

食中毒を起こした *Salmonella* Oranienburg の PFGE 法を用いた疫学的解析

中村恵子¹・池田嘉子²
藤代敏行¹・石北隆一³・馬場純一¹

Epidemiological Analysis of *Salmonella* Oranienburg by PFGE

Keiko NAKAMURA, Yosiko IKEDA, Tosiya FUZISIRO
Ryuichi ISIKITA and Junichi BABA

要 旨

1999年3月に川崎市で起きたイカ菓子による集団食中毒事件¹⁾は、イカ乾製品が *Salmonella* Oranienburg 07群:m, t;- (以下 S.O と記す) に汚染されていたことが明らかとなり、全国的に拡大した。本市においても同様な散発事件が6件発生し、医療機関受診者からも S.O の検出が相次いでみられた。1999年1月頃より検出された S.O と過去検出した本所保存株についてパルスフィールド電気泳動法 (以下 PFGE 法と記す) を実施し、本市における発生について疫学的検討を行った。

1999年1月以降検出された人由来57株はすべて PFGE パターン I a を示し、イカ菓子由来株と一致したことから、イカ菓子による食中毒との関連が強く示唆された。

1998年以前に分離した当所保存していた人および環境由来の17株は、I a と同一パターンを示す株は見られなかったが、類似したパターンが17株中7株と高率に見られた。

供試菌株は20年間に10通りのパターンに分けられ、そのうち3パターン (I b, II, V) は、6年、10年、20年間隔で再び見られた。

Key Words: サルモネラ オラニエンブルグ *Salmonella* Oranienburg, 食中毒 foodborne infection
パルスフィールド電気泳動法 PFGE法, 広域的食中毒事例 diffuse outbreak

I はじめに

サルモネラによる食中毒は、1989年頃より年々増加しており、中でも *Salmonella* Enteritidis による食中毒が大半を占めているが、1999年3月川崎市で起きた集団食中毒事件の原因は、青森県八戸市の水産会社が製造したイカ乾製品のサルモネラ (S.O と リジン陰性の

Salmonella Cester) 汚染であることが判明した。イカ乾製品は、複雑な流通経路を経て加工・小分けされていた為、広域的食中毒事件に発展した。本市においても1999年1月より S.O の検出を認め、4月の報道以降散発事件の届け出が6件あり、医療機関受診者からも本菌の検出が相次いでみられた。

本市における S.O 食中毒事件状況とイカ乾性品との関連を調査するため、PFGE 法を用いた疫学的解析を行った。

また、1998年以前の当所保存株についても PFGE 法を行い若干の知見を得たので報告する。

II 材料および方法

1. 福岡市保健環境研究所 微生物課
2. 福岡市保健環境研究所 微生物課
(現所属: 博多保健所 衛生課)
3. 福岡市保健環境研究所 微生物課
(現所属: 福岡市教育委員会 学校給食課)

供試菌株は、1999 年以降分離した 64 株（人由来 12 株、食品由来 4 株、環境由来 3 株、医療機関分離株の人由来 45 株）および 1998 年以前の当所保存 17 株（人由来 11 株、環境由来 6 株）計 81 株の S.O を用いた。PFGE は、制限酵素に A v r II を使用し、試験法は感染研が示した方法²⁾ に準拠した。

Ⅲ イカ乾製品による食中毒事件の概要³⁾

S.O 食中毒事件原因究明検討委員会報告書³⁾ は以下のとおりである。

1999 年

4 月 2 日 3 月 20 日川崎市において開催された子ども会の行事に参加した子どもら 13 名が食中毒様状を呈し、そのうち 9 名から S.O を検出した旨を川崎市が発表した。

4 月 3 日 本食中毒の原因食品は、八戸市の M 水産（魚介類乾製品製造施設）が製造したイカ乾製品を埼玉県の業者が小分けしたイカ菓子であるとして、川崎市が青森県に調査依頼をした。

