

昼食弁当を原因食として発生した S. Enteritidisによる食中毒事例の疫学的検討

An Epidemiological Analysis of A Food-borne Outbreak
Caused by S. Enteritidis Borne on a Box Lunch

三谷 芽生 砂原千寿子 多田千鶴子 山西 重機

Megumi MITANI Chizuko SUNAHARA Chizuko TADA Shigeki YAMANISHI

要 旨

2002年7月複数の幼稚園で昼食弁当を原因食とする食中毒が発生した。喫食者1,725名中患者725名(発症率42%)であり、患者および食材からS. Enteritidisが分離された。患者の発生日は17日間にもおよび、増菌培地をもちいた場合にのみ共通食の翌日のメニューの高野卵とじからS. Enteritidisが分離されたことから、発症菌量は非常に少ないものと考えられた。よって、S. Enteritidisによる直接的な汚染ではなく、二次的な持続的な汚染によるものではないかと考えられた。疫学解析には制限酵素*Bln* をもちいてパルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)をおこなったところ、患者由来株も食材由来株も同一パターンであった。食材からS. Enteritidisが分離された高野卵とじには鶏卵が使用されており、その保管が不適切であったことなどから汚染源としては鶏卵が疑われた。食材由来株と患者由来株のPFGEの泳動パターンが一致したことのみでそれらの因果関係を判断できないが、患者の喫食状況などと合わせて考えると、本事件は同一汚染源に起因したS. Enteritidisによる食中毒事件であると強く示唆された。

キーワード：食中毒，S. Enteritidis，PFGE，*Bln*

はじめに

近年、食中毒発生件数は増加傾向にあり、細菌性の食中毒原因菌の中ではサルモネラは腸炎ピブリオとともに常に上位をしめている。サルモネラの中では、1999(平成11)年に*Salmonella* Oranienburgの急激な増加が見られたものの、わが国においてはS. Enteritidisが蔓延している状態が続いている。その原因としては鶏卵や卵加工品によるものが多く、食品衛生や公衆衛生上問題となっている¹⁾⁻³⁾。

香川県でもS. Enteritidisを原因とする食中毒は毎年発生しているが、2002年7月にはA市内の複数の幼稚園においてS. Enteritidisを原因とした規模の大きい食中毒が発生したので、その概要を報告する。分離された菌株について、生化学的性状検査、薬剤感受性試験、パルスフィールドゲル電気泳動を実施し、原因の解明を試みた。

方 法

1 事件の概要

2002年7月4日、A市内の医療機関の医師から、下痢、腹痛、発熱等の症状のある患者の検便を実施したところ、6名の患者からサルモネラ菌O9群を検出したとの連絡があった。この患者らは、A市内の別々の幼稚園の園児であり、各幼稚園での喫食状況、園児の欠席状況を確認したところ、28日から休園する園児が増加していた。さらに、翌5日には4医療機関からサルモネラ菌O9群を検出したとの連絡があり、前日と合わせて6医療機関から34名サルモネラ菌O9群を検出した旨の連絡があった。

患者は数ヶ所の幼稚園の園児であり、発熱、下痢、腹痛が共通な主症状としてあること、共通する食事はD施設が6月24日または25日に調

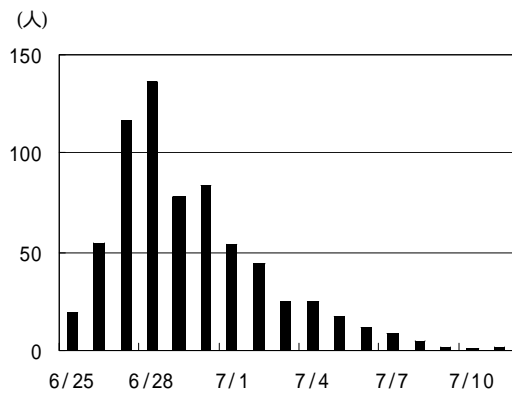


図1 日別患者発生数

整した昼食弁当のみであることから、共通食を調整したD施設を原因施設と判断し、5日間の飲食店営業の停止処分とするともに検査も実施した。

当所に搬入された34名のサルモネラ菌O9群はすべてS. Entetiridisであり、原因食と考えられた翌日のメニューからもS. Enteritidisが分離された。

