

# 山梨県における S.Oranienburg および S.Chester の 分離状況と分離株の特徴

浅川 洋美      野田 裕之      金子 通治

Bacteriological and Epidemiological Studies on  
*Salmonella* serovar Oranienburg and *Salmonella* serovar Chester  
Isolated from Sporadic Diarrhea, River Water and Cuttlefish Chips in Yamanashi Prefecture

Hiroyoshi ASAKAWA, Hiroyuki NODA and Michiharu KANEKO

1999年3月、川崎市でS.Oranienburg (SO)を原因菌とする「バリバリいか」による食中毒事件が発生した<sup>1)</sup>。その後、全国各地で患者が確認され<sup>2~4)</sup>過去に例を見ない広域的な食中毒事件 (diffuse outbreak) へと発展した。本事件のいか乾製品は、青森県の水産加工場で1998年10月上旬から生産され、各地の小分け包装業者を経て、各種商品名で全国に流通した<sup>5)</sup>。原因菌はSOとリジン脱炭酸陰性のS.Chester (SC)とされ、患者総数は全国で1,500名以上に達した。このため山梨県内でも流通している「バリバリいか」等のいか乾製品のサルモネラ検査を食中毒事件発生後、当所で実施した。本県は、患者といか乾製品との因果関係が特定されず、食中毒としての報告がない唯一の県であった。

われわれは、従来より散発下痢症患者および河川水におけるサルモネラの細菌・疫学的検討を行ってきた<sup>6, 7)</sup>。上記食中毒事件発生と同時期に散発下痢症患者よりSO, SCが分離されたため、本県においてもいか乾製品による患者が発生していることが示唆された。また、1998～1999年に河川水からもSO, SCが分離された。

今回、本県における散発下痢症患者および河川水から分離されたSO, SCといか乾製品から分離されたSO, SC株間の相違を細菌・疫学的に比較検討したので報告する。

## 材料および方法

1998～1999年の2年間で、7医療機関・検査機関から同定依頼された散発下痢症患者由来株、河川水から既報<sup>8)</sup>の方法により分離した菌株、回収いか乾製品から分離された菌株について常法<sup>9)</sup>に従い、生化学的および血清学的性状検査からサルモネラと同定し、その血清型を決定した。回収いか乾製品については、菌数、水分活性<sup>10)</sup> (コンウェイユニット法)の測定も併せて行った。

薬剤感受性は、NOCLS法の規格に準拠した一濃度ディスク法 (BBLセンシディスク) により測定した。使用

薬剤は、スルフィソキサゾール (SA)、ストレプトマイシン (SM)、テトラサイクリン (TC)、クロラムフェニコール (CP)、カナマイシン (KM)、アミノベンジルペニシリン (ABPC)、セファロチン (CET)、セフォキシチン (CFX)、ラタモキセフ (LMOX)、ナリジクス酸 (NA)、ノルフロキサシン (NFLX) およびスルファメトキサゾールとトリメトプリムの合剤 (ST) の12薬剤である。

分離菌のDNA分析は、国立感染症研究所の方法<sup>11)</sup>に準拠し、既報<sup>12)</sup>のとおり実施した。制限酵素はXba I およびBln Iを使用し、切断されたDNAをパルスフィールド電気泳動法 (PFGE) によって分析した。

## 結果および考察

### 1. 散発下痢症患者由来のSOおよびSC分離状況

1998年および1999年の2年間、7つの医療機関・検査機関から同定依頼を受けた菌株のうち、SOおよびSCと同定された株の月別分離状況を図1に示した。分離された期間は、1998年10月から1999年8月の11ヶ月間のみであった。いか乾製品のサルモネラ汚染時期は、SCは1998年10月上旬、SOは同年10月下旬～11月上旬ごろと推定されている。本県では、汚染時期とほぼ同時期の1998年10月にSCが1株分離された。翌1999年1月にSCが1株、2月にはSOが4株分離された。全国の患者発生は、1999年3月から増加し、4月に最も多く発生し、事件の終息した5月に減少した。本県の散発下痢症患者のSO, SCは、これと同様な傾向にあり、とくにSOは3月に7株と増加し、4月に8株とピークに達し、5月にSOが1株と減少した。その後、7, 8月に1株ずつ分離されたのが最後であった。分離株数は、SOが22株、SCは5株であった。分離頻度の低い<sup>13)</sup>SO, SCが食中毒事件と同時期に多数分離されたことで本県においてもSO, SCの患者が発生していることが推測された。

