

同一施設で連続して発生したサルモネラ食中毒事例

宮基良子・江渕寿美・吉澤千尋・麻生嶋七美・樋脇弘

福岡市保健環境研究所保健科学課

Consecutive Cases of *Salmonella* Typhimurium Food Poisoning in the Same Facility

Yoshiko MIYAMOTO, Sumi EBUCHI, Chihiro YOSHIZAWA,
Nanami ASOSHIMA and Hiroshi HIWAKI

Environmental Science Division, Fukuoka City Institute for Hygiene and the Environment

要約

2009年8月21日と8月22日に同一施設を個々に利用した2グループ281名中35名が下痢、発熱等の食中毒様症状を呈した。細菌検査の結果、患者便および当該施設の保存食から *Salmonella* Typhimurium が分離された。分離された *S. Typhimurium* 9株についてフェージ型別、薬剤感受性試験およびパルスフィールド・ゲル電気泳動法を実施したところ、これらの株の解析結果はすべて一致し、この2つの事例は同一の汚染源による食中毒であると判明した。

Key Words: 食中毒 food poisoning, サルモネラ *Salmonella*, ネズミチフス *S. Typhimurium*, パルスフィールド・ゲル電気泳動 pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)

1 はじめに

サルモネラ属菌（以下サルモネラ）による食中毒は、国内では代表的な細菌性食中毒であるが、2000年以降、患者数・事件数は明らかに減少している。しかし、1998～2009年の間に発生した患者数500名以上の大規模事例27件のうち、起因菌別にみるとサルモネラは8件ともっとも多く、大規模事例に高い頻度でかかわっていることが推測される¹⁾。すなわちサルモネラは現在でも重要な食中毒起因細菌の1つである。

サルモネラには2,500以上の血清型があるが、地方衛生研究所・保健所で分離されたヒト由来サルモネラ検出数は1989年以来 *Salmonella* Enteritidis が第1位である。1988年まで第1位を占めていた *S. Typhimurium* は、日本では2004年秋田市に引き続き2007年川崎市で発生したスッポンが原因と考えられる事例や、海外では2008年米国およびカナダで発生し、患者530例のうち8例が死亡した汚染ピーナッツバターおよびその関連食品を原因とする事例の起因菌として報告されている²⁾。

本市においても2009年8月21日と8月22日に同一施設を個々に利用した2グループ281名中35名が発症した *S. Typhimurium* による集団食中毒事例を経験したので、その概要を報告する。

2 各事例の概要および検査材料

2.1 事例 A

2009年8月21日12時から福岡市内のホテルにおいて、会社主催で行われたバイキング形式の立食パーティに参加した社員を含む1グループ200名のうち十数名が、同日20時30分頃から、下痢、発熱等の食中毒様症状を呈した。うち1名が医療機関を受診し、検便でサルモネラが検出された。

同年8月28日に連絡を受けた中央区保健福祉センター（以下中央保健所）は調査を実施し、喫食者200名のうち22名が発症していることが判明した（発症率は11%）。症例定義で下痢が必ずあることを条件に絞り込むと平均

潜伏時間は42.7時間、下痢の回数は1回～十数回、その他の症状は、腹痛（72.7%）、発熱（59.1%）等であった。

供試された検体は菌株1検体、患者便12検体、従業員便4検体、施設ふきとり4検体、保存食・食材24検体の合計45検体であった。

2.2 事例B

8月22日12時から事例Aと同一ホテルで披露宴に出席した81名のうち13名が、翌23日7時頃から、下痢、発熱等の食中毒様症状を呈した（発症率は16%）。平均潜伏時間は39.4時間。下痢の回数は数十回と多く、その他の主な症状は、腹痛（76.9%）、発熱（69.2%）であった。

供試された検体は菌株1検体、保存食・食材9検体の合計10検体であった。なお、本事例は事例Aの喫食日翌日に発生していたため、同一原因のサルモネラ食中毒と判断し、患者便の採取は行われなかった。

