

厚生科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

分担研究報告書

大規模化する食中毒原因菌の疫学的指標としての DNA 型別、  
ファージ型別等の応用と新しい迅速型別の開発に関する研究

分担研究者 山井 志朗 神奈川県衛生研究所 細菌病理部長

腸管感染症の発生予測および流行防止に資するため、県下流域下水道水、終末処理場流入水、放流水および河川水における腸管系病原菌の汚染実態を調査した。その結果、下水道水の *Salmonella* 検出状況から、一部地域で *Salmonella* Enteritidis による潜在的な患者発生もしくは汚染源の存在したことが推測され、さらなる継続監視の必要性が確認された。

A. 研究目的

近年、腸管出血性大腸菌 O157 や *Salmonella* Enteritidis 等の広域的な腸管感染症の発生が注目され、その予防対策をいかに進めるかが行政上の課題となっている。本研究は流域下水道水、処理場流入水、放流水および河川水を対象に腸管感染症の潜在的な発生に伴う患者および保菌者の動向について、腸管系病原菌の潜在的汚染実態を把握する。地域集団に存在する危険因子を広域的にスクリーニングすることによって感染症の早期発見、二次感染の防止等を図るための基礎データを収集し、予防対策に反映させることを目的とする。

B. 研究方法

1. 供試試料および調査期間

調査地点は図 1 に示した相模川流域下水道

12 定点 (No.11~19、No.22~24)、終末処理場流入水 2 定点 (No.20、25) および処理場放流水 2 定点 (No.21、26)、酒匂川流域下水道終末処理場流入水 2 定点 (No.27、29) および処理場放流水 2 定点 (No.28、30)、相模湾に流入する主要河川 10 定点 (No.1~10) の計 30 定点を選定し、各定点から採取した下水道水、流入水、放流水および河川水を供試した。

試料の採取は、河川水に関しては 1998 年 4 月から、また下水道水、流入水、放流水に関しては同年 5 月から実施し、採取の頻度は毎月 1 回とした。河川水の採取は当所で行い、下水道水等の採取は下水道公社へ依頼した。

試料は 2L 滅菌ポリ容器に採取し、容器ごとにビニール袋に入れ、クーラーボックスで搬入した。調査は採取開始から 1998 年 12

月まで、河川水 9 回、下水道水、流入水、放流水について各 8 回実施した。

## 2. 調査項目

腸管系病原菌としてコレラ菌 O1、赤痢菌、チフス菌、パラチフス A 菌および腸管出血性大腸菌の伝染病菌をはじめ、厚生省が指定した食中毒菌である *Vibrio cholerae* non O1、*Vibrio mimicus*、*Vibrio fluvialis*/*furnissii*、*Aeromonas hydrophila* / *sobria*、*Plesiomonas shigelloides*、*Campylobacter jejuni* / *coli*、*Yersinia enterocolitica*、腸炎ビブリオ、病原血清型大腸菌および *Salmonella* を対象とした。

## 3. 調査方法

病原菌の検索は増菌培養法を用いて常法により行い、腸管出血性大腸菌 O157 の分離には免疫磁気ビーズ法 (IMS 法) を用いた。病原血清型大腸菌の病原因子の検索は、PCR 法で行った。検水 500ml を 7,000rpm / 20min 遠心分離後、沈査を 10ml の検水に再浮遊し、その 1ml を各増菌培地に接種した。また、赤痢菌と *Yersinia* の検索には分離培地に再浮遊液 0.05ml を直接塗抹した。各培地はそれぞれ所定の温度と条件で培養した。

各病原菌の検索方法について、調査項目(対象菌) ごとに使用した増菌および分離培地の概要を表 1 に示した。

コレラ菌 O1、*V. cholerae* non O1、*V. mimicus* および *A. hydrophila* / *sobria*、*P. shigelloides* は、試料をアルカリ性ペプトン水で 36°C18 時間増菌培養後、コレラ菌 O1 等前者のグループは TCBS および PMT 寒天培地に増菌培養液の一白金耳量を塗抹し、

36°C18~24 時間分離培養した。*Aeromonas* 等後者のグループは、SS および DHL 寒天培地で同様に試験した。

チフス菌、パラチフス A 菌および *Salmonella* は、各々増菌培地にセレナイトシスチンおよびハーナのテトラチオン酸塩培地を、分離培地に SS、BS 寒天培地および DHL、BG 寒天培地を用いて行い、ハーナのテトラチオン酸塩培地による増菌は 42°C18~24 時間、その他の増菌および分離培養ともに 36°C18~24 時間培養した。

腸管出血性大腸菌 O157 は、Buffered Pepton Water で 36°C8 時間増菌培養後、IMS 法で捕捉操作を行い、O157 抗体感作ビーズ液 50 $\mu$ l を CT-SMAC 寒天培地に塗抹して 36°C18~24 時間分離培養した。