表1 河川水からのSOおよびSCの分離状況

採水地点	年 月	1998年				1999年									
		11月	12月	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
日川 (葡萄橋)															
平等川 (平等橋)							●								
濁川 (砂田橋)		○	○		●		●	●							
濁川 (濁川橋)							●	●						●	
荒川 (荒川下流)							●	●							
鎌田川 (高室橋)				○				○							
鎌田川 (流末)				○		●	●	○							●
相模川 (桂川橋)															
宮川 (昭和橋)															

● SO ○ SC

表2 いか乾製品のサルモネラ汚染菌数, 一般生菌数, 大腸菌群数および水分活性

製品	賞味期限	分離サルモネラ	サルモネラ菌数 (/g)		一般生菌数 (/g)	大腸菌群数 (/g)	水分活性
			MPN法	コンラージ法			
いか乾製品A	99. 5.16	陰性			$9.9 \times 10^5$	<300	N T
〃 B	99. 7. 4	SO, SC	$>1.1 \times 10^4$	$1.7 \times 10^3$	$7.4 \times 10^6$	$5.2 \times 10^3$	0.580
〃 C	99. 7. 4	陰性			$4.2 \times 10^6$	<300	0.578
〃 D	99. 9. 1	SO, SC, O7:HNM	$>1.1 \times 10^4$	$1.5 \times 10^4$	$1.1 \times 10^7$	$3.1 \times 10^2$	0.586
〃 E	99. 9.29	SO, SC, O7:HNM	$2.3 \times 10^2$	$<10^2$	$5.5 \times 10^7$	<300	0.598
〃 F	99. 8.29	SO, SC	$>1.1 \times 10^4$	$1.4 \times 10^3$	$4.1 \times 10^6$	<300	0.537
〃 G	99. 7.12	SO, SC	$>1.1 \times 10^4$	$1.0 \times 10^3$	$3.0 \times 10^7$	$3.6 \times 10^2$	0.575
〃 H	99. 9.30	陰性	$>1.1 \times 10^4$	$1.0 \times 10^3$	$5.0 \times 10^6$	<300	0.582

## 2. 河川水からのSOおよびSCの分離状況

河川水からのSOおよびSCの分離状況を表1に示した。1998年から1999年の2年間に、河川水からSOまたはSCが分離されたのは散発下痢症患者からの分離時期とほぼ同時期の1998年11月から1999年12月までであった。分離株数は、SOが10株、SCが6株であった。

SCは、1998年の11月から分離され始めた。11、12月は濁川の砂田橋で採水した河川水より分離され、1999年1月には、鎌田川の高室橋および鎌田川流末の2地点で採水された河川水から分離された。4月に同じく鎌田川の2地点で分離されたが、それ以降SCは分離されなかった。

SOは、1999年2月に濁川の砂田橋で初めて分離された。3月には鎌田川流末で、4月には4地点(平等橋、濁川橋、荒川下流、鎌田川流末)で分離され、5月までにSOが分離された地点数は、合計で5地点に及んだ。

さらに、1999年の11、12月にもそれぞれ1地点でSOが分離された。なお、日川、相模川および宮川からはSOとSCは分離されなかった。河川水からのSO、SC分離状況は、散発下痢症患者の分離状況とほぼ同様な結果で

