

山梨県の散発下痢症患者由来サルモネラと *S. Enteritidis* 食中毒事例 (1998年)

野田 裕之 浅川 洋美 泉谷 秀昌* 金子 通治

Salmonella Strains Isolated from Patients with
Sporadic Diarrhea and Food Poisoning Due to
Salmonella serovar Enteritidis in Yamanashi
Prefecture (1998)

Hiroyuki NODA, Hiroyoshi ASAKAWA, Hidemasa IZUMIYA
and Michiharu KANEKO

はじめに

サルモネラによる食中毒, 下痢症が1989年以降全国的に多発し、公衆衛生上問題となっている。その原因として鶏卵のサルモネラ・エンテリティディス (*Salmonella* serovar Enteritidis, 以下SEと略す) 汚染が以前から指摘され¹⁾, 卵とSEについての調査研究が多数報告されているが, SE食中毒は依然として増加傾向にある。このような状況下, 食品衛生調査会から厚生大臣に「卵によるサルモネラ食中毒の防止について」の意見具申がなされ, 1998年11月25日に食品衛生法施行規則および食品, 添加物等の規格基準の一部が改正された。これにより, 鶏の卵の表示基準, 液卵の規格基準等が定められ, あわせて, 「卵選別包装施設の衛生管理要領」「家庭における卵の衛生的な取扱い」も策定され, 卵によるサルモネラ食中毒の防止体制が整備されつつある。

当所では, サルモネラ食中毒を予防するため, 1985年以降山梨県内のサルモネラ症の原因血清型を中心に分離株の諸性状を検討し²⁻⁷⁾, 疫学的基礎資料を提供してきたが, 本県でもSEによる食中毒, 下痢症が多く発生し, サルモネラ症の70%以上を占めている。

今回, 1998年に山梨県内で分離された散発下痢症株について, 月別分離頻度, 患者の年齢・性別および血清型, 薬剤感受性, フェージ型, プラスミドプロファイルなどの疫学マーカーを検討し, あわせてSE集団食中毒2事例を疫学および細菌学的に検討したので報告する。

材料および方法

1. 散発下痢症の供試菌株

1998年1月から12月までの1年間に山梨県内の7つの医療・検査機関からサルモネラの同定依頼を受けた193株を供試した。

2. 食中毒原因菌の検査方法

常法⁸⁾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, とくに食品からの分離にはEEMブイヨン培地も使用した。

3. サルモネラの同定法

サルモネラの同定は常法⁸⁾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を同定するとともに, その血清型を決定した。

4. 薬剤感受性試験法

NCCLS法の規格に準拠し, 一濃度ディスク法 (BBLセンシディスク) によって測定した。使用薬剤はサルファ剤 (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), スルファメトキサゾールとトリメトプリムの合剤 (ST), ノルフロキサシン (NFLX) およびナリジクス酸 (NA) の12薬剤である。

5. プラスミドプロファイル

KadoとLiuの方法⁹⁾に準拠し, 実施した。プラスミドDNAを抽出後, 0.65%のアガロースを使用し,

* : 国立感染症研究所

表1 サルモネラ 193 株の血清型と月別分離状況 (1988)

血清型	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	合計
S.Enteritidis	13	3	4	3	5	11	17	25	17	24	15	7	144
S.Typhimurium				1	5	2	2	2	3			1	16
S.Thompson	1			1			3						5
S.Infantis	1	1		1					1	1			5
S.Saintpaul					1				1				2
S.Hadar								1	1				2
S.Mbandaka								1		1			2
S.Give		1											1
S.Havana				1									1
S.Champaign				1									1
S.Orion						1							1
S.Schwarzengrund								1					1
S.Haifa								1					1
S.Paratyphi B								1					1
S.Newport								1					1
S.Braenderup								1					1
S.Montevideo									1				1
S.Litchfield									1				1
S.Chester										1			1
S.Agona											1		1
O7 : H -		2				1							3
O4 : d : -												1	1
合計	15	7	4	8	11	18	19	34	25	27	16	9	193

