

輸入冷凍海産物が原因と推察された赤痢集団食中毒事例

尾崎延芳・眞子俊博・藤丸淑美・宮尾義浩・財津修一
川崎恵・江淵寿美・吉田眞一

福岡市保健環境研究所保健科学課

An Outbreak of *Shigella sonnei* Food Poisoning , Probably Caused by Import frozen seafood

Nobuyoshi OZAKI , Toshihiro MAKO , Yoshimi FUJIMARU , Yoshihiro MIYAO ,
Syuichi ZAITSU , Megumi KAWASAKI , Sumi EBUCHI
and Shinichi YOSHIDA

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

要約

2008年7月中旬から8月下旬までの間に、*S. sonnei*による集団感染事例（3事例）、散发事例（2事例）及び*S. flexneri*による散发事例が2例発生した。集団感染事例については、原因施設として飲食店が関与しており、赤痢菌による食中毒と断定された。この期間の*S. sonnei*の感染者は38名、*S. flexneri*3b及び*S. flexneri*2aがそれぞれ1名ずつであった。*S. sonnei*の感染者から分離された当該菌の代表株についてパルスフィールド・ゲル電気泳動（PFGE）を実施したところ、全て一致した。また、これら集団感染事例の原因施設において使用食材を詳細に調査し、さかのぼり調査を行った結果、輸入冷凍海産物が原因食材として強く疑われた。また、当該輸入冷凍海産物は全国約20の自治体に流通していたことも判明し、本市以外の自治体から報告された症例についても、国立感染症研究所によるPFGEが一致した。

Key Words : 輸入冷凍海産物 import frozen seafood , 食中毒 food poisoning , ソンネ菌 *Shigella sonnei* , パルスフィールド・ゲル電気泳動 Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE)

1 はじめに

WHOによると細菌性赤痢の推定感染国はアジアを中心とし、年間約9,000万人が感染し、約40万人が死亡していると推定されている。報告されている血清群別赤痢菌件数は*S. sonnei*が最も高く、次いで*S. flexneri*が占めている。近年、海外渡航歴がなく国内感染と思われる赤痢患者の増加がみられ、飲食店を介した赤痢菌による食中毒事例の集団発生事例が届出されるようになってきた。食品衛生法施行規則が改正された1999年以降2000年から2004年まで赤痢菌による食中毒事例は全国で毎年1件ずつの届出がなされている。¹⁾

本市においても2008年7月19日から8月27日の短気間に、海外渡航歴がない細菌性赤痢患者が相次ぎ、複数の集団食中毒事例が発生したので、その概要を報告する。

2 各事例の概要及び検査方法

2.1 各事例の概要

集団及び散发事例を含め細菌性赤痢事例は7事例に及んだ（表1）。その流行曲線を図1に示した。福岡市では、感染源を特定するための疫学調査、接触者検便、施設のふき取りおよび食品等の検査を行うとともに、赤痢

対策会議を設置し、国立感染症研究所実地疫学専門家コース（以下 FETP と略）の派遣要請を行い、情報の共有化を図った。分離された赤痢菌については、その代表株について薬剤感受性試験及びパルスフィールド・ゲル電気泳動法（以下 PFGE と略）による遺伝子解析を行った。

2.1.1 【事例 1】（集団事例 1）

2008 年 7 月 18 日に博多区の飲食店で喫食した 1 グループ（テーブルマナー教室）35 名のうち 23 名が、翌 7 月 19 日から、下痢、腹痛、発熱等の症状を呈し、うち 11 名及び従業員 1 名の計 12 名から *S. sonnei* が検出された。

2.1.2 【事例 2】（散発事例 1）

2008 年 7 月 30 日に市内医療機関から、南区在住の女性から *S. sonnei* を検出した旨の届出があった。患者は 7 月 27 日に発症し、後日、同居家族 1 名（7 月 31 日発症）からも当該菌が検出された。同居家族については発症状況などから、家族内での二次感染が推定された。

2.1.3 【事例 3】（散発事例 2）

2008 年 8 月 5 日、茨城県の医療機関から赤痢（*S. sonnei*）患者 1 名の発生届出があった。患者は西区在住の女児で、茨城県へ旅行中の 7 月 30 日に M 市で発症した。同居家族共通食喫食者に感染者は確認されなかった。

2.1.4 【事例 4】（散発事例 3）

2008 年 8 月 12 日、市内医療機関から赤痢（*S. flexneri*3b）患者 1 名の発生届出があった。患者は 8 月 6 日に発症、同居家族及び共通食喫食者に感染者は確認されなかった。

