

1994年3月、山梨県で発生したわが国初の ファージ型22による *Salmonella* serovar Enteritidis 食中毒事例

金子通治 植松香星 花形英男*¹

The First Incident of Food Poisoning in Japan Due to *Salmonella*
serovar Enteritidis Phage Type 22 Which Occurred in Yamanashi
Prefecture (March 1994)

Michiharu KANEKO, Kousei UEMATSU and Hideo HANAGATA*¹

1989年から全国的に増加がみられているサルモネラ食中毒は、従来発生の多かった腸炎ビブリオ食中毒の減少もあり、1992年、1993年と食中毒統計上第1位となっている^{1,2)}。これはサルモネラ血清型エンテリティディス (*S. Enteritidis*, 以下SE) による食中毒の増加に起因している。また、食中毒だけでなくSEによる散発下痢症も同様に増加している現状にある³⁻⁶⁾。これらの原因はSEに汚染された鶏卵の存在があることが半明した。しかし、最近では鶏卵のみでなく以前のようにそれ以外の食品の関与も指摘⁶⁾されている。

山梨県においてもSEによる食中毒、散発下痢症の増加傾向は変わらず、1994年も6件のSE食中毒が発生した。そのうち1件の事例は疫学マーカーであるファージ型 (PT) が従来のPT34, PT4およびPT1と異なり、わが国で初めてのPTである22であった。そこでこのPT22の初めての食中毒事例を中心に、1994年に発生した6件のSE食中毒事例を疫学的、細菌学的に検討したので報告する。

食中毒検査及び調査方法

1. 食中毒原因菌の検査方法

常法⁷⁾に従い、原因菌の検索を実施した。サルモネラ

検査については、増菌培地にはセレナイト培地、分離培地にはDHLおよびSSB寒天培地を用いた。必要に応じてEEMブイヨン培地も使用した。

2. 薬剤感受性試験

12種類の薬剤、すなわち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)、モクスラクタム (LMOX)、コリスチン (CL)、ノルフロキサシン (NFLX) およびナリジクス酸 (NA) について、NCCLS法⁸⁾に準拠した一濃度ディスク法 (BBL) によって実施した。

3. プラスミドプロファイル

すでに報告した方法⁴⁾によった。すなわち、KadoとLiuの方法⁹⁾に準拠し、プラスミドDNAを抽出した。0.65%のアガロースを使用し、約2時間30分の電気泳動後、エチジウムブロマイドによって寒天ゲル中のDNAを染色、紫外線照射下で撮影した。

4. ファージ型別

分離されたSEのファージ型別は、国立予防衛生研究所ファージ型別室に依頼した。

* 1 : 山梨県小笠原保健所

表1 1994年山梨県のS.Enteritidis 食中毒発生状況

事例No.	発生日	場所	摂食者数	患者数	検査月日	原因食品	原因施設	血清型	PT
1	3.22	A町	77	23	3.28	保育園の給食	保育園	Enteritidis	22
2	6.19	K町	128	33	6.28	披露宴の食事	飲食店	"	5a
3	7.4	K市	56	26	7.8	出産祝の食事	家庭	"	1
4	7.24	T市	281	77	8.4	飲食店の食事	飲食店	"	4
5	10.20	K町	450	195	10.26	ホテルの食事	ホテル	"	1
6	11.1	K市	6	3	11.4	飲食店の食事	飲食店	"	9

1994年のSE食中毒および過去5年のサルモネラ食中毒の発生状況

1994年山梨県で発生した食中毒件数は6件のキノコ食中毒を含め計17件である。うちサルモネラ食中毒が6事例で、それらすべてがSEによるものであった。このSEによる食中毒の発生状況を表1に示した。食中毒発生から検査開始まで長時間経過している事例が多いという特徴がみられた。最高は11日経過後の事例4であった。発生時期は夏期ばかりでなく、春、秋期にもみられた3月～11月までの間であった。表2には1994年以前の過去5年間のサルモネラ食中毒事例の血清型等を示した。サルモネラ食中毒が急増した1989年はSE (PT34)による1事例と血清型Typhimuriumによる2事例があった。1990年は1事例もなかったが、1991、1992年はともにPT4のSEによる事例が1例ずつ発生した。1993年はSEによる事例はみられなかったが、血清型Typhimuriumによる1事例のほか、食中毒事例としては初めての血清型であるGaminaraによる事例¹⁰⁾がみられた。以上のように1994年以前の5年間はSEによる事例は、年1例ほどであったが表1に示したように1994年は6件と過去最高のSE食中毒が発生した。

わが国初のPT22によるSE食中毒事例(事例1)