約2時間30分電気泳動してエチジウムブロマイドで染色後、紫外線照射下で撮影し、プラスミドを観察した。

6. フェージ型別

SEのフェージ型(PT)別は国立感染症研究所・細菌部に依頼した。

7. パルスフィールド電気泳動法(PFGE)によるDNA分析

和田ら¹⁰⁾の方法により、染色体DNAを制限酵素Xba I, Bln Iにて切断し、切断されたDNA断片を電気泳動法によってパターン分析した。

結果および成績

1. 散発下痢症由来サルモネラ

(1) 分離株の血清型と月別分離株数

1998年に山梨県内で分離された散発下痢症由来のサルモネラは193株であった。それらは表1に示すように20種類の血清型に分類された。最も多く分離されたのは1989年以降の流行血清型であるSEで、144株と全体の74.5%を占めた。次いでS.Typhimuriumが16株8.2%であった。13種類の血清型は1株のみの分離であった。S.GiveとS.Orionのヒトからの分離は、山梨県ではこの年が初めてであった。

月別分離株数は、表1のように8月が34株17.6%と最も多く、次いで10月27株14.0%、9月25株13.0%と続き、1996年⁶⁾1997年⁷⁾と比較し、10月の分離率が高

かった。また、以前の成績⁵⁻⁷⁾と異なり、1月の分離数が15株7.8%と多く、うち13株がSEであった。

(2) 年齢・性別の分離頻度

サルモネラが分離された193人の年齢・性別の分離頻度を表2に示した。0~9歳までの乳幼児、小児で最も多く分離され、77人39.9%であった。次いで、10~19歳が39人20.2%で、19歳以下の年齢層で約60%を占めた。20歳以上の年齢層では、前報⁷⁾と同様年齢が高くなるにつれて分離頻度は低くなる傾向にあった。性別では女104人、53.9%に対し男89人、46.1%と女からの分離例が多かった。年齢群で分離数の多かった0~9歳の乳幼児、小児の1歳ごとの分離頻度を表3に示した。1~5歳での分離数が多く、それぞれ77人の10%以上であった。性別は、女が43人、55.8%と女の割合が高かった。

表4 分離株の血清型別耐性率(1998)

血清型	分離株数	耐性株数	耐性率(%)
S. Enteritidis	144	111	77.1
S. Typhimurium	16	9	56.3
S. Infantis	5	3	60
S. Hadar	2	2	100
S. Haifa	1	1	100
S. Schwarzengrund	1	1	100
S. Braenderup	1	1	100
Sensitive	23	0	0
合計	193	128	66.3

表2 サルモネラ散発下痢症患者の年齢・性別分布

性	年 齢 群 (歳)									合計(%)
	0-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	>80*	
男	34	22	10	6	8	3	5	0	1	89 (46.1)
女	43	17	9	6	11	6	5	6	1	104 (53.9)
合計	77	39	19	12	19	9	10	6	2	193
(%)	(39.9)	(20.2)	(9.8)	(6.2)	(9.8)	(4.7)	(5.2)	(3.1)	(1.0)	

* 最高齢：男 81 歳，女 88 歳 (いずれも Enteritidis)

表3 サルモネラ散発下痢症患者 9 歳以下の年齢・性別分布

性	年 齢 (歳)										合計(%)
	0*	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
男	2	3	3	4	6	5	5	2	2	2	34 (44.2)
女	4	5	7	5	8	4	2	4	1	3	43 (55.8)
合計	6	8	10	9	14	9	7	6	3	5	77
(%)	(7.8)	(10.4)	(13.0)	(11.7)	(18.2)	(11.7)	(9.1)	(7.8)	(3.9)	(6.5)	

* 最低齢：男 7 カ月児，女 6 カ月児 (いずれも Typhimurium)

(3) 分離株の薬剤感受性

表4に分離株の血清型別耐性率を示した。1998年に分離された193株のうち、使用した12種類の薬剤のいずれかに耐性を示したのは、128株で、耐性率は66.3%であった。SEは144株のうち111株、77.1%が耐性で昨年⁷⁾と比べ耐性率が低下していた。また、例年耐性率の高いS.Typhimuriumも56.3%と低下していた。