2.1.5 【事例 5】（集団事例 2）

2008 年 8 月 9 日、市内の医療機関から赤痢（*S. sonnei*）患者発生の届出があった。患者は 8 月 5 日に東区の居酒屋で会食し、8 月 7 日に発症した。一緒に喫食した友人 5 名中 2 名も発症し、計 3 名から同菌が検出された。

2.1.6 【事例 6】（集団事例 3）

2008 年 8 月 18 日、市内の飲食店利用者から「下痢、発熱等の症状を呈し、入院している。」との連絡があった。これらの有症者は、8 月 14 日、8 月 15 日の両日に西区飲食店の出前を喫食した 4 グループ（A、B、C、D）39 名のうち 16 名で、8 月 15 日から下痢、発熱等の症状を呈していた。そのうち医療機関を受診した 4 名から *S. sonnei* が検出された。その後の調査により、当該施設では探知グループ以外に約 80 件（816 名）の出前をしていたことが判明し、管轄保健所では感染症法第 17 条第 1 項の規定により、出前料理を喫食した住民に対して健康診断のお知らせを発行するとともに、健康相談窓口を開設し、健康診断の受診を勧告した。これにより、新たに 89 名（計 105 名）の有症者が確認され、最終的には探知グループ及び他の出前グループを併せて計 20 名から *S. sonnei* が検出された。

2.1.7 【事例 7】（散発事例 4）

2008 年 8 月 30 日、市内の医療機関から赤痢（*S. flexneri*2a）患者 1 名の発生届出があった。患者は 8 月 27 日に発症（腹痛、水様下痢、しぶり腹）、同居家族等に感染者は確認されなかった。

表 1 事例一覧

事例 No.	発症日	発生地域	血清型	喫食日	原因施設	喫食者数	有症者	菌陽性者数				
1	7 月 19 日	博多区	<i>S. sonnei</i>	7 月 18 日	飲食店	35	23	12				
2	7 月 27 日	南区	<i>S. sonnei</i>	不明	不明	不明	2	2				
3	7 月 30 日	西区	<i>S. sonnei</i>	(7 月 28 日)	(飲食店)	10	1	1				
4	8 月 6 日	中央区	<i>S. flexneri</i> 3b	不明	不明	3	1	1				
5	8 月 7 日	西区	<i>S. sonnei</i>	8 月 5 日	飲食店	5	3	3				
6	8 月 15 日 ~ 16 日	市内全区	<i>S. sonnei</i>	8 月 14 日 ~ 15 日	飲食店	855	105	20				
									A group	(23)	(6)	(4)
									B group	(8)	(6)	(5)
									C group	(3)	(2)	(2)
									D group	(5)	(2)	(1)
									その他	(816)	(89)	(8)
7	8 月 27 日	博多区	<i>S. flexneri</i> 2a	不明	不明	3	1	1				

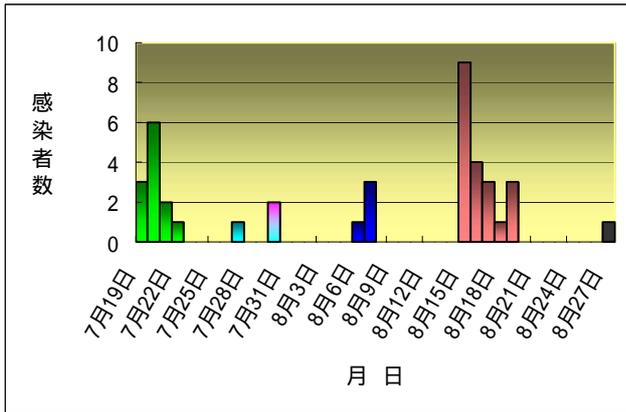


図1 流行曲線(2008年,7~8月)

2.2 検査方法

検体別検査状況を表2に示した。

表2 検体別検査状況

検体別	集団事例1	集団事例2	集団事例3
施設のふき取り	7	4	6
従業員検便	13	9	16
食材等	4	7	12
活魚水槽水	0	0	6
輸入冷凍海産物	0	0	44
喫食者・接触者等検便	558		

散発事例を含む

2.2.1 検査材料

それぞれの集団事例の原因施設のふき取り17件、従業員検便38件、原因施設で使用されていた食材(参考品を含む)23件、活魚の水槽水等6件、輸入冷凍海産物44件(原因施設で提供されたものと同一ロット品2件、市内の業務用大型店舗の流通品15件及び輸入者の在庫品27件)及び喫食者・接触者等558件(散発事例を含む)について赤痢菌の検査を実施した。

2.3 赤痢菌の分離・増菌培地

赤痢菌の分離培養には、Salmonella-Shigella 寒天培地(極東製薬)、Desoxycholate-Hydrogen Sulfide-Lactose 寒天培地(日水製薬)、Maconkey 寒天培地(日水製薬)、Hektoen-Enteric 寒天培地(BD)を用い、増菌培養には、Tryptic Soy Broth(以下TSBと略;BD)、Buffered Peptone

