され腎不全に至る合併症が、感染者の2～7%に認められることが知られている。
- ミシガンでの集団発生事例の調査においては、以下の所見を示すものを「集団発生事例の症例」と定義した

症例定義

- 時 : 6月15日～7月15日の期間に、
- 場所: ミシガンに居住するもので、
- ヒト : 下痢(1日に複数回の無形便)、または腹痛で発症し、便からの菌検索でPFGEパターンが今回の集団発生事例の株と一致する者

問: 上記の症例定義の特徴(長所、短所)についてグループで考察してください。

- 上記の症例定義に合致したのは38例で、うち26例(68%)が女性、年齢の中央値は31才であった(表1)。

年齢	性別		総計
	男性	女性	
0-9	2 (17%)	2 (8%)	4 (11%)
10-19	2 (17%)	3 (12%)	5 (13%)
20-39	3 (25%)	9 (35%)	12 (32%)
40-59	2 (17%)	8 (31%)	10 (26%)
60+	3 (25%)	4 (15%)	7 (18%)
総計	12 (100%)	26 (100%)	38 (100%)

問: ミシガンの集団発生事例症例の年齢、性別分布を1997年の米国フードネット・ウェブサイトのデータと比較して下さい

表1 1997年6月15日から7月15日の間、ミシガンのO157:H7の集団発生事例症例の年齢、性別分布(総数 = 38)

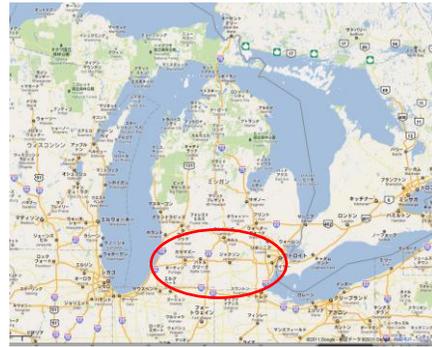
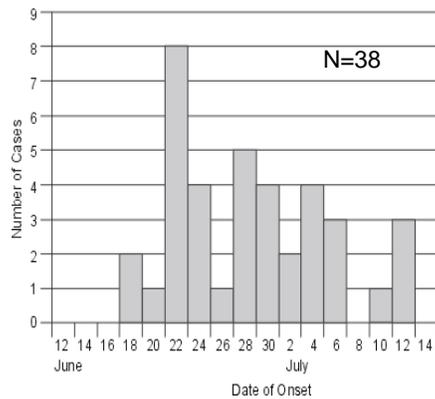
年齢	性別		合計
	男性	女性	
0-9	2 (17%)	2 (8%)	4 (11%)
10-19	2 (17%)	3 (12%)	5 (13%)
20-39	3 (25%)	9 (35%)	12 (32%)
40-59	2 (17%)	8 (31%)	10 (26%)
60+	3 (25%)	4 (15%)	7 (18%)
総計	12 (100%)	26 (100%)	38 (100%)

表1-2 1997年、フードネット*に報告された米国での大腸菌O 157:H7 症例の年齢別・性別分布 (総数340例)

年齢群	性別		合計
	男性	女性	
0-<1	5 (3%)	5 (3%)	10 (3%)
1-9	77 (48%)	77 (43%)	154 (45%)
10-19	36 (22%)	18 (10%)	54 (16%)
20-29	10 (6%)	20 (11%)	30 (9%)
30-39	6 (4%)	12 (7%)	18 (5%)
40-49	7 (4%)	5 (3%)	12 (4%)
50-59	7 (4%)	17 (10%)	24 (7%)
60+	14 (9%)	24 (13%)	38 (11%)
合計	162 (100%)	178 (100%)	340 (100%)

- ・ 症例定義に合致した38例は、ミシガンの半島南部から報告されており、発症日は6月中旬から7月中旬にかけてみられ、6月22日がピークである。(図3)

ミシガン州におけるEHEC事例
6月12日～7月14日



ミシガン半島

- ・ 仮説を作成するために、7例の症例に対して聞き取り調査を7月16日から4日行った。
- ・ 7名は4つの異なる郡に住んでおり、年齢は5才から69才で3例が女性だった。

問： O157:H7感染の伝播様式を念頭において、仮説作成のための聞き取りではどのような項目が必要となるか？

- 7名に特定のレストランの利用や催し物への参加などの共通性は無かったが、殆どの症例が発症の前の週に**レタス、アルファルファ**を食べていることが判明した。



アルファルファの芽

アルファルファは食用のために、アルファルファ種子を土を使わず湿度、温度を管理して**発芽させた農作物**である。他の多くの種子からの芽と同様、アルファルファは**火を通さず調理**され、発芽後数日以内に消費される。アルファルファは他の芽より繊細で、しばしば食味が水気や歯ごたえに優れるため、サラダに用いられたり装飾として用いられりする。



