症　例

細菌検査室実習で腸管出血性大腸菌（EHEC）による感染を起こした2例の検討

[1] 横浜市立市民病院感染症内科，[2] 自衛隊横須賀病院内科，[3] 横浜市立市民病院細菌検査室，
[4] 横浜市衛生研究所微生物検査研究課

澤木　賢司[1]　佐々木裕明[1)2)]　堀内　弘司[1]　宮田　順之[1]
藤代　夏純[3]　小菅　葉子[3]　北尾　　泉[3]　松本　裕子[4]
吉村　幸浩[1]　立川　夏夫[1]

（平成31年3月20日受付）
（令和元年5月30日受理）

Key words: laboratory-acquired infection, enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC), infection control

序　文

病院の検査室では，感染性を有する物質を含め様々な検体が扱われている．腸管出血性大腸菌（enterohemorrhagic *Escherichia coli*；EHEC）はその1つであり，感染力が非常に強く，100に満たない僅かな菌量でも感染が成立し得る[1]．

当院の細菌検査室は年間で約26,000件の検体を扱い，また10人前後の臨床検査技師の学生実習を受け入れている．その中で，WHOの定める実験室バイオセーフティー指針（Laboratory Biosafety Manual）[2]を遵守していたにもかかわらず学生実習でのEHEC感染事例を経験したため報告する．

症　例

症例1：20歳代，女性．臨床検査技師を目指す学生．

主訴：腹痛，下痢，血便，発熱．

現病歴：2018年X月X日からX+2日まで当院細菌検査室で実習を行い，EHECの菌株を扱った．X+5日に下痢と発熱，X+6日に腹痛と血便を認め，X+7日に当院へ入院した．

既往歴：特記事項なし．

現症：意識清明，体温37.1℃，脈拍数79/分，血圧125/93mmHg，呼吸数16/分，SpO_2 98%（室内気），腹部は平坦かつ軟だが全体に圧痛・反跳痛あり．

入院時検査所見：血液検査で白血球数，CRPが上昇．腎障害や尿潜血なし．便検査でEHEC O157迅速検査が陽性．

入院後経過：入院時点で下痢および発熱は改善傾向であり，経過観察で症状は改善し，第5病日に軽快退院した．

症例2：20歳代，男性．臨床検査技師を目指す学生．

主訴：腹痛，血便，発熱．

現病歴：2018年X月X日からX+2日まで症例1の学生とともに細菌検査室の実習でEHECの菌株を扱った．X+4日に腹痛，X+6日に血便と発熱を認め，X+7日に当院へ入院した．

既往歴：特記事項なし．

現症：意識清明，体温37.4℃，脈拍数76/分，血圧141/98mmHg，呼吸数12/分，SpO_2 98%（室内気），腹部は平坦かつ軟だが全体に圧痛・反跳痛あり．

入院時検査所見：血液検査でCRPが軽度上昇．腎障害や尿潜血なし．便検査でEHEC O157迅速検査が陽性．

入院後経過：入院後3日間は下痢と発熱が遷延したが，支持療法のみで症状は改善に転じ，第8病日に軽快退院した．

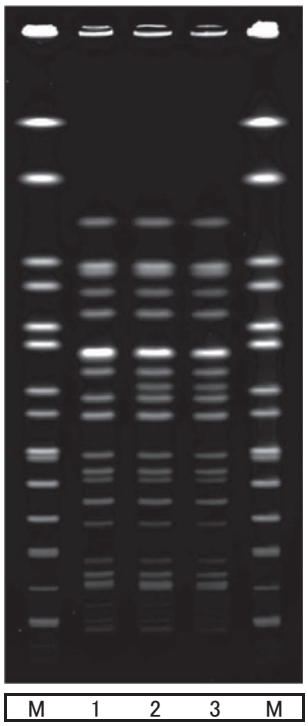
考　察

実習で使用したEHECの菌株（実習株）は血清型O157：H7，ベロ毒素1・2産生株で，2症例の便からは同一血清型，毒素型のEHECが検出された．制限酵素*Xba*Iを用いたパルスフィールド・ゲル電気泳動法による解析では，症例2と実習株はバンドが一致し，症例1は1バンドの欠損を認めた（Fig. 1）．パルスフィールド・ゲル電気泳動法は菌株の相同性の確認に有用で，分離株の型が同一または2〜3本以内のDNA断片の違いであれば同一の集団事例株と考えて良いと