3 検査方法

3.1 食中毒細菌の分離・同定

食中毒細菌の検査は定法に準じて実施した³⁾。

サルモネラの分離は有症者検便と従業員検便については直接培養および増菌培養にて、施設ふきとりおよび保存食・食材については増菌培養にて分離を試みた。サルモネラの同定はTSI、LIMおよびシモンズクエン酸塩培地における生化学的性状の確認とサルモネラ免疫血清（デンカ生研）を用いて血清型別により行った。

3.2 分離された *S. Typhimurium* 株の疫学解析

分離された *S. Typhimurium* 株の疫学解析には、ファージ型別、薬剤感受性試験およびパルスフィールド・ゲル電気泳動法（以下PFGE）解析を実施した。

ファージ型別は、国立感染症研究所細菌第一部に依頼した。

薬剤感受性試験は寒天平板拡散法（ディスク法）に準じ、Sensi-Disk（BD）を用いて実施した。薬剤はアンピシリン（ABPC）、カナマイシン（KM）、ストレプトマイシン（SM）、テトラサイクリン（TC）、オフロキサシン（OFLX）、クロラムフェニコール（CP）、シプロフロキサシン（CPFX）、ナリジクス酸（NA）、ノルフロキサシン（NFLX）、ホスホマイシン（FOM）およびSXT（ST合剤）の11剤を用いた。

PFGE解析は *Xba* I（BioLabs）と *Avr* II（BioLabs；*Bln* Iのisoshizomer）の2つの制限酵素を使用し、Fingerprinting II（Bio-Rad）を用いて系統樹解析を行った。

表1 *S. Typhimurium* の分離状況

	検体名	検体数	検出数
事例A	患者便	12	6
	従業員便	4	0
	菌株 ^{*1}	1	1
	施設ふきとり	4	0
	保存食・食材	24	0
事例B	菌株	1	1
	保存食・食材	9	1 ^{*2}
	計	55	9

*1: 菌株は医療機関から分与

*2: 刺身盛合せ(カンパチ、カジキマグロ、冷凍イカ)から検出

4 結果および考察

4.1 食中毒細菌の分離

事例Aおよび事例Bとも、*S. Typhimurium* 以外の食中毒細菌は検出されなかった。両事例から搬入された検体からの *S. Typhimurium* の分離状況を表1に示す。

事例Aでは、有症者便6検体から *S. Typhimurium* が検出され、菌株1検体と併せ全ての株の血清型が一致した。このため、中央保健所は、疫学調査等の結果とともに、本事例を当該ホテルが提供した食事が原因の食中毒と断定し、8月31日から9月1日まで2日間の営業停止処分とした。

事例Bでは、保存食1検体から *S. Typhimurium* が検出され、菌株1検体とともに前日に発生した事例Aの分離株と血清型が一致した。この結果および疫学調査より、中央保健所は本事例も当該ホテルが提供した食事が原因のサルモネラを起因菌とする食中毒であると特定した。

事例Bでは、提供日の前日から下処理が行われ冷蔵保存されていた刺身の盛り合わせから原因菌が検出された。事例Aの刺身と寿司ネタは、事例Bの食材と同日に処理されたが、事例Aの保存食からは *S. Typhimurium* は検出されなかった。両事例を比較すると、事例Bのほうが事例Aよりも発症率がやや高く、また下痢の回数も多かった。これは事例Aがバイキング形式で行われたのに対し、事例Bは通常の会席であったため、出席者の原因食品を喫食する確率が高まったこと、あるいは事例Aにおける *S. Typhimurium* の食品汚染が事例Bへ継続し、その間に原因食品中で菌が増殖したことが影響したものと推察された。しかし、中央保健所の疫学調査からは、*S. Typhimurium* に汚染されていた食品やその汚染経路が特定できず、今回のホテルのような大量調理施設にあつては、「大量調理施設衛生管理マニュアル」⁴⁾による自主衛生管理の徹底が望まれた。