問： 記述疫学の結果をまとめて下さい。

時

場所

ヒト

問： 記述疫学、仮説作成のための聞き取り、EHECO157に関する知見を基に、この集団発生事例の感染源と伝播様式に関する仮説を立ててください

第三部 仮説検証のための疫学解析方法

- 感染源についての仮説を検証するため、MDCHとCDCは7月21日から23日まで症例対照研究を行った。38例の内、聞き取りを行い得た31例を症例とし、対照群として年齢及び性別を一致させた「対照」を1症例あたり2名選ぶことにした。

症例対照研究における「対照」の選び方

- 対照は症例と同じ母集団に属する人で、病気でないことを確認する必要がある。さらに、症例と疾患発症の可能性が同じ、危険因子への曝露の可能性が同じことが必要である。
- したがって、アウトブレイク期間中に症例と同じ地域に居住し、EHECO157感染症状を示さなかった人を選択することになる。
- 対照を選択する際には、対照との具体的な接触方法、対照になってもらうための同意、病気でないことの確認、危険因子などの情報入手等が容易であるかどうかが重要である。
- 一般に、以下の方法が「対照の選択法」として用いられている。

近隣対照群(症例の近所の人を対照にする。)

長所

- 症例と対照間で曝露の状況が類似する。
- 地域への脅威に対する関心から参加率が高い。

短所

- 頻度の低い年齢または人口密度が低い地域では、症例に年齢、性が合致する対照を見つけにくい。
- 生活習慣などが共通しすぎて過度な組み合わせになりうる。
- 昼間いない人が多いので、夜に調査しないといけない。
- 多地域での集団発生事例の場合、全地域で対照を選択する労力が大きい。

友人対照群(性、年齢が一致する知人を対照にする。)

長所

- 対照を見つけやすい。
- 地域への脅威に対する関心から参加率が高い。
- 症例と対照間で曝露の状況が類似する。

短所

- 生活習慣などが共通しすぎて過度な組み合わせになりうる。
- 症例の秘密保持のため労力を要する。

病院対照群(症例と同じ病院の異なる病気の患者を選ぶ。)

長所

- 近隣、友人対照群に比べバイアスが小さい。

短所

- 病人であるため対象として地域の代表的な特性とは異なっている。
- 頻度の低い年齢または人口密度が低い地域では、症例に年齢、性が合致する対照を見つけにくい。
- 病院職員に時間的負担がかかる。
- 多地域での集団発生事例の場合、全地域で対照を選択する労力が大きい。

無作為電話番号抽出法

長所

- 症例とは無関係に選別できる。
- 病院対照群、近隣対照群、友人対照群に比べ無作為にその地域の特徴を持つ人が選べる。

短所

- 電話が繋がらない。店に繋がったりしてかける回数が多くなる。
- 対照として適切な年齢、性の人を探すのに手間がかかる。
- 参加してくれる率が低い。

対照からの情報収集

- 危険因子への曝露期間として、2～8日という潜伏期間を考慮し、症例に対しては発症1週間前までの曝露の情報を収集した。(厳密には8日だが1週間の方が応えやすい。)
- 対照については、対応する症例と同じ時期の情報を得る方が良いが、発症から時間が経っている場合、対照は何も無かったことにより忘れていくことが多いので、症例と同じ精度の情報を得るのは難しいことがある。そのような場合に、対照からは聞き取りの前、1週間の情報を得るのも一つの手段である。

- 調査班は、対照に対しては電話による調査を行った。
- 症例に対する曝露の情報は発症以前の7日間について収集した。コントロールについてもマッチされた症例の発症日の前7日間について情報をあつめた。
- 27組の症例と対照の組み合わせに対し聞き取りをおこなった。それ以外の症例は、情報が入手できなかった。



第四部 疫学的情報の解析と解釈

- 症例対照研究によって、症例27名のうち15名が、発症前7日間にアルファルファを食べていたことが分かった。一方、対照53名のうち4名のみがアルファルファを食べていた。

問： アルファルファについて、 2×2 表を作成しオッズ比を計算せよ

	症例	対照	
アルファルファ(+)			オッズ比＝
アルファルファ(-)			