(4) 耐性株128株の耐性型と血清型

表5に耐性株128株の耐性型と血清型を示した。SM1剤耐性型が103株と80.5%を占めたが、うち101株がSEであった。これをSEの耐性型としてみると表4のSE耐性株数111株のうち、SM1剤耐性が101株91.0%とほとんどであった。また、S.Typhimuriumに5剤、7剤耐性など多剤耐性型がみられた。

(5) SEのプラスミドプロファイルとフェージ型

散発下痢症から分離されたSE144株について、プラスミドプロファイルとフェージ型を検討した。

SEのプラスミドは、表6に示したように60kb単独保有が127株、88.2%とほとんどであったが、他のプラスミドプロファイルが、保有せずを含めて8種類と昨年の成績⁷⁾と比較して多種であった。

表7にSEのフェージ型の分布を示した。PT4が108株75%と多く、次いでPT1が17株11.8%と2つの型でほとんどを占めた。これは1996年、1997年⁷⁾と同様の傾向であった。また、型別不能のUT(溶菌なし)、RDNC(溶菌するが該当なし)も計16株と多かった。

表5 耐性株(128株)の耐性型と血清型

耐性型	株数(%)	血清型(株数)
SM	103 (80.5)	S. Enteritidis (101) S. Typhimurium (2)
TC	1 (0.8)	S. Typhimurium (1)
SA・SM	2 (1.6)	S. Enteritidis (2)
SM・TC	2 (1.6)	S. Hadar (2)
SA・ABPC	1 (0.8)	S. Enteritidis (1)
SA・TC	1 (0.8)	S. Typhimurium (1)
SA・SM・TC	5 (3.9)	S. Enteritidis (5)
SA・TC・ST	1 (0.8)	S. Haifa (2)
SA・SM・TC・KM	4 (3.1)	S. Infantis (3) S. Enteritidis (1)
SA・SM・CP・ABPC	1 (0.8)	S. Enteritidis (1)
SA・TC・ABPC・ST	1 (0.8)	S. Braenderup (1)
TC・CP・ABPC・NA	1 (0.8)	S. Typhimurium (1)
SA・SM・TC・CP・ABPC	1 (0.8)	S. Typhimurium (2)
SA・SM・CP・ABPC・NA	1 (0.8)	S. Schwarzengrund (1)
SA・SM・TC・CP・KM・ABPC・ST	2 (1.6)	S. Typhimurium (2)
SA・SM・TC・CP・ABPC・NA・ST	1 (0.8)	S. Typhimurium (1)

表6 S.Enteritidis(144株)のプラスミドプロファイル

プラスミドプロファイル(kb)	株数	%
60	127	88.2
94.5 60	4	2.8
60, 7.5	3	2.1
100, 60	1	0.7
60, 50	1	0.7
7.5	3	2.1
55	1	0.7
94.5	1	0.7
-	3	2.1

(6) 3種類の疫学マーカーのパターン

表8にSEの疫学マーカーであるフェージ型、薬剤耐性型、プラスミドプロファイルの相互関係と株数を示した。最も多いパターンはPT4, SM1 剤耐性, 60 kb プラスミド単独保有で80株55.6%であった。次いでPT4, 薬剤感受性, 60 kb プラスミド単独保有で26株18.1%であった。これに対して、以前⁴⁾多かったPT1, SM1 剤耐性, 60 kb プラスミド保有とPT1, SA・SM・TC 耐性, 60 kb, 7.5 kb プラスミド保有は減少していた。

2 老人ホーム給食による食中毒(事例1)

(1) 食中毒の概要

1998年8月17日(月)に、J老人ホームの嘱託医から多数の入所者が下痢、発熱等の症状を呈している旨の連絡が葦崎保健所にあった。

疫学調査の結果、摂食者118名中42名(入所者39名、職員3名)が食中毒症状を呈していた。患者の共通食品は老人ホームの給食しかないため、給食が原因食品と推定された。表9に概要を示した。老人ホームの入所者は124名、職員は78名である。