1. PT22によるSE食中毒の概要

1994年3月18日から22日にかけて、山梨県A町のB保育園で計23名の園児が下痢、腹痛、発熱等の食中毒様症状を呈した。表3にその概要を示した。摂食者77名はすべて園児で、うち23名29.9%が発症した。死者はなかった。原因食品は保育園の給食と推定された。

2. 患者の年齢別分布

患者は23名の園児で、6才以下である。B保育園は満1才児から5才児までを保育しており、事件発生が年度末の3月末であったので患者である園児の年齢は2～

表2 最近5年間の山梨県でのサルモネラ食中毒発生状況

年	発生件数	血清型〈事例数〉
1989	3	Enteritidis (PT 34) 〈1〉, Typhimurium 〈2〉
1990	0	
1991	1	Enteritidis (PT 4) 〈1〉
1992	1	Enteritidis (PT 4) 〈1〉
1993	2	Gaminara 〈1〉, Typhimurium 〈1〉
1994	6	すべてEnteritidis (PT 22) 〈1〉, (PT 5a) 〈1〉, (PT 1) 〈2〉, (PT 4) 〈1〉, (PT 9) 〈1〉

6才であった。表4に摂食者数と年齢別の分布を示した。6才児が38.5%の発症率で最も高く、次いで3才児が36.4%であった。

3. 患者の症状別発現率

患者23名の症状別の発現率を表5に示した。下痢がみられたのは23名全員、100%であった。腹痛、発熱はともに20名ずつ87.0%で、発熱は平均39.3℃と高熱でサルモネラ食中毒の特徴を示した。最高は40.4℃、最低でも38.4℃であった。

表3 B保育園での食中毒の概要

発生日	1994年3月22日
発生場所	A町 B保育園
摂食者数	77名
患者数	23名(発症率29.9%)
死者数	0名
原因食品	B保育園の給食
病因物質	S. Enteritidis*
原因施設	B保育園

* PT22, SA・SM・TC・ABPC耐性, 60, 50, 7.5kbプラスミド

4. 給食の献立と潜伏時間

初発患者は3月18日の夜半に発症し、次いで19日午前10時であった。患者発生のピークは20日の午後であり、18日の給食が原因食と考えられた。野菜の卵とじ、パイン缶、ソーセージがその献立であるが、うち野菜の卵とじが原因食と推定された。平均の潜伏時間は54.5時間と長く、最短で12時間、最長は104時間であった。それらを表6に示した。

5. 細菌学的検査結果

患者23名のうち、SEが分離されたのは20名であった。分離された20株のうち17株がSA・SM・TC・ABPC耐性であり、山梨県でも過去のSE株にみられなかった耐性型であった。残りの3株も初めてのSM・TC・ABPC耐性を示した。表7と図1および図2にも示したが、それらの株のプラスミドプロファイルは前者、すなわち17株のSA・SM・TC・ABPC耐性型株が60, 50, 7.5 kbのプラスミド(図1: lane 1, 3~12, 図2: lane 6, 7)を保有し、後者は60, 50 kb プラスミド(図1: lane 2, 図2: lane 9, 10)で前者とは異なっていた。しかしながら、PTは20株いずれもが22であり、わが国初のPT22によるSE食中毒であった。しかも、薬剤耐性型および保有プラスミドにおいても従来みられぬ初めてのパターンであった。

1994年のSE食中毒5事例の細菌学的検査結果

表7にわが国初のPT22による事例も含め、1994年に発生した6事例についての細菌学的検査結果をまとめた。事例1は述べたので、以下は事例2から事例6の結果である。

1. 事例 2

飲食店で開催された結婚披露宴の食事が原因食である。この食中毒事件では、患者被験者5名中5名全員からSEが分離された。この5株は山梨県では初めてのPTである5aを示した。PT5aをもつSE株は、食中毒事例だけでなく過去の環境、食品、動物および散发下痢症患者由来からも分離例はなかった。5株はいずれも薬剤に対して感受性で、図2(lane 4, 5)に示したように88, 60 kbのプラスミド保有で、初めてのプロファイルであった。

2. 事例 3

7月3日にC家庭宅で行われた出産祝の祝宴の食事が原因食と推定された事例である。食事はD飲食店からの

表4 患者の年齢別分布

患者	2	3	4	5	6才	計
摂食者数	5	11	20	15	26	77
患者数	1	4	5	3	10	23
発症率(%)	20	36.4	25	20	38.5	29.9

表5 患者の症状別発現率

下痢	23 (100%)
腹痛	20 (87.0)
発熱	20 (87.0) 最高 40.4℃ 《平均 39.3℃》 最低 38.4℃
嘔吐	10 (43.5)
吐き気	7 (30.4)
頭痛	6 (26.1)