病原血清型大腸菌は、EC 培地で 44.5°C18~24 時間増菌培養後、DHL 寒天培地で 36°C18~24 時間分離培養した。

腸炎ビブリオ、*V. fluvialis*/*furnissii* は、4%NaCl 加アルカリ性ペプトン水で 36°C18 時間増菌培養後、TCBS およびビブリオ寒天培地で 36°C18~24 時間分離培養した。

*C. jejuni* / *coli* は、プレストンの培地で 42°C24 時間増菌培養後、Skirrow の寒天培地で 42°C48 時間分離培養した。本菌の増菌および分離培養は、いずれも微好気条件で行った。

各病原菌ともに、分離培地上の疑わしい集落は、それぞれの病原菌に応じて常法による確認試験を行い、生化学的性状、血清学的性状、毒素産生性または毒素遺伝子の保有等から菌種および菌型を同定した。

## C. 研究結果

成績は検出菌種別に集計し定点ごとの検出

頻度を図 2~15 に、検出回数を表 2 に示し、  
検水別の検出菌種および検出定点数を表 3  
に示した。

### 1. 下水、流入水、放流水からの検出状況

流域下水では *Salmonella*, *V. cholerae* non O1 の検出頻度が高く、両菌および *Aeromonas*、病原血清型大腸菌、*C. jejuni* / *coli* が全定点から検出された。血清型が決定できた *Salmonella* のうち、検出頻度の高い血清型は *S. Enteritidis* が 23.1% で最も高く、ついで *S. Agona* 11.5%、*S. Motevideo* 7.7%、*S. Anatum* 6.4%、*S. Thompson* 6.4%、*S. Typhimurium* 5.1% の順であった。

流入水では、下水において検出頻度の高かった菌種が同様な頻度で検出された。

放流水では、*Aeromonas* の検出頻度が高く、病原血清型大腸菌とともに全定点から検出されたが、下水および流入水から高頻度に検出された *Salmonella* および *V. cholerae* non O1 は、各々 1 定点で 1 例および 2 定点で各 1 例検出されたにすぎなかった。

### 2. 河川水からの検出状況

*Aeromonas*, *V. cholerae* non O1、病原血清型大腸菌が全定点から検出され、特に淡水性細菌で河川環境に分布する *A. hydrophila* / *sobria* 等の *Aeromonas* の検出頻度が高かった。その他、*Aeromonas* と同じく淡水性細菌の *P. shigelloides*, *V. cholerae* non O1 と類似の性状を有する *V. mimicus* 等が多く、の定点から検出された。

### 3. 病原血清型大腸菌の病原因子保有状況

下水、流入水、放流水および河川水から検出された大腸菌のうち、市販大腸菌診断用抗

血清に凝集した病原血清型大腸菌は、それらのすべてが腸管病原因子 LT、ST、VT および *InvE* の各遺伝子を保有していなかった。また、O157 血清に凝集する大腸菌は検出されなかった。

### D. 考察

流域下水道水および流入水からの分離菌は、河川水のそれらと比較して明らかにヒトに由来する菌の割合が高く、このことは、下水等のモニタリングが潜在的腸管感染症の発生あるいは病原菌による生活環境の汚染実態を把握するための、有効な手段となり得ることを示唆したものと言えよう。過去において流入水から腸管出血性大腸菌 O157 (*stx* 2 陽性) を、また河川水から *Cryptosporidium* を検出しており、特に *Cryptosporidium* の汚染源は河川上流域にある養豚場から排出されている排水であることが確かめられ、モニタリングの有用性が確認されている。本調査でも *Salmonella* において、近年、食中毒や下痢症で検出頻度が高い流行菌型である *S. Enteritidis* の検出が顕著 (検出菌の 23%) で、流域下水道 12 定点のうち 8 定点から検出され、特定地域を限定するまでには至らなかったが、県央部地域 6 定点のうち 4 定点で 2~3 回検出された。このことは少なからず患者や保菌者等の潜在的汚染源がこの地域に存在することを意味するものと思われる。

放流水から数種の病原菌が検出されたが、検出頻度の高い *Aeromonas* は自然環境に広く分布していること、他の菌と比較して若干塩素抵抗性が高いことが検出される理由であると思われ、特段の問題はないと考えるが、*A. hydrophila* / *sobria* は食中毒菌であることから溶血毒素等の病原因子の検討を行う必

要がある。放流水の消毒については、漁業への影響を最低限に抑えるため、その結果として消毒効果にバラツキがみられたものと思われるが、放流水の安全性を危惧するようなものではなかった。