(2) 患者の症状

入所者患者の年齢は70歳から103歳まで、高齢者で寝たきりの人も多く、症状の把握が困難であり不明な点も多いが、下痢がほとんどの人にみられ、発熱は38℃以上の高熱の患者が多く、ほかに嘔吐も見られた。

初発患者は8月15日午後8時に1名、以後患者発生は午後10時に1名、16日午前12名、16日午後14名、17日午前7名、17日午後1名、不明6名であった。

(3) 原因食品および病因物質

疫学調査の結果から、表10に示した8月14日と15日の給食を細菌検査に供した。

検査の結果、8月15日の夕食の「天ぷら」と「かぼちゃと青唐のくれ煮」からSEが分離された。

また、患者25名および調理員6名の糞便検査を実施した結果、患者25名全員からSEが分離された。

これらのことから原因食品は「天ぷら」と「かぼちゃと青唐のくれ煮」で、病因物質はSEと決定した。

(4) 分離SE株の疫学マーカーとDNA切断パターン分析

分離された27株のSEはいずれもPT4, SM1 剤耐性, 60 kb プラスミド単独保有株であった。図1には制限酵素 *Bln* I で切断した結果を示した。レーン1~12はこの事例の菌株の切断パターンであり、1~10が患者株、11, 12が食品株である。レーン13~17は同時期に散发下痢症から分離された同じ疫学マーカー株、レーン18は1997年山梨県死亡事例株である。食中毒株と散发下

表7 S.Enteritidis (144株)のフェージ型

フェージ型	株数	%
4	108	75.0
1	17	11.8
21	2	1.4
5a	1	0.7
UT	7	4.9
RDNC	9	6.3

表8 S.Enteritidis (144株)のフェージ型、薬剤耐性型、プラスミドプロファイル

フェージ型	薬剤耐性型	プラスミドプロファイル(Kb)	株数(%)
4	SM	60	80 (55.6)
	Sensitive	60	26 (18.1)
	SA・SM	60	1 (0.7)
	SA・SM・CP・ABPC	94.5, 60	1 (0.7)
1	SM	60	7 (4.9)
	SA・SM・TC	60, 7.5	3 (2.1)
	SA・SM・TC	7.5	2 (1.4)
	SA・SM・TC・KM	7.5	1 (0.7)
	SA・SM	100, 60	1 (0.7)
21	SM	55	1 (0.7)
	Sensitive	60	2 (1.4)
	SM	60	2 (1.4)
	Sensitive	94.5, 60	1 (0.7)
5a	SM	60	5 (3.5)
	Sensitive	60	1 (0.7)
UT	SM	—	1 (0.7)
	Sensitive	60	1 (0.7)
RDNC	SM	60	3 (2.1)
	SM	94.5, 60	2 (1.4)
	SM	94.5	1 (0.7)
	SM・ABPC	60, 50	1 (0.7)
	Sensitive	—	2 (1.4)

表9 J老人ホーム食中毒の概要

発生日	1998年(H10)8月15日
発生場所	N町J老人ホーム
摂食者数	118名
患者数	42名(発症率35.6%)
死者数	0名
原因食品	天ぷら、かぼちゃと青唐のくれ煮
病因物質	サルモネラ (S.Enteritidis;PT4,SM,60kb)
原因施設	老人ホーム給食施設

表10 J老人ホーム給食の献立

月日	メニュー
8月14日(金)	朝食 カボチャのかゆ 普通牛乳 長芋とほたての和えもの こうし塩からとレモン
	夕食 煮貝ごはん 甘鯛の西京漬やきレモンおろし 野菜の煮しめ
15日(土)	朝食 ほうれん草のお浸し モロヘイヤのぞうすい 普通牛乳 白菜の漬物
	夕食 あさりと小松菜の和えもの ごはん 天ぷら かぼちゃと青唐のくれ煮