別刷請求先：（〒240-8555）神奈川県横浜市保土ケ谷区岡沢町56
横浜市立市民病院感染症内科　　立川　夏夫

令和元年9月20日

Fig. 1 Detection of the enterohemorrhagic *Escherichia coli* gene with pulsed-field gel electrophoresis



Lane	Sspecimen
1	Case 1
2	Case 2
3	Strain used in the training
M	*Salmonella* Braenderup H9812

Table 1 Procedure

Date	Operator	Workplace	Process
day 1			
①	Students	Biosafety cabinet	Pick EHEC colonies from an agar plate and place in culture tubes.
day 2			
①	Lab technician	Biosafety cabinet	Make up liquid bacterial culture from the culture tubes.
②	Lab technician	Autoclave	Sterilize the liquid bacterial culture in an autoclave.
③	Students	Laboratory table	Check the EHEC serotype.
day 3			
①	Students	Biosafety cabinet	Make up liquid bacterial culture from five EHEC colonies of the culture tubes.
②	Students	Biosafety cabinet	Dissolve the liquid bacterial culture for 30 minutes by adding polymyxin B.
③	Students	Laboratory table	Check the dissolved liquid bacterial culture with a Verotoxin rapid test.

され[3]，2症例とも実習株からの感染と判断した．なおX+7，X+8日に行った検査室の環境培養検査では，EHECは検出されなかった．

実習中，学生は全ての作業を当院細菌検査室の検査技師の監督下で行った（Table 1）．作業中は病院貸与の白衣を着用して前ボタンを閉じ，サージカルマスクと手袋も着用した．但し，筆記用具など個人の学習道具を検査室へ持ち込んでいた．また2名の学生は同じ学校に所属していたが実習以外で接触する機会はなく，感染源と想定し得る食事摂取歴もなかった．

検査室でのEHEC感染は過去に国外でも生じており，1999年から2004年にアメリカで発生した4例のEHEC O157：H7感染[4]のほか，スイス[5]，スコットランド[6]，イギリス[7]などから報告がある．EHECに限らずこうした検査室での感染事例では，約80%は人為的なミスが原因と報告されている[8]．2015年にアメリカで行われた調査では，EHECなどを扱う際に求められる安全基準であるBiosafety Level（BSL）レベル2に該当する施設のうち，適切な生物学的安全キャビネットの使用や手洗い場の設置を行っていた施設は75%に満たなかった[9]．またナイジェリアの退役軍人施設における調査でも，微生物学的な安全管理を正しく理解していた技師は5.4%に過ぎず，適切な個人防護具の使用率も17.6%と低かった[10]．更にアメリ

カの21施設，93検査技師に対する調査では，検査室出入時に行うべき手袋の脱着や手洗いの施行率が，技師が自身で想定しているよりも低いことが明らかになった[11]．同施設で行われた別の調査では，勤務中の技師は1時間あたり平均で2.6回，手で顔に触れていた[12]．こうした手洗いの遵守率や顔への接触は，指導により有意に改善された．このような過去の報告からは，施設や個人の感染対策に対する意識の低さ，感染対策に関する指導や再教育の重要性が伺える．

今回の事例を振り返ると，当院はWHOのBSL-2[2]や日本の国立感染症研究所が策定した病原体等安全管理規程[13]に沿って対応しており，実習操作にも明らかな問題を認めなかった．それでも感染が成立した原因としては，①検査技師の監督時の死角，②短時間でも検査技師の注意が逸れた，③作業中の菌が付着した手の顔への接触，④検査室に持参された学習道具への菌の付着による実習時間外での感染などの要素が関与したものと推測した．実習期間に勤務した当院検査技師には発症者はおらず，環境培養も陰性であったため，技師の手や検査室の環境を介した感染の可能性は低いと考えた．但し，感染が判明した時点では実習生の筆記用具など検査室に持ち込んだ個人所有物は持参がなく，培養検査による証明は行えず，感染の原因を特定することは出来なかった．