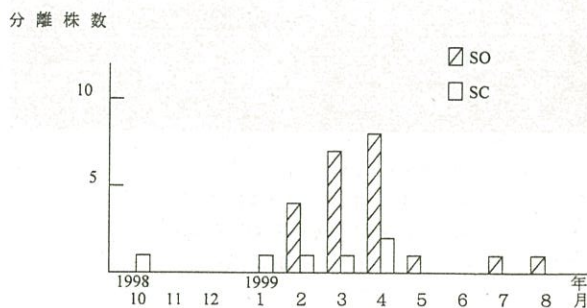
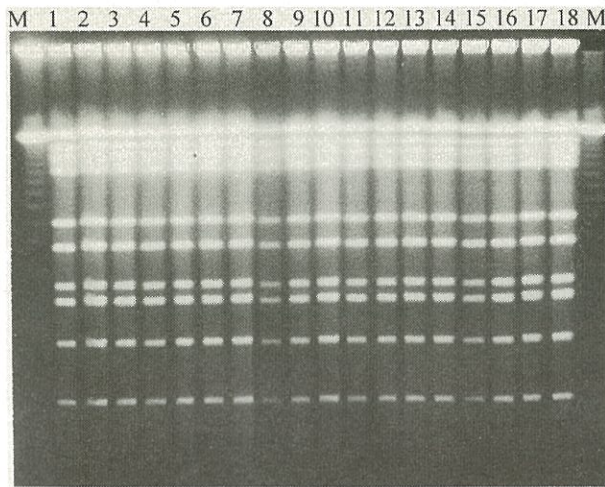


図1 散発下痢症由来SOおよびSCの月別分離状況

あった。河川水における病原細菌検索は、流行状況の把握に有効であることが、今回の分離状況により確認された。

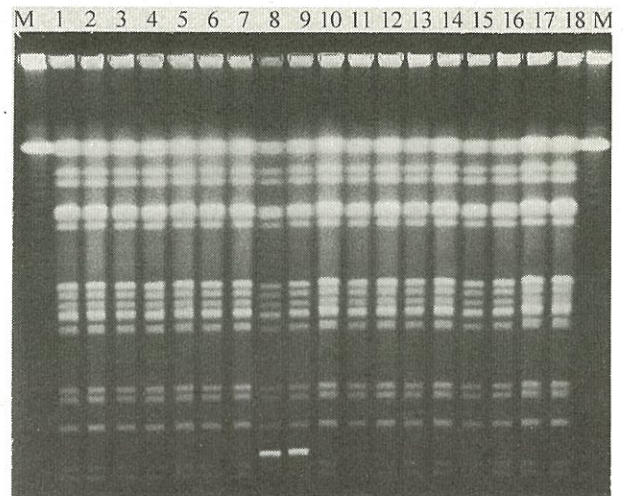
## 3. いか乾製品の検査結果

収去されたいか乾製品の検査結果を表2に示した。8検体中5検体からSOとSCが同時に分離された。さらに2検体からはサルモネラO7群で運動性マイナス株(O7:HNM)も分離された。サルモネラの汚染菌量は、



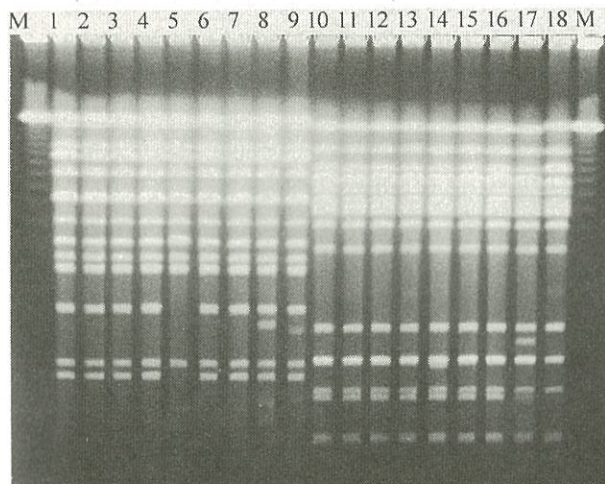
M : Lambda ladder  
 1~11 : 散発下痢症患者株 SO  
 12~16 : いか乾製品株 SO  
 17, 18 : いか乾製品株 (O7:HNM)