問： アルファルファと発症との関連が認められた事について、その解釈してください。

問： 発症前の7日間にアルファルファを食べていない12症例をどう説明しますか。

営業用及び家庭用のアルファルファ発芽要領

- 種を水で洗う（多くの生産者が家庭用塩素を使用）
- 種を水に浸し一晩寝かせる（約12時間）
- 水を抜いた後、種子を一旦発芽トレイに移しその後も再給水
- 発芽し目的の長さまで成長するまで、1日に2回水洗いする
- 目的の長さまで成長したら収穫して、水洗いする
- 余分な水分を除く
- 芽を容器につめ、カバーをかけ、冷蔵庫に貯蔵する

第五部 遡り調査

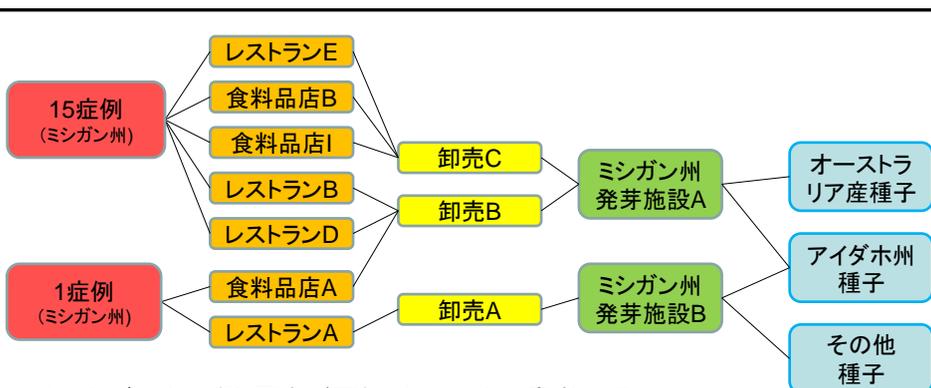
- 遡り調査の目的は、食品の製造と流通の過程を明らかにし、原因食品が汚染されたポイントを確認すること、効果的な回収を実施して同様な事例を防止することである。
- したがって、通常汚染食品の購入の時点から製造の最初の段階まで遡り、すなわち収穫から消費までの全ての製造過程が調査される。



- 完璧な遡り調査は時間がかかり、しばしば記録の紛失や保管不良がみられることがある。また、他の州や国にまで調査を拡大する必要が生じる時もある。
- 米国での遡り調査開始基準は、以下のとおりである
 1. 集団発生事例と疑われる製品との間に確かな疫学的関連があるか？
 2. 生産現場での誤操作や環境汚染は評価されているか？
 3. 集団発生事例の分布と製品の流通先は一致しているか？
 4. 同じ製品が別の場所でも集団発生事例を起こしていないか？
 5. その製品が同一または類似の病原菌に汚染された事例はあったか？
 6. 製品から細菌学的証拠は得られているか？

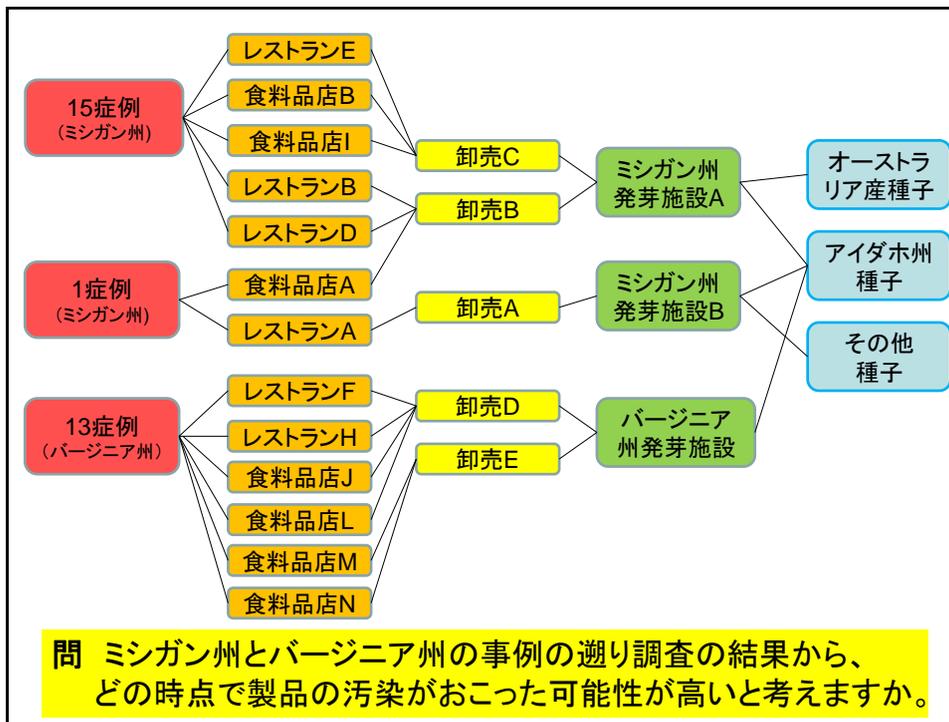
問:あなたは、ミシガンの集団発生事例においても遡り調査は必要であると判断しますか。その理由は何ですか