4.2 フェージ型別

今回の分離株 9 株のフェージ型は、いずれも RDNC (Reacted but Not Conform) であった。これは現行のフェージのいくつかには感受性があるが、その感受性パターンが既知のフェージ溶菌パターンにあてはまらない型別不能株であることを意味している。

フェージ型 RDNC の *S. Typhimurium* は 2008 年デンマーク、ノルウェーおよびスウェーデンにおける集団発生で報告されている²⁾。デンマークとノルウェーの調査によると、この時の集団発生株は供試した抗菌薬すべてに高い感受性を示し、デンマークでは基礎疾患を有す 75 歳以上の高齢者 4 名が死亡している。

今回の分離株も供試したすべての薬剤に感受性を示し、激しい下痢を主症状としていた。薬剤耐性株とともに、今後注意が必要である。

4.3 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は今回の *S. Typhimurium* 分離株 9 株に加え、過去 (2003~2008 年) に当所で分離した 6 株と合わせ合計 15 株についてその結果を比較検討した。供試菌株の内訳を表 2 に示す。

今回の分離株 9 株 (No.1~No.9) は、いずれも 11 剤すべてに感受性を示した。しかし、過去のヒト由来株である No.10 と No.12 も 11 剤すべてに感受性を示し、今回の分離株と差はなかった。食品由来株については No.11 が ABPC, SM, CP の 3 剤, No.13 が KM, SM, TC の 3 剤, No.14 が ABPC, SM, TC の 3 剤, No.15 が ABPC, KM, TC, CP の 4 剤に耐性を示した。

S. Typhimurium は全国的に多剤耐性化が進んでいる。日本では 1980 年代半ばに ABPC, CP, サルファ剤, TC, SM の 5 剤耐性株が分離されはじめ、1990 年代後半から

表 2 薬剤感受性試験および PFGE 解析に使用した *S. Typhimurium* 株

No.	事例	由来	分離年月日
1	事例 A	菌株	2009/8/28
2	"	患者便	2009/8/28
3	"	患者便	2009/8/28
4	"	患者便	2009/8/28
5	"	患者便	2009/8/28
6	"	患者便	2009/8/28
7	"	患者便	2009/8/28
8	事例 B	菌株	2009/9/2
9	"	保存食	2009/9/2
10	散発事例	患者便	2008/9/19
11	食品収去	豚ミンチ肉	2007/8/6
12	散発事例	菌株	2005/4/14
13	食品収去	鶏むね肉	2005/4/12
14	食品収去	ミンチ肉	2004/7/13
15	食品収去	鶏肉	2003/7/14

はさらに NA 耐性、CPFX 低感受性株が現れた。2000 年代に入ってから CPFX 高度耐性株が報告され、公衆衛生上の深刻な問題として受け止められている⁵⁾。

今回の分離株や過去のヒト由来株には深刻な高度薬剤耐性株は認められなかったが、今後も注視していく必要がある。

4.4 PFGE 解析

薬剤感受性試験と同様の 15 株 (表 2) について、制限酵素 *Xba* I を用いた PFGE 解析結果を図 1 に、*Avr* II を用いた PFGE 解析結果を図 2 に示した。今回の分離株である No.8~No.9 は遺伝子レベルでも同一クローンであり、今回の 2 つの集団発生は同一汚染源に起因する食中毒事例であることが判明した。なお *Xba* I と *Avr* II の識別度については、株数が少ないため評価できなかった。

今回の分離株は、フェージ型では溶菌パターンは全株一致するものの型別不能であり、薬剤感受性試験では 2008 年および 2005 年のヒト由来分離株と同様のパターンを示した。しかし PFGE 解析では事例 A および B とそれ以外の分離株は明らかに違うパターンを示し、疫学解析に非常に有効であることが示された。