今回の事例を受けて当院では，細菌検査室において手袋やサージカルマスクに加えてガウンや帽子の着用も義務づけ，入室前後の手洗いや個人所有物の持ち込み制限をより厳格化した．また作業中の手袋は汚染されているものとみなし，仮に個人所有物を持ち込んだ場合にも扱う際は必ず手袋を外すよう徹底した．更にEHECなど感染による重症化が問題となる病原体の学生実習での使用を控え，検査技師は感染対策についても学生に指導を行うこととした．同様の事例は全ての検査室で発生する可能性を秘めており，検査室における感染のリスクを再認識し，感染対策を見直す必要性が示唆された．

謝辞：EHECのパルスフィールド・ゲル電気泳動法による解析を行っていただいた横浜市衛生研究所微生物検査研究課の吉野友章先生および小泉充正先生に深謝申し上げます．

利益相反自己申告：申告すべきものなし

文　献

1) Karmali MA：Infection by verocytotoxin-producing Escherichia coli. Clin Microbiol Rev 1989；2：15―38.
2) World Health Organization：In：Laboratory Biosafety Manual (3rd ed.). World Health Organization, Geneva, 2004.
3) Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, *et al.*：Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis：criteria for bacterial strain typing. J Clin Microbiol 1995；33：2233―9.
4) Spina N, Zansky S, Dumas N, Kondracki S：Four laboratory-associated cases of infection with *Escherichia coli* O157：H7. J Clin Microbiol 2005；43：2938―9.
5) Booth L, Rowe B：Possible occupational acquisition of *Escherichia coli* O157 infection. Lancet 1993；342：1298―9.
6) Burnens AP, Zbinden R, Kaempf L, Heinzer I, Nicolet J：A case of laboratory acquired infection with *Escherichia coli* O157：H7. Zentralbl Bakteriol 1993；279：512―7.
7) Rao GG, Saunders BP, Masterton RG：Laboratory acquired verotoxin producing *Escherichia coli* (VTEC) infection. J Hosp Infect 1996；33：228―30.
8) Wurtz N, Papa A, Hukic M, Di Caro A, Leparc-Goffart I, Leroy E, *et al.*：Survey of laboratory-acquired infections around the world in biosafety level 3 and 4 laboratories. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2016；35：1247―58.
9) Munson E, Bowles EJ, Dern R, Beck E, Podzorski RP, Bateman AC, *et al.*：Laboratory Focus on Improving the Culture of Biosafety：Statewide Risk Assessment of Clinical Laboratories That Process Specimens for Microbiologic Analysis. J Clin Microbiol 2017；56：e01569―17.
10) Odetokun IA, Jagun-Jubril AT, Onoja BA, Wungak YS, Raufu IA, Chen JC：Status of Laboratory Biosafety and Biosecurity in Veterinary Research Facilities in Nigeria. Saf Health Work 2017；8：49―58.
11) Johnston JD, Merrill RM, Zimmerman GC, Collingwood SC, Reading JC：Factors associated with biosafety level-2 research workers' laboratory exit handwashing behaviors and glove removal compliance. J Occup Environ Hyg 2016；13：254―64.
12) Johnston JD, Eggett D, Johnson MJ, Reading JC：The influence of risk perception on biosafety level-2 laboratory workers' hand-to-face contact behaviors. J Occup Environ Hyg 2014；11：625―32.
13) 国立感染症研究所：国立感染症研究所　病原体等安全管理規程．東京，2018.

令和元年9月20日

Two Laboratory-Acquired Cases of Infection with *Escherichia coli* O157：H7 during Student Training

Kenji SAWAKI[1)], Hiroaki SASAKI[1)2)], Hiroshi HORIUCHI[1)], Nobuyuki MIYATA[1)], Kasumi FUJISHIRO[3)], Yoko KOSUGE[3)], Izumi KITAO[3)], Yuko MATSUMOTO[4)], Yukihiro YOSHIMURA[1)] & Natsuo TACHIKAWA[1)]

[1)]Department of Infectious Diseases, Yokohama Municipal Citizens' Hospital, [2)]Department of Internal Medicine, Japan Self Defense Forces Hospital Yokosuka, [3)]Microbiology Laboratory, Yokohama Municipal Citizens' Hospital, [4)]Department of Microbiology Laboratory, Yokohama City Health Research Institute

Although biosafety in laboratories is very important, the risk of laboratory-acquired infection is usually undervalued. We report herein on two cases of laboratory-acquired infection caused by enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) during student training in our hospital. We have to recognize laboratories are at risk of infection and reconsider the infection control rule.

〔J.J.A. Inf. D. 93：655～658, 2019〕