痢症株、死亡事例株を比較すると食中毒株は1～2本のバンドの違いはあるもののほとんど同一のパターンであった。また、散发下痢症株のレーン14, 15が食中毒株のパターンとは違うが、同一のパターンであった。他はすべて違うパターンを示した。

このことから、事例1は、同一株のSEによる汚染が原因であったことが強く示唆された。

なお、図には示さなかったが、同じ組合せの株を制限酵素 *Xba* I で消化したところ、すべての株が同一のパターンを示した。

3 K事業所給食による食中毒（事例2）

(1) 食中毒の概要

1998年9月2日(水)に、小笠原保健所管内の病院より、下痢、発熱等食中毒様症状を呈する患者を診察したとの届出があった。

疫学調査の結果、9月1日にK事業所の社員食堂で昼食を食べた人のうち29名が食中毒症状を呈していることが判明した。原因食品は患者の共通食品である「卵入りとろろ」と推定された。表11にK事業所での食中毒の概要を示した。

(2) 患者の症状別発現率

表12に患者の症状別発現率を示したが、サルモネラ食中毒の特徴である下痢、発熱が27名93.1%とほとんどの患者にみられた。次いで腹痛14名48.3%、吐き気13名44.8%等であった。潜伏時間は7時間から36時間であったが、平均すると12.2時間と比較的短い時間であった。

(3) 原因食品

K事業所の社員食堂は客が自分で好みの食品を運んで食べるカフェテリア方式を行っており、1日400食以上を提供していた。表13に患者の摂食状況を示した。患者は全員卵入りとろろを食べており、これ以外に患者の共通食品がないことから、残品がなく細菌検査は実施できなかったが、「卵入りとろろ」が原因食品と推定された。「卵入りとろろ」の摂食者35名のうち29名が発症し、発症率は82.9%と高かった。

なお、「卵入りとろろ」は調理後摂食されるまで2～3時間室温に置かれていた。

(4) 病因物質の細菌学的検査結果

細菌検査は、施設ふきとり10検体、同日仕入鶏卵20検体、従業員糞便13検体について行なった結果、従業員1検体からSEが分離された。また、病院の糞便検査で8名からサルモネラが分離されており、このうち3株が当所に同定依頼されSEと判明した。この事例の分離SE

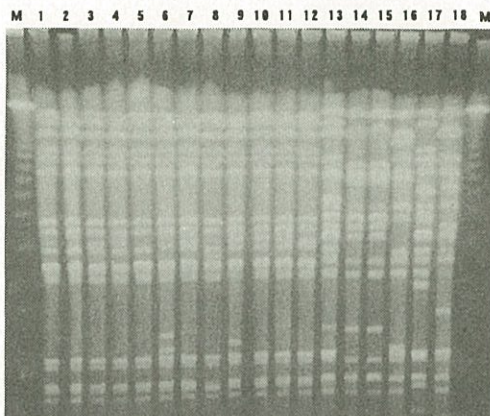


図1 PFGEによる食中毒株（事例1）と散发下痢症株のDNA切断パターン（*Bln* I消化）
M：Lambda ladder, レーン1～10：患者株
レーン11, 12：食品株, レーン13～17：散发下痢症株, レーン18：死亡事例株

表11 K事務所食中毒の概要

発生年月日	1998年（H10）9月1日
発生場所	S町K事務所
摂食者数	35名
患者数	29名（発症率82.9%）
死者数	0名
原因食品	卵入りとろろ（推定）
病因物質	サルモネラ （ <i>S. Enteritidis</i> ; PT4, SM, 60kb）
原因施設	事務所給食施設

表12 K事務所食中毒患者の症状別発現率

症状	患者数	%
下痢	27	93.1
発熱	27	93.1
腹痛	14	48.2
吐き気	13	44.8
嘔吐	11	37.9
頭痛	5	17.2

表13 K事務所食中毒患者の摂食状況

メニュー	摂食者数	%
卵入りとろろ	29	100
春巻	16	55.2
鮭	8	27.6
ハンバーグ	3	10.3
なす煮	3	10.3
酢の物	2	6.9
うどん、みそ汁	各1	3.4
ポテトサラダ、		
カレー、		
揚げだし豆腐		