表6 給食の献立と潜伏時間

3月15日(火)	唐揚げ、中華サラダ、みかん缶
16日(水)	ちらし寿司、マカロニサラダ、メンチカツ
17日(木)	白身魚のフライ、サラダ、パイン缶
18日(金)	野菜の卵とじ、パイン缶、ソーセージ
19日(土)	ソーセージロール(フランスパン)、牛乳
平均潜伏時間 54.5 時間、最短 12 時間、最長 104 時間	

仕出し料理とC宅で調製された料理である。料理は検査時にはすでになく、原因食を特定することはできなかった。患者、被験者20名中14名からSEが分離された。いずれの株もPT1, SM1耐性で60 kb プラスミド保有株であった。D飲食店の調理場およびC宅の台所、調理器具等の拭き取り検査の結果、D飲食店からはサルモネラが分離されなかったが、C宅の調理用のテーブルから患者由来株と全く同一の疫学マーカーをもつSEが分離された。

3. 事例 4

7月24日昼にE飲食店にて出産祝の会食が行われ、同日午後11時に初発患者がみられた。祝宴ということもあり8月2日になって管轄の保健所に届出された。8月3日の糞便を8月4日、つまり患者発生があつてから11日後に検査を開始した事例である。しかし、検査が大幅に遅れたにもかかわらず患者被験者9名のうち5名から同一疫学マーカーをもつSEが分離された。PT4, SM1耐性および60 kb プラスミド保有株であった。

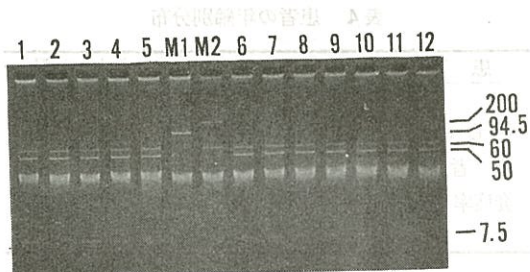


図1 PT22のSEによる食中毒事例での
プラスミドプロファイル

lane 1, 3~12 : SA・SM・TC・ABPC 耐性
60, 50, 7.5 kb
lane 2 : SM・TC・ABPC 耐性, 60, 50 kb
M 1 : *E. coli* NR1
M 2 : *Salmonella* L156



図2 各種PT, 薬剤耐性型とプラスミドファイル

lane 1, 2 : PT1, SA・SM・TC, 60, 7.5 kb
lane 3 : PT1, SM, 60kb
lane 4, 5 : PT5a, 感受性, 88, 60 kb
lane 6, 7 : PT22, SA・SM・TC, ABPC
60, 50 kb
lane 9, 10 : PT22, SM・TC, ABPC
60, 50 kb
lane 8 : PT34, SM, 60, 55 kb
M 1 : *E. coli* NR1
M 2 : *Salmonella* L156

表7 1994年 *S. Enteritidis* 食中毒・細菌検査成績

事例No.	菌陽性者数/被験者数	P T	薬剤耐性型 (株数)	プラスミド (kb)
1	20/23 (患者)	22	SA・SM・TC・ABPC (17)	60, 50, 7.5
		22	SM・TC・ABPC (3)	60, 50
2	5/5 (患者)	5a	感受性 (5)	88, 60
3	14/20 (患者)	1	SM (14)	60
		1/12 (拭き取り)	SM (1)	60
4	5/9 (患者)	4	SM (5)	60
5	4/6 (従業員)	1	SA・SM・TC (3)	60, 7.5
		1	SM (1)	60
6	3/5 (患者)	9	SM (3)	60

4. 事例 5

F 県の修学旅行の小学生が当地のホテルに 10 月 20 日に宿泊し、翌 21 日帰県後に発生した事例である。従って、195 名の患者発生がみられたが、当県ではホテルの従業員の糞便検査と施設の拭き取り検査を実施したのみであった。しかし、従業員 6 名のうち 4 名から SE が分離された。PT はいずれも 1 で同じであったが、うち 3 名から分離された 3 株は SA・SM・TC 耐性で、図 2 (lane 1, 2) に示したとおり 60, 7.5 kb プラスミドを保有していた。ほかの 1 名から分離された SE は SM1 剤耐性で 60 kb プラスミド (図 2 : lane 3) 保有株であり、異なっていた。F 県からの情報で、患者由来株は前者、すなわち PT1, SA・SM・TC 耐性型であることが判明した。このことからこの事例では PT1, SA・SM・TC 耐性, 60, 7.5 kb プラスミド (図 2 : lane 1,2) 保有株が原因 SE であろうと推定した。