検出頻度が高い *Aeromonas* および *V. cholerae* non O1 は、全定点または放流水の一部の定点から検出された。両菌の河川由来菌と下水等由来菌の差異を明らかにできれば、腸管感染症の潜在的汚染の実態把握における本調査の意義がより一層明確になると思われ、今後の課題と考える。

#### E. 結論

下水等は河川水と比較して、明らかにヒトの汚染を反映したものであった。今回の調査では、一部地域に *S. Enteritidis* の潜在的汚染源のあったことが推測され、本菌の流行が継続している理由の一つを明らかにできた。

*V. cholerae* non O1 および *Aeromonas* が、

下水等および河川水から高頻度に検出され、両菌の由来による菌型または病原性の差異に関する検討が課題である。

大規模および広域的食中毒等の発生に関して、それらの潜在的汚染源を明らかにし、原因の究明と予防に、下水等の腸管系病原菌のモニタリングは有用な手段となるものと思われた。さらに今回の調査は広域的な影響を受ける流域下水道を対象としたが、市町村単独下水道終末処理場や尿尿処理施設を調査対象に組み入れることにより、詳細な潜在的汚染源の解明が可能になるものと考えられた。

#### 研究協力者

浅井 良夫 神奈川県衛生研究所臨床血清科長  
沖津 忠行 神奈川県衛生研究所細菌科主任研究員  
鈴木理恵子 神奈川県衛生研究所細菌科主任研究員  
村瀬 敏之 神奈川県衛生研究所細菌科技師  
佐多 辰 神奈川県衛生研究所細菌科技師

表1 検査対象および使用培地

(対象菌)	(増菌培地)	(分離培地)
1 コレラ菌 O1	アルカリ性ペプトン水	TCBS・PMT SS・DHL
2 <i>Vibrio cholerae</i> non O1		
3 <i>Vibrio mimicus</i>		
4 <i>Aeromonas hydrophila/sobria</i>		
5 <i>Plesiomonas shigelloides</i>		
6 チフス菌	セリナイトスチン	SS・BS
7 パラチフス A菌		
8 <i>Salmonella</i>	ハーナ・テトラチン酸塩基礎培地	DHL・BG
9 腸管出血性大腸菌 (O157)	Buffered Peptone Water (8h, IMS法)	CT-SMAC
10 病原血清型大腸菌	EC培地	DHL
11 腸炎ビブリオ	4%NaCl加アルカリ性ペプトン水	TCBS・VA
12 <i>Vibrio fluvialis/furnissii</i>		
13 <i>Campylobacter jejuni/coli</i>	フレストン	Skirrow
-----		
14 赤痢菌	(遠心沈査を直接塗抹)	SS・DHL
15 <i>Yersinia enterocolitica</i>	(遠心沈査を直接塗抹)	CIN

表2 定点別検出回数

検水	河川水										流域下水道水										処理場流入水				処理場放流水					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	22	23	24	20	25	27	29	21	26	28	30
コレラ菌01	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
チフス菌	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
パラチフスA菌	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
赤痢菌	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
腸管出血性大腸菌	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Vibrio cholerae</i> non 01	3	4	3	3	4	3	7	4	3	2	3	8	5	7	5	4	6	4	3	5	4	5	6	7	7	6	1	0	1	0
腸炎ピブリオ	0	2	1	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Vibrio mimicus</i>	3	2	5	1	4	0	2	1	0	4	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0
<i>Vibrio fluvialis/furnissii</i>	1	1	1	1	1	0	0	0	0	1	2	4	3	0	0	2	2	0	3	2	1	2	1	2	1	3	0	0	0	0
その他の <i>Vibrio</i>	5	5	8	6	1	0	2	2	0	1	1	1	1	5	5	3	4	1	5	1	1	2	4	5	3	1	0	0	0	0
<i>Aeromonas hydrophila/sobria</i>	7	7	9	7	9	8	8	8	7	9	2	3	4	2	2	3	4	4	4	2	4	5	2	4	4	3	6	7	8	6
その他の <i>Aeromonas</i>	4	4	3	4	4	3	6	5	4	4	4	4	4	4	5	3	4	6	6	3	4	4	4	6	4	4	2	2	1	5
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	3	2	2	2	2	2	2	2	2	0	0	2	0	2	1	1	0	0	1	1	1	1	0	0	1	2	0	0	0	0
<i>Salmonella</i>	1	0	1	2	1	0	0	0	0	0	3	5	5	7	8	8	5	1	8	5	7	4	8	5	4	2	0	0	1	0
<i>Campylobacter jejuni/coli</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	2	1	2	2	2	1	1	1	1	2	3	2	1	0	0	0	0	0
その他の <i>Campylobacter</i>	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	1	1	2	1	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
その他の <i>Yersinia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
病原血清型大腸菌	1	4	4	4	3	4	1	4	4	6	3	1	3	2	2	2	4	3	1	2	3	5	3	2	3	2	2	4	1	3