2 食中毒菌の検索

調理施設及び器具等のふきとり14件、食材は6月24日～26日の昼食27件、使用水1件、従業員22名の検便について、常法により⁴⁾食中毒菌の検索をおこなった。食材についてはサルモネラ菌が検出される可能性があったために、EEM培地にて前増菌をした後セレナイトシスチン培地で増菌する方法も同時におこなった。34名の患者由来株については常法により⁴⁾性状を確認した後、市販のO群型別、H型別(デンカ生研)を用いて、血清型別をおこなった。

3 菌株の薬剤感受性試験

薬剤感受性試験はNCCLS法の規格に準拠し、Sensi-Disc (BBL) を用いて一濃度ディスク法により実施した。使用した薬剤はナリジクス酸 (NA; 30 µg), アンピシリン (ABPC; 30 µg), テトラサイクリン (TC; 30 µg), クロラムフェニコール (CP; 30 µg), ストレプトマイシン (SM; 10 µg), カナマイシン (KM; 30 µg), ゲンタマイシン (GM; 10 µg), セフォタキ

シム (CTX; 30 µg), シプロフロキサシン (CPFX; 5 µg), ホスホマイシン (FOM; 50 µg), ST合剤 (スルファメトキサゾール, トリメトプロム含有) の11剤を使用した。

4 PFGEによる分離株のDNA分析

市販の制限酵素Bln (ベイリンガー・マンハイム) でDNAを切断後、PFGEにより泳動パターンを比較した。PFGEの試験法および泳動条件は寺嶋ら⁵⁾, 感染研⁶⁾によって示された方法に準拠した。パルスタイム5秒から50秒, 200 V, 22時間の条件で行った。

結 果

図1には、日別患者発生数を示してある。患者発生数のピークは6月28日であったが、7月11日まで17日間にもおよんだ。

表1に患者の症状を示した。下痢 (92.1%), 発熱 (70.9%), 腹痛 (63.2%) が主な症状であったが、臥床 (17.9%), 頭痛 (16.7%), 嘔吐 (12.8%) などの症状もあった。下痢については、水溶性下痢 (52.8%), 粘液性下痢 (39.3%) であった。

年齢別患者数は3歳で170人 (23.4%), 4歳で234人 (32.3%), 5歳で251人 (34.6%), 6歳で70人 (9.7%) であった。性別では男355人 (49.0%),

表1 患者の症状

症 状	患者数 (%)
下 痢	668 (92.1%)
発 熱	514 (70.9%)
腹 痛	458 (63.2%)
臥 床	130 (17.9%)
頭 痛	121 (16.7%)
嘔 吐	93 (12.8%)
しぶりばら	87 (12.0%)
脱力感	81 (11.2%)
悪 寒	76 (10.5%)
倦怠感	72 (9.9%)
吐き気	61 (8.4%)
血 便	45 (6.2%)
戦 慄	19 (2.6%)
痙 攣	5 (0.7%)
眼症状	3 (0.4%)

女370人(51.0%)であった。

表2には、食中毒菌の検索結果を示してある。原因食と推定された6月24日、25日の食材、調理施設および器具等のふきとり検体、使用水および従業員の検便からは、食中毒起因菌を検出したものもあつたが、サルモネラ菌は検出されなかった。原因食と推定された翌日(26日)の食材のうち、増菌培地をもちいた場合に高野卵とじから*S. Enteritidis*が検出された。また、患者由来株はすべて*S. Enteritidis*であった。

薬剤感受性試験では、すべての薬剤に感受性を示した。

疫学解析にはPFGEをもちいた。はじめに患者由来株34株についておこなつた。その一部を図2に示してある。幼稚園が違つても、34株すべてが同一パ

ターンを示した。続いて、患者由来株と食材由来株の泳動パターンを比較した(図3)。1~7レーンに患者由来株、8レーンに食材由来株を示してある。患者由来株は食材由来株とも同じパターンを示した。また、過去の分離菌株と比較するために、今回の事件には関係しないヒト由来株(平成12年度、14年度感染症発生動向調査で分離された菌株)6株(9~14レーン)および平成12年から13年に発生した食中毒由来株3株(15~17レーン)もあわせてPFGE解析をおこなつた。その結果、レーン14の1株を除いては今回の事件には関係しないヒト由来株および別の食中毒事件由来株とも同一のパターンを示した。この株は平成12年度の感染症発生動向調査で分離された菌株であった。