- MDCHとCDCはミシガンの集団発生事例の原因になったアルファルファの疫学的な遡り調査を行うことに決定した。
- 遡り調査では、最初に家庭またはレストランでアルファルファ製品の情報を収集する。もし、使い残しがあれば回収する。次に商店では、製品について、以下の情報を収集する。
- 正確な製品名、製品のパッケージ方法、コード、ロット番号、賞味期間、生産者名・住所卸し会社名・住所、**流通会社名・住所、出荷日、入荷日、販売日**、特に下の4項目は重要である。



- ✓ ミシガン州で遡り調査が可能だったのは、患者16名
- ✓ 16名ともミシガン州内の発芽施設A又はBで製造されたものを喫食していた。
- ✓ 15名は発芽施設Aのものを、他の1名が発芽施設A及びBのものを喫食
- ✓ 発芽施設Aでは、アイダホ州とオーストラリアからの種子を使用
- ✓ 発芽施設Bでは、アイダホ州とその他の地域からの種子を使用

- バージニア州でもアルファルファに起因するEHEC事例が発生し、PFEGパターンによりミシガン州と同一であることが判明した



- バージニア州の13人についての遡り調査の結果、全てがバージニア州のある発芽施設に到達した。
- その施設ではアイダホ州のロットの種子を使用しており、同一のロットがミシガン州の施設Aでも使用されていた。種子の卸し業者の調査により17,000ポンドのロットのうち6,000ポンドが残っていることが判明した
- 種子はアイダホ州の4つの農家からの5つのロットの混合であり、1984年から1996年の間に収穫されたものであった。



- アイダホ州のアルファルファ農家を訪問し、以下を確認した。
- 農家の畑では牛堆肥は使用されていなかった。しかし周辺には牧場があり、牛堆肥置き場が畑に隣接していた。
 - この牛堆肥がアルファルファ畑に偶然漏れたか、違法に投棄されたか、汚染水が灌漑用水として用いられた可能性があった。
- 農場の一つは、野生動物保護区に隣接していた。
- 4人のアルファルファ農場主のうち3人は、自分の畑に野生の鹿が居るのを目撃していた。

- それぞれの農家から集められた種子は、一つの種子加工場で水洗いされ、袋詰される。ほとんどの種子は、家畜の干草用種子と同じ畑で栽培されている。種子は、食用と干草用に分別されていなかった。
- 以上の結果から、牛堆肥、灌漑用の水、鹿の便の3ポイントでの汚染源としての可能性が示唆された。



第六部 公衆疫学的対応と将来的予防

- 汚染された種子のロットは、発芽施設への出荷が中止となり、市場に残っていた種子は回収となった。種子の一部は培養されたが、菌は検出されなかった。
- アイダホ州の農水省は、農家に汚染されていないロットの種子を用いるよう指示した。またミシガン州保健局とバージニア州保健局は、EHEC O157感染が重症化しやすい人はアルファルファを食べないよう、テレビやラジオをつかって広報した。

- 食品安全局(FDA)は、人間の消費に安全なアルファルファの製造法について検討をはじめた。その結果、発芽前に塩素につけ、発芽中にも低濃度の塩素を使用することになった。
- 放射線照射は、汚染除去には有効であるが、発芽率を低下させること、FDAの認可がおりない等の理由から行われていない。

第七部 仮説以外の機序の追及(アルファルファ非喫食例調査)

- ミシガンからの報告例で、アルファルファの喫食例と非喫食例とで、いくつかの特徴があった。
- 喫食例の年齢の中央値は、38才であったのに対し、非喫食例は12才であった。
- 喫食例の殆どが6月に発症したのに対し、非喫食例は6月30日から7月13日の間に発症していた。

- 非喫食例のうち7例の子供達は、独立記念日前後の週末に、同じ湖で遊泳していたことが判明した。
- EHECO157:H7は湖水中でも数週に渡って生存し続け、少量の菌数でも感染を生じ得ることが知られている。



- 疫学調査員は、子供達が遊泳中に汚染水を飲んだか、売店のトイレや自販機等を介した間接接触か、一人の直接接触などか、湖での何らかの曝露があったのではないかと考えた。
- 6月24日と7月7日に行った湖水の検査では、大腸菌群の増加は認められなかった。
- 以後、継続的な患者発生の監視をつづけたが、全米において同じPFGEパターンのEHEC感染症の発生は見られなくなった。