表3 検水別にみた検出菌種および検出定点数

河川水 (10定点)		下水 (12定点)		流入水 (4定点)		放流水 (4定点)	
検出定点数	検出菌種	検出定点数	検出菌種	検出定点数	検出菌種	検出定点数	検出菌種
10	<i>A. hydrophila/sobria</i> その他の <i>Aeromonas</i> <i>V. cholerae</i> non O1 病原血清型大腸菌	12	<i>Salmonella</i> <i>V. cholerae</i> non O1 その他の <i>Aeromonas</i> <i>A. hydrophila/sobria</i> 病原血清型大腸菌 その他の <i>Vibrio</i> <i>C. jejuni/coli</i>	4	<i>V. cholerae</i> non O1 <i>Salmonella</i> その他の <i>Aeromonas</i> <i>A. hydrophila/sobria</i> その他の <i>Vibrio</i> 病原血清型大腸菌 <i>V. fluvialis/furnissii</i>	4	<i>A. hydrophila/sobria</i> その他の <i>Aeromonas</i> 病原血清型大腸菌
9	<i>P. shigelloides</i>	9	<i>V. fluvialis/furnissii</i>	3	<i>C. jejuni/coli</i>	2	<i>V. cholerae</i> non O1
8	その他の <i>Vibrio</i> <i>V. mimicus</i>	8	<i>P. shigelloides</i>	2	<i>P. shigelloides</i> <i>V. mimicus</i>	1	<i>Salmonella</i>
6	<i>V. fluvialis/furnissii</i>	7	その他の <i>Campylobacter</i>				
4	腸炎ビブリア <i>Salmonella</i>	2	<i>V. mimicus</i>				
2	その他の <i>Campylobacter</i> <i>Y. enterocolitica</i>	1	腸炎ビブリア				
1	コレラ菌 O1						
検出されなかった菌種 チフス菌, パラチフス A 菌, 赤痢菌, 腸管出血性大腸菌, <i>C. jejuni/coli</i> , その他の <i>Yersinia</i>		コレラ菌 O1, チフス菌, パラチフス A 菌, 赤痢 菌, 腸管出血性大腸菌, <i>Y. enterocolitica</i> , その他の <i>Yersinia</i>		コレラ菌 O1, チフス菌, パラチフス A 菌, 赤痢 菌, 腸管出血性大腸菌, 腸炎ビブリア, <i>Y. enterocolitica</i> , その他の <i>Campylobacter</i> , その他の <i>Yersinia</i>			