Water(以下BPWと略;OXOID)およびノボピオシン加Shigella Broth(以下SBと略;OXOID)を用いた。

2.3.1 ヒト糞便からの赤痢菌分離

シードスワブ(COPAN)により採便し、直接分離培養(37℃,18~24時間)及びTSBにて増菌培養(37℃,6時間)を行った。増菌培養液については、invE遺伝子の確認をPCR法(TaKaRaキット)により行った。invE遺伝子を確認し、なおかつ、直接分離培養で赤痢菌を確認できなかったものについては、シードスワブからの再分離と増菌培養液からの分離培養を試みた。

2.3.2 食品等からの赤痢菌分離

食品等については、直接分離培養に加え、一次増菌と二次増菌を行い、それぞれの増菌液から分離培養とPCR法によりinvE遺伝子の検出も行った。食品の一次増菌は3通りの方法で行った。すなわち、食品25gに9倍量のBPW、食品150gに2倍量のBPWを加えて、35℃で18~24時間培養するとともに、食品25gに9倍量のTSBを加え、35℃で6時間培養した。水は検体3Lを孔径0.45μmのメンブランフィルターで濃縮濾過したもの、ふき取り液は1mLをそれぞれ9倍量のTSBを加え、一次増菌(35℃,18~24時間)を行った。二次増菌はSBで嫌気培養(44℃,18~24時間)により行った。また、一部の食品に関しては、免疫磁気ビーズ法(自家製)も併用した。

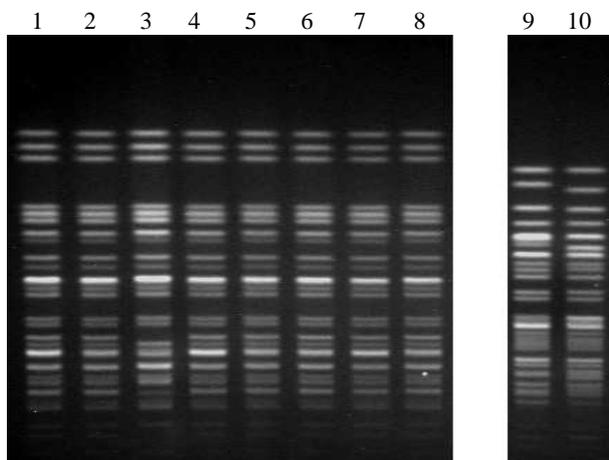
2.4 赤痢菌の同定及び解析

分離培養後の疑わしいコロニーは、Triple Sugar Iron 寒天培地(日水製薬)、Lysine Indole Motility 寒天培地(日水製薬)にてスクリーニング後、赤痢菌免疫血清(デンカ生研)を用いて血清型別及びPCR法(TaKaRa EX Taq, TaKaRa 特殊細菌検出用 Primer Set INV-1,INV-2,IPA-1,IPA-2)により、invEとipaH遺伝子を確認し、さらに糖分解試験等による生化学的性状の追加試験を行った。また、分離された赤痢菌の代表株について、クロラムフェニコール(CP)、カナマイシン(KM)、ストレプトマイシン(SM)、ノルフロキサシン(NFX)、アミノペニシリン(ABPC)、フォスフォマイシン(FOM)、ナリジクス酸(NA)およびテトラマイシン(TC)の8薬剤について薬剤感受性試験(Sensi-Disk;BD)と制限酵素XbaI(BioLabs)を用いたPFGEによる遺伝子解析を実施した。

3 結果および考察

今回、2008年7月から8月にかけての集団事例及び散発事例における喫食者・接触者等558名中40名から赤痢菌が分離された。しかしながら、施設のふき取り、従業員、食材等の環境からは赤痢菌は検出されなかった。

分離された赤痢菌は、散発事例の *S. flexneri*3b, *S. flexneri*2a を除いて他の38名は全て *S. sonnei* (D群: 相) と同定され、PCR法により、*invE*, *ipaH* 両遺伝子を確認した。今回の一連の事例から分離された *S. sonnei* 株は Ewing et al.(1971)²⁾ の生物型分類では ONPG (+), マンニット (+), D-キシロズ (-), オルニチンデカルボキシラーゼ (+) の生物型に分類されたが、特記すべき性状として、 α -グルクロニダーゼを活性化しない菌株であることが判明した。通常、*S. sonnei* は、 α -グルクロニダーゼ活性を示すことが知られているが、濱崎ら³⁾ が同時期に発生した食中毒事例から分離した *S. sonnei* の菌株も α -グルクロニダーゼ活性を示さず、しかも PFGE パターンが本市事例と一致した。したがって、比較的珍しい性状を示す *S. sonnei* が福岡市とその近隣県で分離されたことは、公衆衛生上、注目されることである。