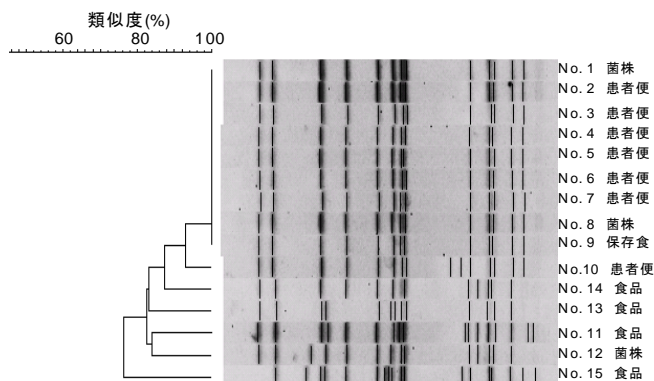


図 1 PFGE 解析結果(制限酵素 *Xba* I)

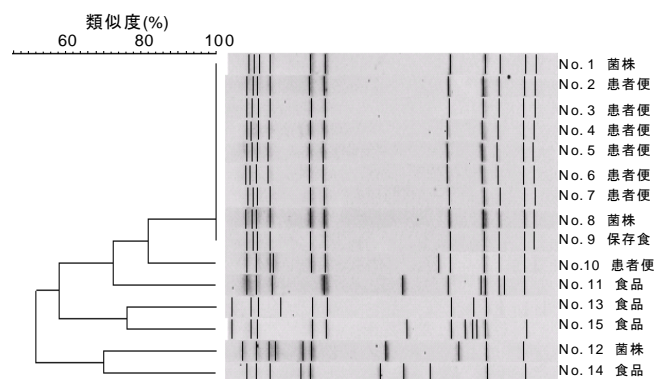


図 2 PFGE 解析結果(制限酵素 *Avr* II)

しかし、PFGE 解析は煩雑な手技を必要とすること、解析までに日数がかかること、画像診断であるため、他機関と検査結果を共有しにくいこと等の問題点もある。前述のデンマーク、ノルウェーおよびスウェーデンにおける集団発生等のように、特有で同一な MLVA (multiple-locus variable number tandem repeat analysis) プロファイルを用い集団発生の調査を開始している例も多く、本市においても広域食中毒に対応するため情報の共有が容易な分子疫学的手法について検討する必要がある。

5 まとめ

2009年8月21日と8月22日に同一施設を個々に利用した2グループ281名中35名が下痢、発熱等の食中毒様症状を呈した。供試された55検体を検査した結果、9検体から *S. Typhimurium* が分離された。分離株についてファージ型別、薬剤感受性試験および PFGE 解析を実施した。ファージ型では溶菌パターンは全株一致するものの型別不能であり、薬剤感受性試験では全株11薬剤すべてに感受性を示す同一パターンであったが、2008年および2005年のヒト由来分離株と同様のパターンを示した。*Xba* I 処理および *Avr* II 処理 PFGE パターンは

いずれも分離株全て一致し、遺伝子レベルにおいても、この2つの事例は同一の汚染源による食中毒事例であると判明した。

謝辞

稿を終えるにあたりファージ型別を実施していただきました国立感染症研究所細菌第一部の諸先生方に深謝いたします。また、患者情報の提供および菌株の収集をしていただきました中央区保健福祉センターの皆様にも感謝いたします。

文献

- 1)五十君静信：サルモネラ食中毒の発生状況とその分析，食品衛生研究，60，7～12，2010
- 2)国立感染症研究所 厚生労働省健康局結核感染症課：病原微生物検出情報，30，203～219，2009
- 3)厚生労働省監修：食品衛生検査指針微生物編，社団法人日本食品衛生協会，2004
- 4)食安発第 0618005 号：大量調理施設衛生管理マニュアル，平成 20 年 6 月 18 日
- 5)泉谷秀昌：サルモネラ菌株の最近の傾向と特色，食品衛生研究，60，13～18，2010