図1 河川水・流域下水道水調査定点

- 市町村単独下水道終末処理場
- △ 屎尿処理施設
- 流域下水道試料採取定点
- 流域下水道終末処理場
- 河川水試料採取定点

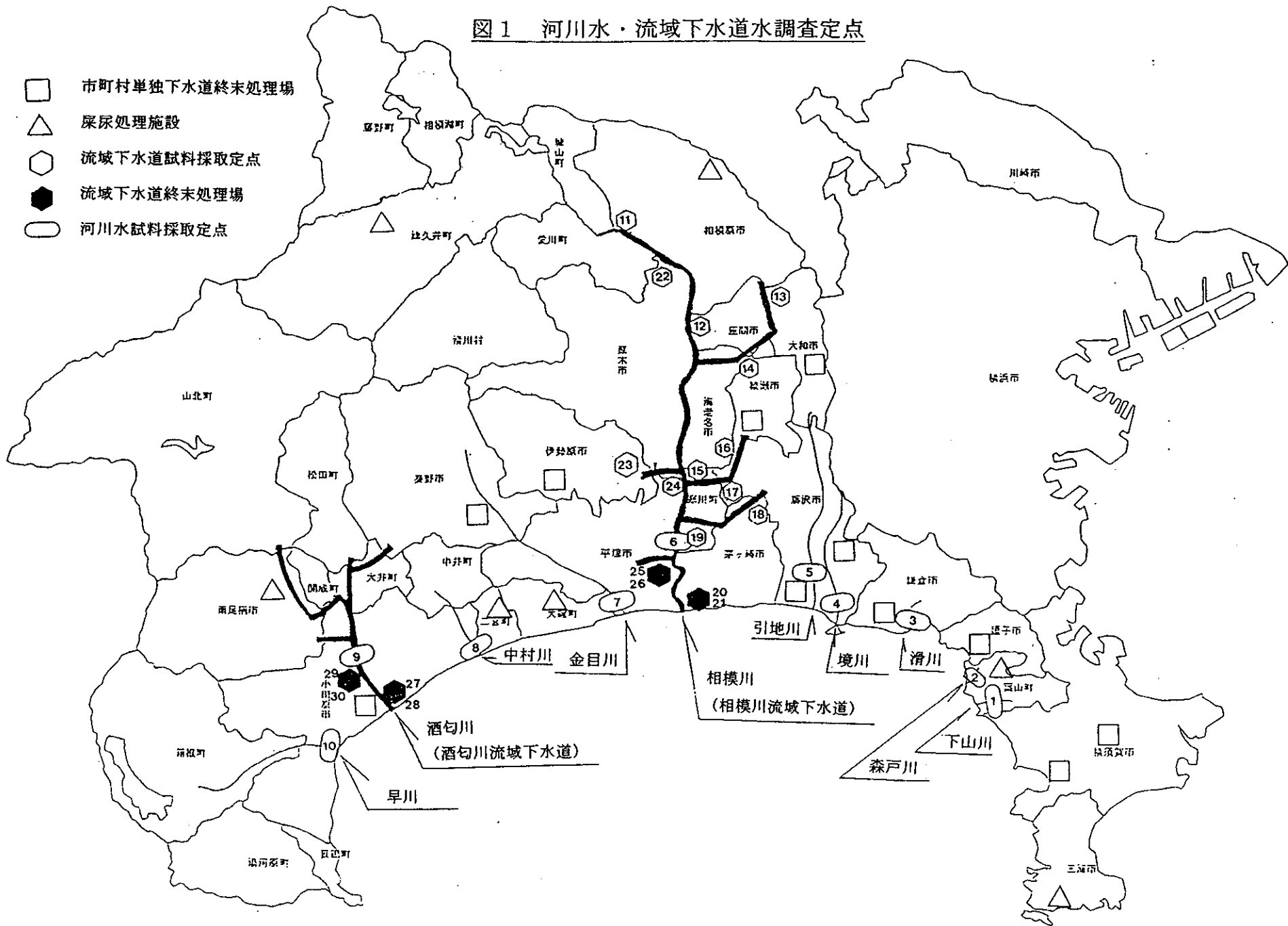




図2 定点別検出頻度：コレラ菌 O1

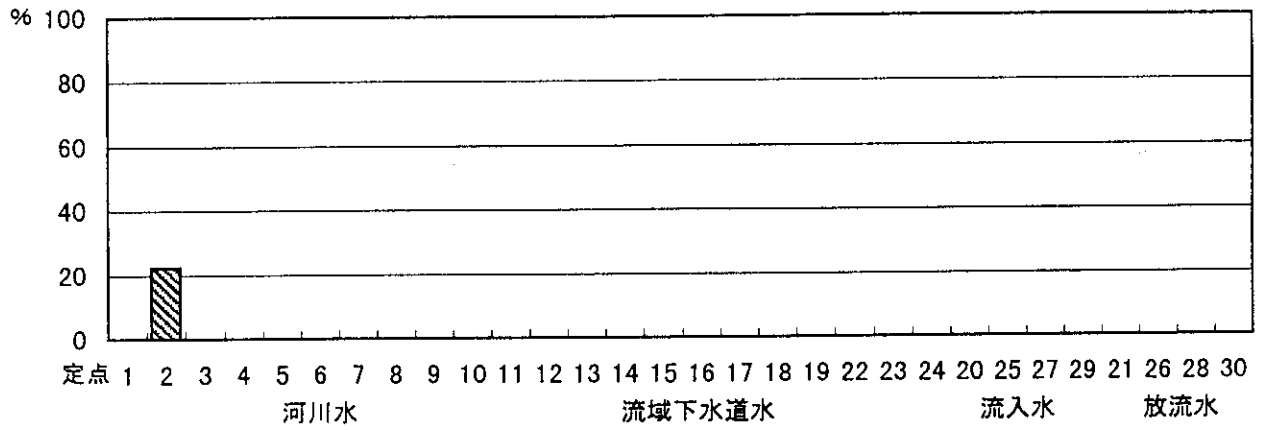