- レーン 1 : 【事例1】 集団事例1 (*S. sonnei*)
- レーン 2 : 【事例2】 散発事例1 (*S. sonnei*)
- レーン 3 : 【事例3】 散発事例2 (*S. sonnei*)
- レーン 4 : 【事例5】 集団事例2 (*S. sonnei*)
- レーン 5-8: 【事例6】 集団事例3 (*S. sonnei*)
- レーン 9 : 【事例7】 散発事例4 (*S. flexneri*2a)
- レーン 10 : 【事例4】 散発事例3 (*S. flexneri*3b)

図2 PFGEパターン(2008年,7~8月)

各事例から分離された *S. sonnei* の代表株21株について薬剤感受性試験を行った結果、いずれの菌株も SM, ABPC, NA の3薬剤に耐性の同一パターンを示した。また、これらの代表株8株についても同一の PFGE パターンを示したことから(図2)、本事例は同一感染源の可能性が示唆された。

各管轄保健所では、有症者等の喫食状況及び集団事例の原因施設の使用食材を詳細に調査し、仕入れ先等のさかのぼり調査を実施した。その結果、事例1, 事例5および事例6の集団事例原因施設の全てに同一業者が輸入した冷凍海産物が納入されていたことが判明し、喫食調査から共通食として輸入冷凍海産物が浮上した。また、事例2および事例3の散発事例についても、喫食状況は不明であるが利用施設には当該食品が納入されていた。

一方、FETPのコホート研究においても、輸入冷凍海産物の喫食により発症した相対危険度は統計学的に有意に高い結果が得られ、解析疫学からも当該食品が原因食材であることが示唆された。

この輸入冷凍海産物は、同一業者により輸入され(2008年2月5日)、福岡市中央鮮魚市場に入庫され、全国約20の自治体に流通しており(2008年3月28日)、他都市においても本市事例の数ヶ月前から同時期にかけて、赤痢菌散発事例として複数の自治体から報告されていた。

今回、複数の飲食店を原因とした事例は、共通食材として特定輸入日の輸入冷凍海産物が判明し、喫食歴も確認されたが、輸入冷凍海産物を含む食品等の検査からは赤痢菌は検出されず、原因の特定には至らなかった。食品等から同菌を検出できなかった理由として、赤痢菌が海水や凍結等の環境ストレスにより生きているが培養できない状態、Viable But Non-Culturable (VBNC) に誘導され、人工培養基では培養不能であった可能性も示唆されるが、本来、細菌性赤痢は少ない菌量で発症することが知られている。仮に輸入された冷凍海産物全てが大量の同菌に汚染されていたとすれば、必然的にもっと多数の患者発生があったと考えられ、輸出元の加工場での衛生管理や洗浄・殺菌の不備等により一部のロット品が少数の菌で汚染されていた可能性は否めない。今後、食品からの効率的な赤痢菌検出法の構築が必要であろうと考えられた。

なお、福岡市以外の複数の自治体から報告され、国立感染症研究所に送付された菌株は福岡市の事例と PFGE

が一致したが、福岡市事例の発生以前の事例も含まれていたこともあり、各自治体での事例の検証は困難で、汚染の状況等については不明であった。

これら複数の自治体には福岡市事例での共通食材である輸入冷凍海産物が当該原因施設に納入、または、発生地域に流通していたことは明らかであり、行政区単位では散発事例、全体としては広域・散発的発生（Diffuse Outbreak）が確認され、情報共有の重要性を示した例であり、かつ、国全体への寄与が多大であったと思われる。

4 まとめ

各事例から分離された *S. sonnei* の PFGE パターンは一致し、同一感染源が推定された。発症者に供された共通食材は輸入冷凍海産物であり、FETP による疫学調査においても同食品が感染源であることが示唆された。

謝辞

情報提供、菌株の分与および PFGE 画像を提供していただきました鹿児島県環境保健センター、長崎県衛生公害研究所および福岡県保健環境研究所の皆様には深謝いたします。また、詳細な喫食調査、さかのぼり調査の結果、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東区、博多区、中央区、南区、城南区、早良区、西区の各保健福祉センター、保健福祉局食品安全推進課および保健予防課の皆様には感謝いたします。

文献

- 1) 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，27，61～63，2006
- 2) 坂崎利一，田村和満：腸内細菌（下巻）（第3版），237，近代出版（東京），1992
- 3) 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，29，343～344，2008