4 月 4 日 青森県は、M 水産に係る有症苦情の有無、イカ乾製品の出荷状況、工場の立入調査等を開始した。

4 月 6 日 同県生活衛生課は、M 水産の出荷先を管轄する都・県に対しイカ乾製品の出荷状況調査および残品のサルモネラ検査を依頼した。

4 月 15 日 同課は、再度、全国の都道府県および政令市に、イカ乾製品の調査および回収指導を依頼した。

4 月 22 日 同県が、食中毒事件原因究明検討委員会を発足させた。

5 月 17 日 厚生省発表資料より

「全国の患者発生数は、山梨県を除く 46 都道府県で 1,505 名であり、最も早い発症は、1998 年 12 月 19 日であった。」

Ⅳ 結 果

表 1 に 1999 年以降の S.O 検出状況、表 2 に 1998 年以前の S.O 検出状況を示した。1998 年以前の 5 年間では、半年前、1 年前、3 年 3 ヶ月前、5 年 4 ヶ月前に 1 株ずつ検出しており、頻繁に分離されている血清型ではないが、1999 年に入り 1 月 27 日健康診断者の検便より分離されたのを初めとして 3 月 17 日までに 3 株、4 月 12 日の本市河川水の定点観測でも 1 株検出された。

また、食中毒事件の報道以降は散発食中毒の届け出が

表 1 1999 年以降 S.O 検出状況および P F G E パターン

| 事例 | 検出年月日 | 検体 | PFGE パターン | レノ |
|----|----------------------|--------------------------|-----------|----|
| | 99/ 1/ 27 | 健康者 | I a | ① |
| | 99/ 2/ 18 | 健康者 | I a | ② |
| | 99/ 3/ 17 | 健康者 | I a | ③ |
| | 99/ 4/ 12 | 河川水 | I a | ④ |
| 1 | 99/ 4/ 19 | 有症者(4 歳女) | I a | ⑤ |
| 2 | 99/ 4/ 20 | 有症者(6 歳女) | I a | ⑥ |
| | | 有症者(34 歳父) | I a | ⑦ |
| | | 無症者(9 歳女) | I a | ⑧ |
| 3 | 99/ 4/ 21 | 有症者(6 歳女) | I a | ⑨ |
| 4 | 99/ 4/ 21 | 有症者(11 歳男) | I a | ⑩ |
| 5 | 99/ 4/ 22 | 有症者(10 歳弟) | I a | ⑪ |
| | | 有症者(16 歳姉) | I a | ⑫ |
| | 99/ 4/ 26 | イカ菓子* ¹ | I a | ⑬ |
| | | イカ菓子* ² | I a | ⑭ |
| | | イカ菓子* ³ | I a | ⑮ |
| | | イカ菓子 O7;H-* ⁴ | I a | ⑯ |
| 6 | 99/ 4/ 26 | 有症者(10 歳男) | I a | ⑰ |
| | | | | |
| | 99/ 10/ 4 | 河川水 | V | ⑱ |
| | | 河川水 | VI | ⑲ |
| | 99/ 3/ 13 ～ 5/ 18 | 有症者 4 5 株 (医療機関より) | I a | ⑳ |

注) イカ菓子は同一製品 * 1 賞味期限'99.6.23

* 2 賞味期限'99.7.23

* 3 賞味期限'99.8.7

* 4 賞味期限'99.7.23

6 事例あり、人から 9 株、イカ菓子から 3 株の S.O と O7;H を 1 株を検出した。他都市では、膀胱炎・敗血症等の報告^{4) 5)} も見られたが、本市事例は、いずれも単独または家族内でイカ菓子を喫食したもので、重症例は見られなかった。

これら 1999 年初旬から分離された 16 株とイカ菓子から分離したサルモネラ O7;H 株の P F G E 法を実施したところ、図 1 に示したように泳動パターン (I a) が一致した。H 株は、乾製品という劣悪な環境の中で鞭毛抗原が脱落した S.O と考えられた。

また、同時期に他の医療機関で相次いで分離された 45 株もすべて同一パターン I a を示し、一連の菌株は、イカ乾製品との関連が強く示唆された。(図 1, 図 2, 図 3 に一部掲載)

汚染食品が菓子であったことから、57 名中 53 名 (93 %) が 14 歳以下の児童であった。

図1 PFGEパターン (1)