図3 定点別検出頻度：Vibrio cholerae non O1

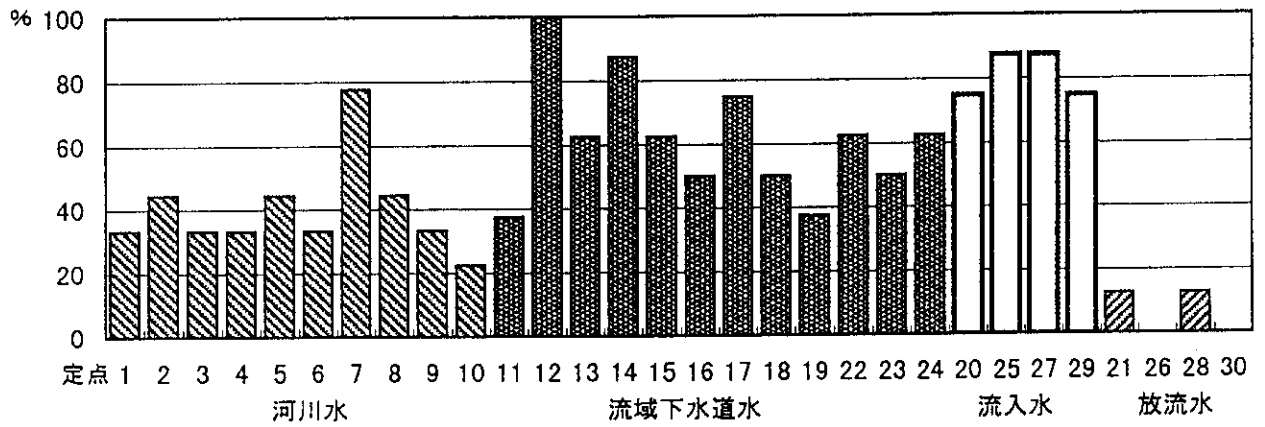


図4 定点別検出頻度：腸炎ビブリオ

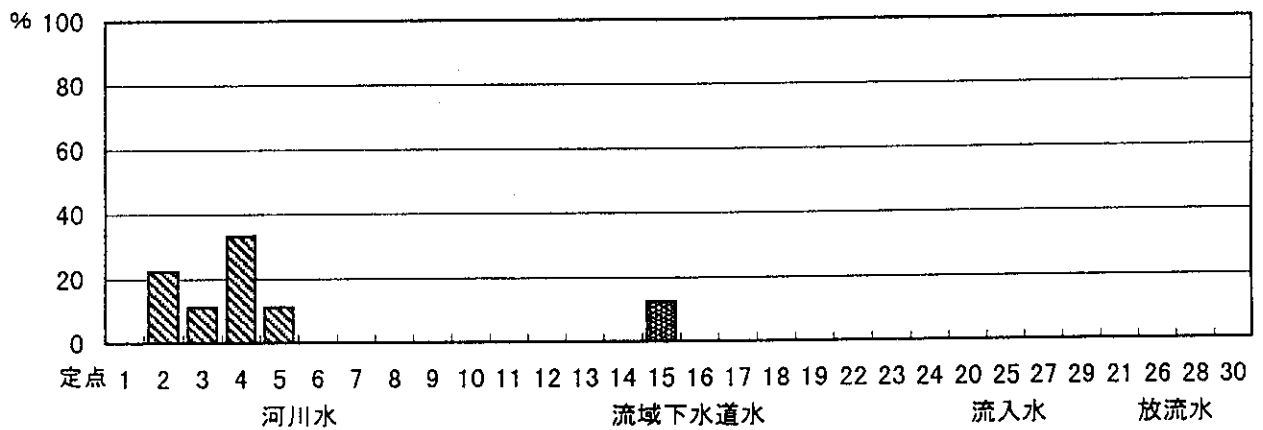


図5 定点別検出頻度： *Vibrio mimicus*

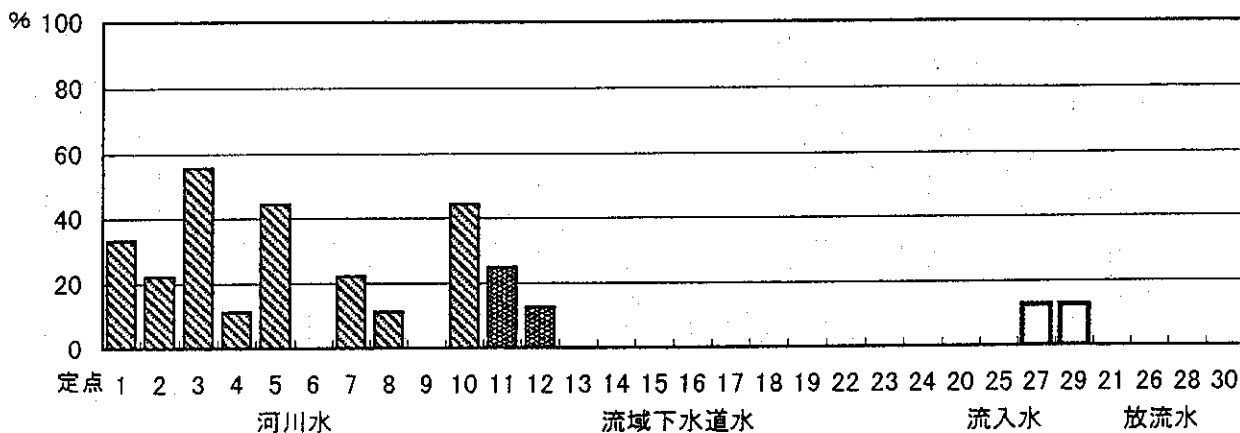