は4株ともまれな性状である硫化水素非産生株であった。
これらから病因物質をSEと決定した。

(5) 硫化水素非産生SEの疫学マーカーとDNA切断パターン分析

1998年には表14に示したように同時期の散発下痢症からも硫化水素非産生SEが10株分離されたので、事例2で分離した4株とあわせて14株の関連性について検討した。なお、14株には家庭内食中毒と推定される3家族が含まれていた。疫学マーカーはすべてPT4, SM1剤耐性, 60 kb プラスミド単独保有であった。図2に、制限酵素 *Bln* I を使用した PFGE による DNA 切断パターンを示した。レーン1~14は表14のNo.のとおりである。1~2本のバンドの違いはあるが、レーン1~4, レーン6~8, および残りのレーンと大きく3パターンに分かれた。食中毒由来の4株9~12レーンは、ほとんど同一のパターンを示し、また、家族もそれぞれ同様のパターンであった。

なお、制限酵素 *Xba* I でも PFGE を行ったが、事例1と同様にすべての株が同一のパターンを示した。

(6) 硫化水素非産生SEの分離平板培地の検討

硫化水素非産生SEでも分離可能な分離平板培地として、SMID (bioMérieux) とプリリアントグリーン寒天培地の検討を行ったところ、両培地とも硫化水素産生性に関係なくSEは同一のコロニーを形成した。また、硫化水素産生SE株と非産生SE株を糞便に混合して分離を行ったところ、大腸菌、サイトロバクター等他の腸内細菌と明確に鑑別でき、かつ、両方のSE株が分離された。

考 察

1998年に山梨県内で散発下痢症から分離されたサルモネラは193株であったが、これは1985年以降最も多く分離された1996年⁶⁾の305株、1997年⁷⁾の228株と比較すると1996年を最高に減少傾向を示していた。この傾向は、最多分離血清型であるSEでも同様で、1996年の226株を最高に、1997年170株、1998年144株と減少していた。しかし、まだ多くのサルモネラ血清型株による下痢症が発生しており、さらに監視が必要である。

血清型ではSEが全体の74.5%と流行していた。次いで *S. Typhimurium* が8.5%分離され、この2つの血清型の分離数1, 2位は1989年~1998年の10年間^{5~7)}変わらずに続いている。この2つの血清型の対策ができれば、サルモネラによる下痢症をかなり減らすことができるであろう。

月別では、8~10月に多く分離された。1998年は年間の平均気温が高く、そのためか1996年⁶⁾、1997年⁷⁾と

表14 硫化水素非産生 *S. Enteritidis* の分離状況

No.	年月日	由来	備考
1	'98. 7. 4	散発下痢症	— 家族
2	'98. 7. 4	散発下痢症	
3	'98. 7. 4	散発下痢症	
4	'98. 7. 4	散発下痢症	
5	'98. 8. 3	散発下痢症	— 家族
6	'98. 8. 28	散発下痢症	
7	'98. 8. 28	散発下痢症	
8	'98. 8. 28	散発下痢症	— 従業員
9	'98. 9. 4	食中毒事例 2	
10	'98. 9. 3	食中毒事例 2	— 患者
11	'98. 9. 3	食中毒事例 2	— 患者
12	'98. 9. 3	食中毒事例 2	— 患者
13	'98. 9. 21	散発下痢症	— 兄妹
14	'98. 9. 22	散発下痢症	

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 M

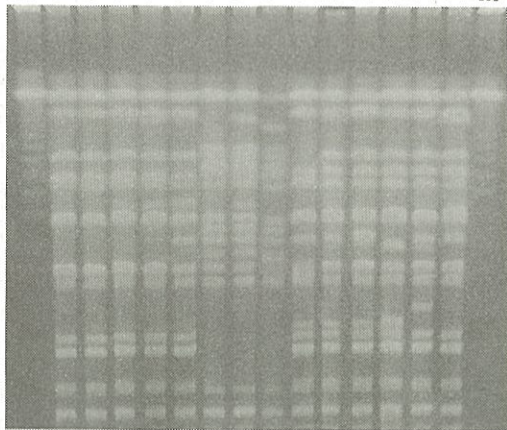


図2 PFGEによる硫化水素非産生SEのDNA切断パターン (*Bln* I 消化)