図2 PFGEによるSOおよびO7:HNMのDNA切断パターン (*Bln* I消化)



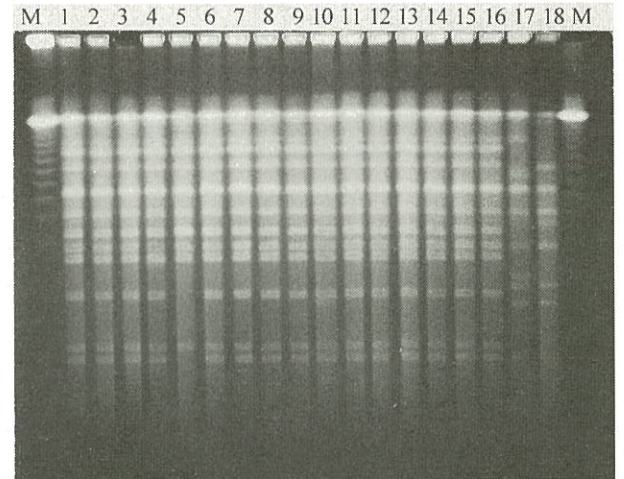
M : Lambda ladder  
 1~11 : 散発下痢症患者株 (SO)  
 12~16 : いか乾製品株 (SO)  
 17, 18 : いか乾製品株 (O7:HNM)

図3 PFGEによるSOおよびO7:HNMのDNA切断パターン (*Xba* I消化)



M : Lambda ladder  
 1~9 : *Bln* I 消化 10~18 : *Xba* I 消化  
 1~5, 10~14 : 散発下痢症患者株  
 6~9 15~18 : いか乾製品株

図4 PFGEによるSCのDNA切断パターン



M : Lambda ladder  
 1~6 : 散発下痢症患者株 11~16 : 河川水株  
 7~10 : いか乾製品株  
 17~18 : 散発下痢症患者株 (リジン陽性)

図5 PFGEによるSCのDNA切断パターン (*Bln* I消化)

MPN法で1検体が $2.3 \times 10^2$ 個/100g, 4検体が $>1.1 \times 10^4$ /100g, コンラージ法で $<10^2 \sim 1.5 \times 10^4$ 個/gで検体によって菌量に違いがあった。一般生菌数は, $4.1 \times 10^6 \sim 5.5 \times 10^7$ 個/g, 大腸菌群数は, $<300 \sim 5.2 \times 10^3$ 個/g, 水分活性は, 0.537~0.598であった。県内で流通していたいか乾製品の細菌検査結果は, 全国各地で製品より分離<sup>14, 15)</sup>された株と同じ型であり, 菌数, 水分活性についてもこれらの報告<sup>14, 15)</sup>とほぼ同様な成績であった。本県においてもサルモネラ汚染を受けたいか乾製品の流通

があったことが確認された。青森県のサルモネラ・オラニエンブルク食中毒事件原因究明検討委員会の報告書<sup>16)</sup>では汚染源, 汚染経路の特定には至らなかったが, 製造施設, 衛生管理, 従業員の衛生教育等に問題があったとされる。水産物乾製品製造施設は, 食品衛生法の規定に基づく許可対象業種に定められていない。許可を有しない施設に対しても監視・指導が必要であると考えられた。

#### 4. 薬剤感受性試験と DNA パターン分析

散発下痢症患者由来株, いか乾製品由来株および河川水由来株およびの SO, SC および O7:HNM は 12 薬剤に対してすべて感受性であった。

SO と O7:HNM の代表株の *Bln* I 消化 DNA 切断パターンを図 2 に, *Xba* I 消化を図 3 示した。レーン 1～11 は散発下痢症患者由来の SO, レーン 12～16 はいか乾製品由来の SO, レーン 17, 18 はいか乾製品由来の O7:HNM である。*Xba* I 消化の散発下痢症患者由来 2 株で 1 本のバンドの違いが見られるが, ほかは DNA 切断パターンが同じであった。