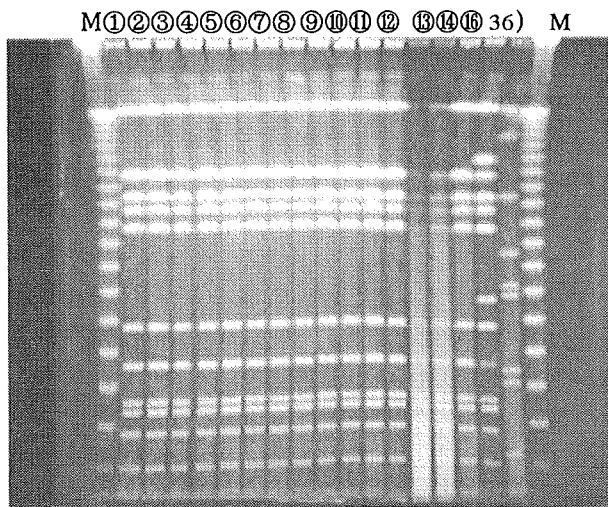
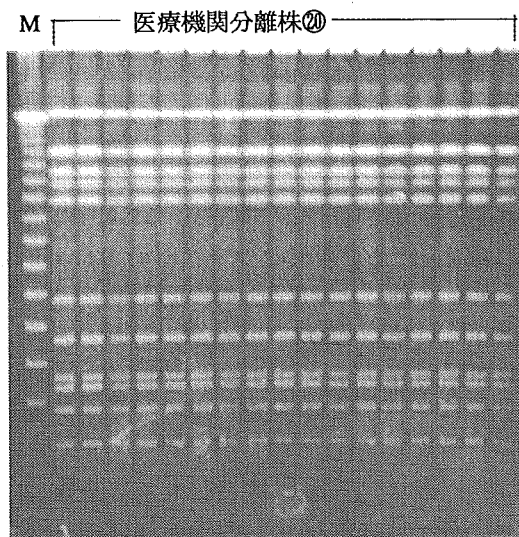


図2 PFGEパターン (2)



本市河川水定点観測においても、図1のレーン④に示すように、4月にはパターンI aを検出した。10月に検出した2定点の2株(図3のレーン⑱⑲)は、それぞれ異なるパターンVおよびVIを示した。

1998年以前に検出されたS.Oは、表2および図4に示したように、I aと同一パターンは見られないが、類似したパターンが17株中7株(パターンI bが4株、パターンI a', I c, I d各1株)と高率に見られた。供試菌株は20年間に10通りのパターンを示し、その内3パターン(I b, II, V)は6年, 10年, 20年間隔で再び見られた。

'86, '87, '95年の人由来株(レーン27), 28), 35))及び'93年河川水由来株(レーン34))は同一パターンI bを示し、9年間に4回と検出頻度も高いI a類似パターン(I aの600kbの所に1バンド加わった形)であった。

'79年7月人由来株(レーン25))と'89年の下水由来4

図3 PFGEパターン (3)