M: Lambda ladder

レーン1~14は表14のNo.のとおり

比較して、10月の分離数が多かったと思われる。やはり、気温の高い夏期には、食品の温度管理等注意が必要である。また、1月の分離数が例年と比べ多かったのは共通汚染食品の存在も考えられた。

患者は19歳以下が60%を占めたが、とくに1~5歳の幼児に多かった。幼児は成人よりも少数の菌量でも発症する¹¹⁾とされており、乳幼児に対しては卵等の生食を避け、十分加熱する等衛生管理の徹底が必要である。

性別でみると1998年は例年^{5~7)}と比較し、女からの分離率が高い年であった。これは1985年以来初めての現象であり、理由は不明であるが、今後も注目していきたい。

分離菌の薬剤耐性率は昨年⁷⁾の75%から66.3%と低下していた。これは最多分離株であるSEの耐性率が86.5%から77.1%と昨年より約10%低下したことによる。逆にみると、SEの感受性菌が増加したことが挙げられる。耐性型ではSEのSM1剤耐性が101株と依然

として多かった。

SEのプラスミドは60 kb 単独保有がほとんどであり、フェージ型はPT 4が多く、昨年⁷⁾と同様の結果であった。

3種類の疫学マーカーの組合せでは、近年⁴⁾の山梨県の流行パターンであるPT 4, SM 1 剤耐性, 60 kb プラスミド単独保有がさらに増加し流行していた。また, SM 1 剤耐性が感受性へ変わったPT 4, 感受性, 60 kb プラスミド単独保有も多数分離され, 前述したSEの感受性菌の増加は, 大部分がこの疫学パターンであることが分かった。これに対して, 以前⁴⁾多く分離されたPT 1, SM 1 剤耐性, 60 kb プラスミド単独保有やPT 1, SA・SM・TC 耐性, 60 kb, 7.5 kb プラスミド保有は減少していた。このように分離菌の疫学マーカーの組合せパターンには増減が起こるので, その動向に注目していく必要がある。散発下痢症で原因食品の追求は困難であるが, 今後はこれら疫学マーカーを中心に食品由来株についても検討を重ね, さらに後述するパルスフィールド電気泳動法も使用し, 汚染源追求のための疫学的基礎資料としていきたい。

1998年に山梨県で発生したサルモネラによる集団食中毒は2件ともSEが原因菌であり, 原因食品は「天ぷら」と「卵入りとろろ」が推定され, 鶏卵の関与が疑われた。

事例1は, 老人ホームで発生し, 患者はほとんどが高齢者であった。SEが分離された「天ぷら」と「かぼちゃと青唐のくれ煮」が推定原因食品とされたが, 製造方法から天ぷらの衣を作るのに使用した卵がSE汚染しており, 衣から手指や調理器具を介して二次汚染が起こったと推定することもできる。摂食者は高齢のため, 調理済み食品をさらに細かくきざんだり, ミキサーにかけたりする必要があり, 調理後摂食されるまで約6時間経過していることも大きな発生要因であった。

この事例から分離されたSE(患者株, 食品株)の同一性を見るため, 疫学マーカー, PFGEによるDNA切断パターン分析を行ったが, 疫学マーカーはすべてPT 4, SM 1 剤耐性, 60 kb プラスミド保有で前述の流行パターンであった。食中毒株と散発下痢症株のDNA切断パターンを比較したところ, 制限酵素 *Bln* I 消化で食中毒株と散発下痢症株で異なったパターンを示し, 食中毒株12株では1~2本のバンドの違いはあるもののほとんど同一のパターンを示した。このことから, 食中毒株の同一性が示唆され, 原因究明に有効であった。1~2本のバンドの違いについては, 村瀬ら¹²⁾は継代すると変異が起こり, バンドの違いがみられると報告し, また, 金子ら¹³⁾も食中毒においてもすべての株が同一のパターンを示すことがなく, 分離菌の保存状態, 保存方法をも検討する必要があるとしている。PFGEを確実に活用する