図6 定点別検出頻度： *Vibrio fluvialis/furnissii*

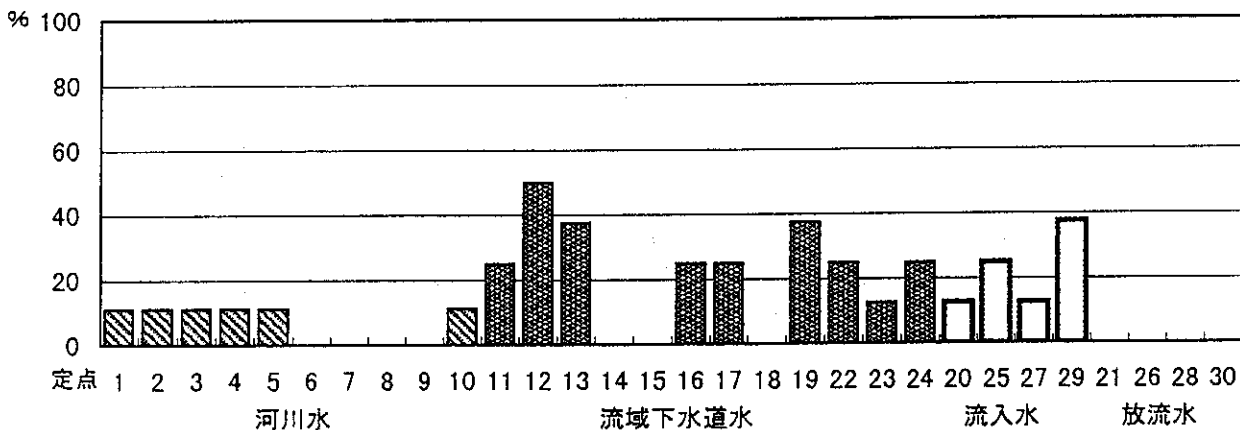


図7 定点別検出頻度：その他の *Vibrio*

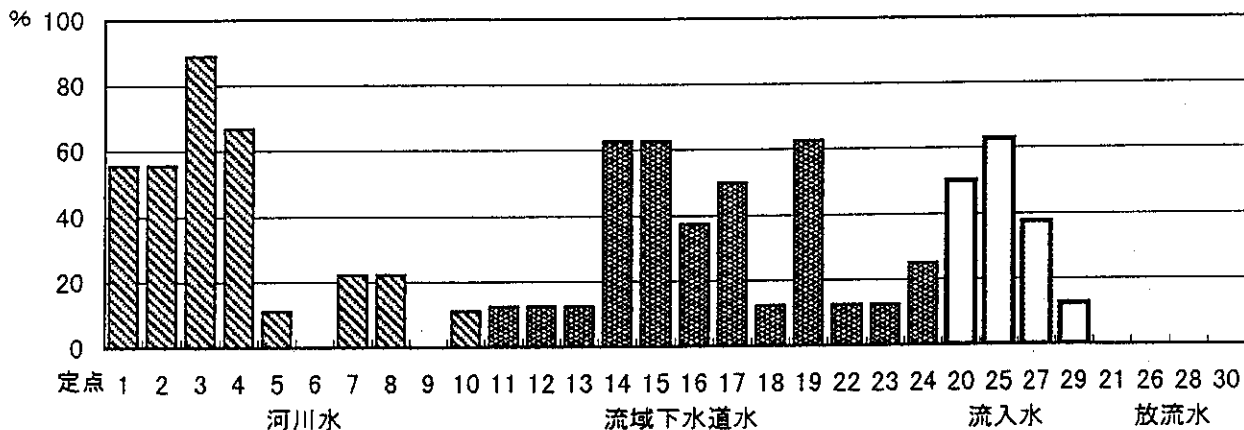


図8 定点別検出頻度 : *Aeromonas hydrophila* / *sobria*