表2 食中毒起因菌の検索結果

食中毒起因菌	
ふきとり	検出せず
食 材	6/24 検出せず
	6/25 <i>B.cereus</i> (さけわかめご飯)
	6/26 <i>B.cereus</i> (春巻き), <i>S.aureus</i> (鶏利休焼き), <i>S. Enteritidis</i> (高野卵とじ)
使用水	検出せず
従業員	<i>B.cereus</i> (1名), <i>S.aureus</i> (2名), <i>C.coli</i> (1名)
患者	<i>S. Enteritidis</i>

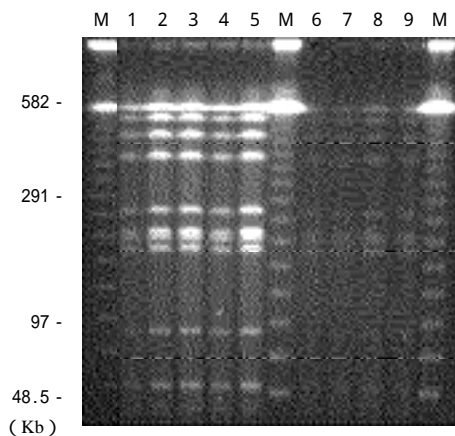


図2 患者(9名)から分離された*S. Enteritidis*のPFGEパターン(*Bln* 処理)

M ladder, 1~5 H幼稚園, 6, 7 J幼稚園, 8 I幼稚園, 9 G幼稚園

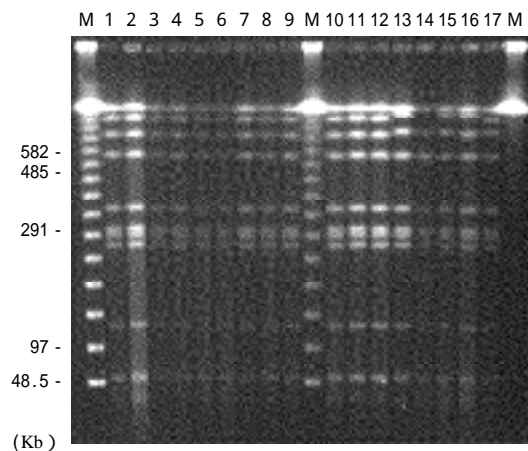


図3 患者および食材から分離された*S. Enteritidis*のPFGEパターン(*Bln* 処理)

M ladder, 1~7 患者由来株 (1~4 E幼稚園, 5~7 G幼稚園) 8 食材由来株, 9~14 別由来株, 15~17 食中毒別事件由来株

考 察

汚染経路については、6月24日、25日のいずれかの幼稚園の昼食弁当の喫食者から発症していること、また、26日の食材から*S. Enteritidis*が検出されたこと、26日の給食弁当も喫食した園児の平均潜伏時間が喫食していない園児に比べて長いことから、26日の給食弁当を喫食したことによって発症した可能性も否定できない。

増菌培養した26日の高野卵とじから*S. Enteritidis*が検出され、PFGEパターンは患者由来株と一致した。高野卵とじに使っていた鶏卵の取り扱い等について調査したところ、全卵を常温で保管しており、取り扱いが不適切であった。市販されている鶏卵のサルモネラ汚染の頻度は非常に低く^{3), 7), 8)}また汚染菌数は非常に少ないこと⁹⁾が多くの報告により明らかにされている。しかし、仮にD施設で使用した鶏卵が*S. Enteritidis*に汚染されていたとすれば、夏の暑い時期に室温保存されたために汚染源となった可能性も否定できない。

疫学解析のためにもちいたPFGEにおいて、今回の事件で分離された菌株のみを比較していれば患者由来株と食材由来株が同一なPFGEの泳動パターンを示したので汚染源が特定された、という結論になる。しかし、比較のためにもちいた今回の事件には関係しない*S. Enteritidis*も同一のPFGEの泳動パターンを示すものがあり、*S. Enteritidis*の場合、疫学解析を行う際に制限酵素*Bln* だけでは不十分であると考えられる。*S. Enteritidis*の場合、制限酵素は*Bln*、*Xba* 以外では全体的に200kb以下にバンドが集中してしまい、識別能はあまりよくなかった⁵⁾、とされている。*Xba* で同一パターンを示すものが*Bln* で認識されたという報告もある⁵⁾ことから、さらに*Xba* でPFGEをおこなっても、疫学解析が進む可能性は低いと考えられる。