ためには, さらにその検査方法を検討しなければならないと考えられた。

事例2はまれな性状である硫化水素非産生SEによる食中毒であった。原因食品として「卵入りとろろ」が推定された。同日仕入れの鶏卵からSEは分離されなかったが, 多数の鶏卵を混合して生で食べる料理である「卵入りとろろ」の危険性が強く疑われた。このような料理の場合, 提供直前に調理する, 提供まで小分けして冷蔵保存する等, さらに啓蒙, 指導が必要と思われた。

この食中毒と同時期に散発下痢症からも硫化水素非産生SEが分離されたので, これら14株の関連性について検討した。疫学マーカーはすべてPT 4, SM 1 剤耐性, 60 kb プラスミド保有であったが, 制限酵素 *Bln* I を使用したPFGEによるDNA切断パターンで大きく3つに分かれたので, 14株の硫化水素非産生SEは同一の菌株ではなく, いくつかの異なった由来であることが示唆された。

なお, *Bln* I では菌株間の相違が明確であったが, *Xba* I ではすべてが同一のパターンを示し, 今回の事例では制限酵素として *Xba* I は株間の異同を検討するのに有効ではなかった。

今回の硫化水素非産生SEはほとんどが医療機関の同定依頼により判明したが, 片山ら¹⁴⁾も報告しているとおり, 今後は硫化水素非産生菌も視野に入れたサルモネラ検査が必要と考えられた。昨年11月の食品, 添加物等の規格基準の一部改正により鶏の液卵の規格基準が定められた。そのなかの成分規格の項にサルモネラの試験法が示されたが, それによると, 分離平板培地として硫化水素の産生により判定する培地および硫化水素非産生であってもサルモネラと判定できる培地の2種類を使用することになった。硫化水素非産生であってもサルモネラと判定できる培地としてBGS(ブリリアントグリーン寒天培地にスルファピリジンを添加), BGM(改良BGA), ランバック培地, SMIDが示された。そこでSMIDとブリリアントグリーン寒天について検討したところ, 良好な結果が得られたので, これらの培地の併用により糞便等食中毒検体からも硫化水素非産生サルモネラが分離可能と思われた。

稿を終わるにあたり, 食中毒の疫学調査をしていただいた韮崎保健所, 甲府保健所および県衛生業務課食品衛生担当の職員の皆様に深謝します。

文 献

- 1) 中村明子：食品衛生研究, 41(7), 17~28 (1991)
- 2) 金子通治：感染症誌, 65, 1533~1540 (1991)
- 3) 金子通治：感染症誌, 69, 1294~1301 (1995)
- 4) 金子通治, 中村明子：感染症誌, 70, 792~800 (1996)
- 5) 金子通治：山梨衛公研年報, 39, 39~44 (1995)
- 6) 高橋照美, 金子通治：山梨衛公研年報, 40, 17~20 (1996)
- 7) 金子通治：山梨衛公研年報, 41, 22~26 (1997)
- 8) 厚生省監修：微生物検査必携細菌・真菌検査, 第3版, p.D 43~D 54, 日本公衆衛生協会, 東京 (1987)
- 9) Kado,C.I.&Liu,S.T. : J.Bacteriol., 145, 1365~1373 (1981)
- 10) 和田昭仁ら：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)
- 11) 田村和満, 坂崎利一：食水系感染症と細菌性食中毒, P.88~89, 中央法規出版, 東京, (1991)
- 12) Murase,T.et al : Microbiol.Immunol., 40(11),873~875 (1996)
- 13) 金子通治ら：日食微誌, 16 (1), 51~56 (1999)
- 14) 片山 淳, 富田正章：病原微生物検出情報, 19, 159 ~ 160 (1998)