5. 事例 6

11 月 1 日に 2 家族 6 名が G 飲食店 (焼肉店) にて会食後、うち 3 名が発症し、この 3 名から SE が分離された事例である。疫学調査の結果、原因食はユッケと推定された。3 株の SE はいずれも SM1 剤耐性, 60 kb プラスミド保有株であった。しかし、PT は PT22, PT5a と同様、山梨県では食中毒事例では過去になかった PT9 であった。

考 察

1994 年も全国で SE による食中毒が多数発生したとの報告⁶⁾がある。その報告によると疫学マーカーの 1 つである PT は PT1 または PT4 が主流であった。しかし新しい PT もみられ、SE の PT の多様化がみられた。

1994年山梨県で6件のSE食中毒があったが、そのうち新しいPTであるPT22による食中毒が1994年3月に発生した。これは山梨県で初めての事例であるばかりでなく、わが国で初のPT22による食中毒事例であった。この事例では20株のSEが分離されたが、うち17株がSA・SM・TC・ABPC耐性を示し、60, 50, 7.5 kbのプラスミドを保有していた。ほかの3株はSM・TC・ABPC耐性、60, 50 kbプラスミド保有でいずれも過去のSE株にはみられなかったパターンであった。原因食は事件の探知が遅かったため特定できなかったが、鶏卵を使用した野菜の卵とじが原因食と推定された。PT22は1993年に養鶏場で生産されたブロイラーから分離されているとの報告⁶⁾もあり、今後鶏肉、ブロイラーにも注意を払う必要がある。PT22のSE食中毒事件の際は、とくにその原因食に注目し、事件の再発を防がねばならない。また、このPT22との食中毒とは別に、山梨県においては初めてのPT5aおよびPT9による食中毒も発生した。うちPT5aによる事例は、SE食中毒が急増した1989年以後全国で1991年に1例あるのみで、非常にまれなPTであった。プラスミドも今までみられなかった88 kb, 60 kbプラスミドを保有していた。これらのことから今後、PT1, PT4の流行PT以外のPTによる流行も十分に考えられ、監視の必要がある。

食中毒の原因菌検査とは別に、感染源を検討するうえでPTだけでなく、事例5にみられたように薬剤耐性型およびプラスミドプロファイルも重要であることが再認識された。すなわち、同じPT1で、SA・SM・TC耐性、60, 7.5 kbプラスミド保有のSEとSM1剤耐性、60 kbプラスミド保有のSEの2通りの菌株が同一事例で分離された場合、感染源となった株を推定するにはPTのみでは不十分であった。従って、PT, 薬剤耐性型、プラスミドプロファイルの3つの疫学マーカーは感染源を推定するうえで必須である。

また、今回のサルモネラ食中毒事例では、お祝いの席での食事ということおよび風邪とみられやすい季節であるということから食中毒の届出が遅れた。検査も日数が大幅に経過した後であった。しかし、サルモネラまたはSE食中毒の特徴でもあるが、患者の排菌が続いたとも考えられSEが分離された。これらのことから、食中毒

発生後の日数が1週間以上経過していても、とくにサルモネラの場合は糞便からの菌の分離は必ず実施しなければならぬことが示唆された。今後、さらにSE食中毒の動向に注目し、再発を防止せねばならないと考える。

謝 辞

稿を終るにあたり、フェージ型別をしていただいた国立予防衛生研究所中村明子先生に深謝いたします。また、食中毒の発生状況のデータ等を提供して下さった県生活衛生課清水正春氏(現、日下部保健所)に感謝いたします。

文 献

- 1) 厚生省生活衛生局食品保健課：食品衛生研究, 43(7), 105~132 (1993)
- 2) 厚生省生活衛生局食品保健課：食品衛生研究, 44(7), 74~100 (1994)
- 3) 金子通治, 植松香星：感染症誌, 64, 612~619 (1990)
- 4) 金子通治：感染症誌, 65, 1533~1540 (1991)
- 5) 金子通治：山梨衛公研年報, 36, 33~37 (1992)
- 6) 国立予防衛生研究所, 厚生省保健医療局エイズ結核感染症課：病原微生物検出情報, 16(1), 1~2 (1995)
- 7) 田村和満：微生物検査必携細菌・真菌検査, 第3版(厚生省監修), p.D43~D54, 日本公衆衛生協会, 東京, 1987
- 8) National Committee for Clinical Laboratory Standard: Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, 3rd Ed., 4 (6), NCCLS, Villanova 1984.
- 9) Kado, C.I. & Liu, S.T.: J. Bacteriol., 145, 1365~1373 (1981)
- 10) 金子通治, 植松香星, 岡田博志：日食微誌, 12, 39~42 (1995)

果 録