*S. Enteritidis*のファージ型別については国立感染症研究所に依頼しておこなう予定にしているが、今回の分離株と過去に報告されている*Bln* によるPFGEの泳動パターンと比較すると、ファージ型(PT)4型のものとはよく似たパターンを示していた。わが国における過去のPT4の*S. Enteritidis*の場合、泳

動パターンの変化が乏しいと報告されている^{5), 10), 11)}ため、同一な泳動パターンのものが多かったのではないかとされる。英国ではサルモネラのPT4が主要な食中毒原因菌であり、日本が原種鶏を英国から輸入していることから、*S. Enteritidis*のPT4が蔓延しているのではないかと考えられている^{5), 12)}。

泳動パターンが同一である場合には複数の制限酵素を試してみるのが安全であり、疫学的情報を加味し総合的に判断すべきであると言われている⁵⁾。よって、食材由来株と患者由来株のPFGEの泳動パターンが一致したことのみでそれらの因果関係を判断できないが、患者の喫食状況などと合わせて考えると、本事件は同一汚染源に起因した*S. Enteritidis*による食中毒事件であると強く示唆され、PFGEの結果を裏付けるものと思われる。

まとめ

- ・ 今回の事件は、A市内の複数の幼稚園において発生した*S. Enteritidis*を原因とする喫食者1,725名中患者725名(発症率42%)の食中毒であった。
- ・ 患者の発生日は原因と思われる給食弁当を喫食してから17日間にもおよび、食材から*S. Enteritidis*が分離されたのが共通食の翌日のメニューであったことから、発症菌量は非常に少なく、二次的な持続的な汚染によるものであると考えられた。
- ・ 疫学解析にもちいたPFGEでは、患者由来株と食材由来株が同一な泳動パターンを示したが、別由来の株とも同一パターンを示すものがあつたために汚染源の特定には至らなかったが、汚染源として鶏卵が疑われた。

文 献

- 1) 厚生労働省医薬局食品保健部安全監視課：食中毒発生状況．食品衛生研究，52，117 - 203 (2002)
- 2) 村瀬 稔：サルモネラ，とくにEnteritidis下痢症の現状．食品と微生物(日食微誌)，10，181 - 184 (1994)

- 3) 品川邦汎：卵および卵加工品におけるサルモネラエンテリティディスの汚染とその対策．日食微生物誌，16，7 - 18 (1999)
- 4) 坂崎利一：新訂 食水系感染症と細菌性食中毒，坂崎利一編，p.90 - 123，中央法規出版，東京 (2000)
- 5) 寺嶋 淳，和田昭仁，泉谷秀昌，渡邊治雄：パルスフィールドゲル電気泳動法：*Salmonella* Enteritidis．臨床と微生物，23，641 - 644 (1996)
- 6) 国立感染症研究所細菌部編：Pulsed-field Gel Electrophoresis (PFGE)．腸管出血性大腸菌O157の検出・解析等の技術研修会テキスト，p17 - 31 (1997)
- 7) Ebel, E. and Echlosser, W. : Estimating the annual fraction of eggs contaminated with *Salmonella* Enteritidis in the United States. Int. J. Food. Microbiol. , 61, 51 - 62 (2000)
- 8) President's Council on Food Safety : Egg Safety, from Production to Consumption: AN ACTION PLAN to Eliminate *Salmonella* Enteritidis Illnesses Due to Eggs (1999)
- 9) Gast, R. K. and Beard, C. W. : Detection and enumeration of *Salmonella* Enteritidis in fresh and stored eggs laid by experimentally infected hens. J. Food Prot. , 55, 152 - 156 (1992)
- 10) 国立感染症研究所，厚生省保健医薬局，結核感染症課編：病原微生物検出情報，19，129 - 130 (1998)
- 11) 国立感染症研究所，厚生省保健医薬局，結核感染症課編：病原微生物検出情報，20，274 - 275 (1999)
- 12) 中村明子：ファージ型別*Salmonella* serovar Typhi, *Salmonella* serovar Enteritidis. 臨床と微生物，23，107 - 112 (1996)