SC の代表株の DNA 切断パターンを図 4 に示した。レーン 1～9 は *Bln* I 消化, レーン 10～18 は *Xba* I 消化である。レーン 1～5 および 10～14 の散発下痢症患者由来株, レーン 6～9 および 15～18 のいか乾製品由来株で数本のバンドが違う株もみられるが, ほぼ同一のパターンであった。図 5 に SC の由来別の *Bln* I 消化 DNA 切断パターンを示した。対照株 (1987, 1989 年分離の散発下痢症患者由来株でリジン陽性株) の 2 株 (レーン 17, 18) と散発下痢症患者由来の 1 株 (レーン 5) を除き, 散発下痢症患者由来株, いか乾製品由来株および河川水由来株は, 同一のパターンであった。河川水の SO の DNA 切断パターンの図は省略したが, ほかの由来株と同じパターンを示した。

散発下痢症患者, いか乾製品から分離された SO, SC は, いずれの薬剤に対して感受性で, 河川水から分離された SO, SC も同様であった。また, PFGE を用いた DNA 切断パターンの分析で, 数本のバンドの違いが認められた株もあったが, 全体としては同一のパターンを示した。

本県は, 患者といか乾製品との因果関係が特定されず, 食中毒としての報告がない唯一の県となった。しかしながら, 本事件と同時期に散発下痢症患者および河川水より SO および SC が分離されたこと。いか乾製品分離株と散発下痢症患者由来株および河川水由来株の SO, SC の疫学マーカーが同一であったことから, 本県において分離された SO および SC は, いか乾製品による diffuse outbreak と関連していることが強く示唆された。

#### ま と め

1999 年に SO, SC を原因菌とするいか乾製品による全国規模の食中毒事件 (diffuse outbreak) が発生した。本

県の散発下痢症患者, 河川水から分離された SO, SC と回収いか乾製品から分離された SO, SC について細菌・疫学的に比較検討した。散発下痢症患者, 河川水から分離頻度の低い SO, SC は事件発生時期と同時に多数分離された。疫学マーカーとして用いられる薬剤感受性, PFGE による DNA パターン分析を行ったところ, 分離された SO, SC は薬剤感受性で数本のバンドの違いが認められた株もあったが同一パターンであった。これらから本県においても, いか乾製品による患者が発生していたことが強く示唆された。

#### 文 献

- 1) 小川正之ら: 病原微生物検出情報, 20, 112～113 (2000)
- 2) 森野吉晴ら: 病原微生物検出情報, 20, 138～139 (2000)
- 3) 倉園貴至ら: 病原微生物検出情報, 20, 139 (2000)
- 4) 正木宏幸ら: 病原微生物検出情報, 20, 140～141 (2000)
- 5) 竹内正子ら: 第 20 回日本食品微生物学会学術総会講演要旨集, 44 (1999)
- 6) 金子通治: 感染症誌, 69, 1294～1301 (1996)
- 7) 高橋照美ら: 山梨衛公研年報, 41, 33～37 (1997)
- 8) 金子通治: 日本公衛誌, 31, 227～233 (1984)
- 9) 厚生省監修: 微生物検査必携細菌・真菌検査, 第 3 版, 日本公衆衛生協会, 東京 (1987)
- 10) 厚生省監修: 食品衛生検査指針・理化学編, 80～81 日本食品衛生協会, 東京 (1991)
- 11) 和田昭仁: 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, 17～31 (1997)
- 12) 金子通治ら: 山梨衛公研年報, 42, 17～24 (1998)
- 13) 金子通治ら: 山梨衛公研年報, 41, 22～26 (1997)
- 14) 小川正之ら: 第 20 回日本食品微生物学会学術総会講演要旨集, 39 (1999)
- 15) 対馬典子ら: 第 20 回日本食品微生物学会学術総会講演要旨集, 43 (1999)
- 16) サルモネラ・オラニエンブルグ食中毒事件原因究明検討委員会: サルモネラ・オラニエンブルグ食中毒事件原因究明検討委員会報告書, 平成 11 年 6 月 21 日 (1999)