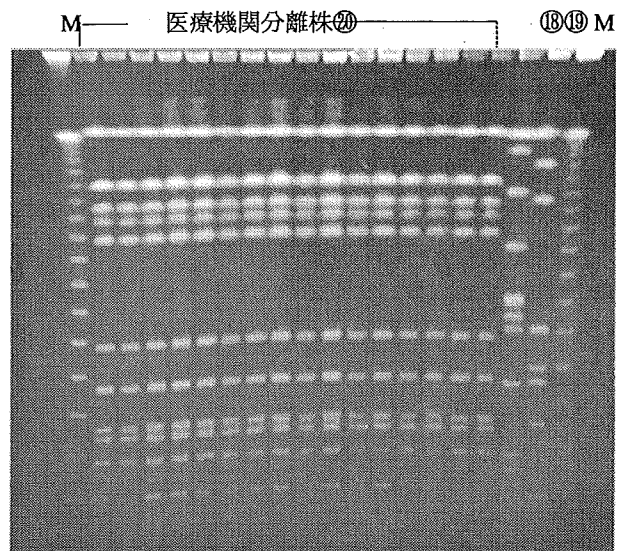


表2 1998年以前S.O検出状況及びPFGEパターン

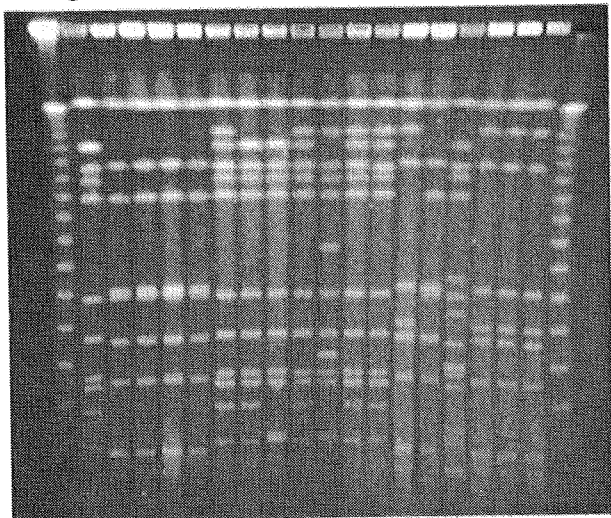
| 検出年月日 | 検体 | PFGEパターン | レーン |
|----------|-------|----------|-----|
| 79/2/15 | 健康者 | V | 21) |
| 79/2/20 | 健康者 | V | 22) |
| 79/4/5 | 有症者 | V | 23) |
| 79/5/10 | 健康者 | IV | 24) |
| 79/7/5 | 健康者 | II | 25) |
| 80/3/27 | 健康者 | III | 26) |
| 86/9/18 | 健康者 | I b | 27) |
| 87/?/? | 有症者 | I b | 28) |
| 88/8/24 | 健康者 | I d | 29) |
| 89/11/13 | 下水A 1 | II | 30) |
| " | 下水A 2 | II | 31) |
| " | 下水A 3 | II | 32) |
| 89/12/9 | 下水A 1 | II | 33) |
| 93/9/17 | 河川水 | I b | 34) |
| 95/10/6 | 有症者 | I b | 35) |
| 97/12/15 | 河川 | I c | 36) |
| 98/6/23 | 健康者 | I a' | 37) |

株は同一パターンIIを示し、'79年人由来3株(レーン21), 22), 23))と'99年10月の河川水(レーン⑱)は同一パターンVを示した。

'98年6月の人由来株(レーン37))は極めてI aに類似しており、90 kbのDNAが欠落している形だが、48 kbにその痕跡が見られたのでパターンI a'とした。イカ菓子との関連が推測されたが、喫食状況等は不明であった。

図4 PFGEパターン(4)

M ⑬30)31)32)33)34)④37)35)29)28)27)26)25)24)23)22)21)M



V 考 察

今回の一連の菌株は、他の報告^{1) 4) 5)}と同様に本市においてもイカ乾製品による diffuse outbreak との関連が強く示唆され、遺伝学的に同一の S.O が人への感染にとどまらず河川の汚染に及んだものと思われる。

PFGE 法は、全国的に疫学解析に用いられ原因究明および発生状況の把握に利用されているが、今後、泳動条件の統一とデータの集積が重要であると思われた。

また、PFGE 法による疫学解析を行う上で、日常的な菌株の収集・保存及びそれに関連した正確な疫学的調査が重要であると思われた。

パターン解析について神戸市環境保健研究所 黒川先生にご指導いただいたことを記して感謝いたします。

文 献

1) 小川正之(川崎市衛生研究所):川崎市で発生したイカ乾燥菓子によるサルモネラ食中毒について:第20回日本食品微生物学会学術総会講演要旨集, A-1, 39, 1999

2) 仲西寿男:わが国におけるパルスネット構築のための緊急研究<サルモネラ>,厚生科学研究補助金(厚生科学特別研究事業)分担研究報告 p 64-67

3) 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報告書,平成11年6月21日

4) 田中 博(愛媛県立衛生研究所):*Salmonella* Oranienburg と *Salmonella* Chester による散发下痢症の分子疫学的解析:第20回日本食品微生物学会学術総会講演要旨集, A-4, 42, 1999

5) 高杉佳子(広島市衛生研究所):広島市における *S.Oranienburg* による散発的食中毒の増加と diffuse outbreak への展開 ;病原微生物検出情報 Vol.20 No.5 (No.231), 7(113), 1999.5