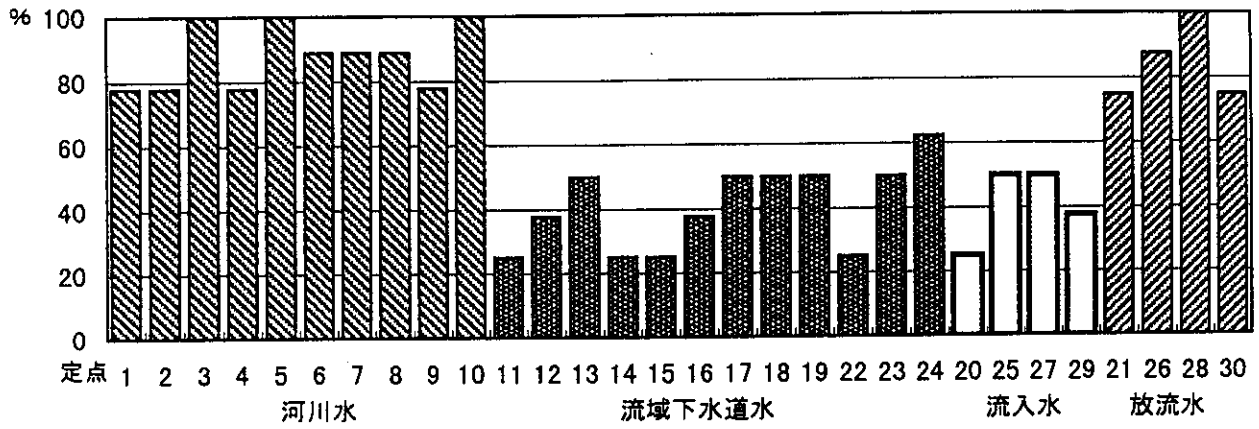


図9 定点別検出頻度 : その他の *Aeromonas*

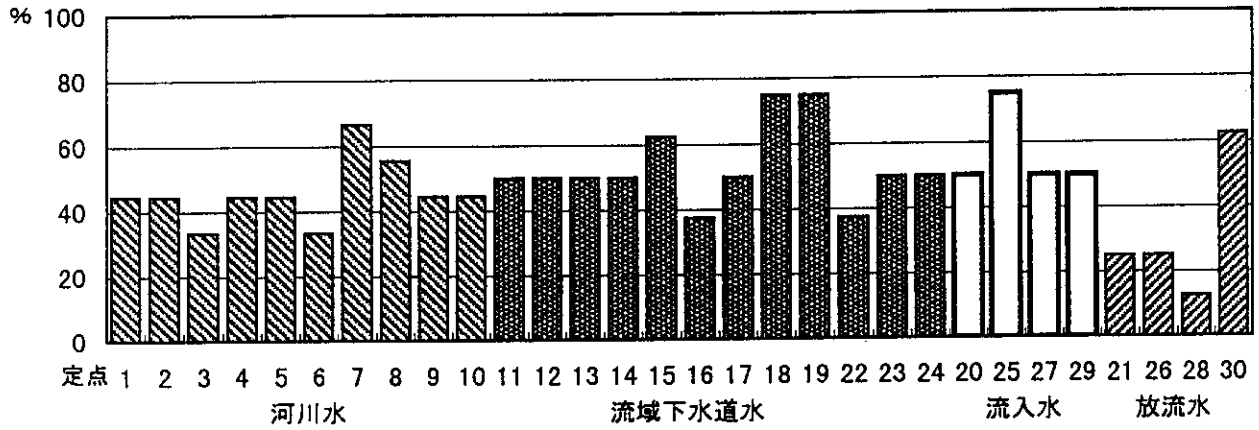


図10 定点別検出頻度 : *Plesiomonas shigelloides*

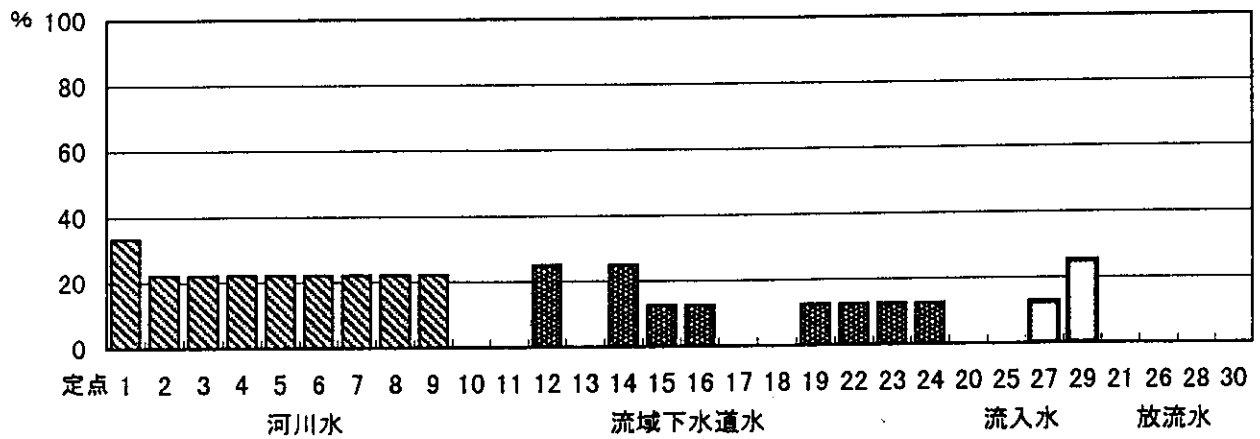


図11 定点別検出頻度：Salmonella

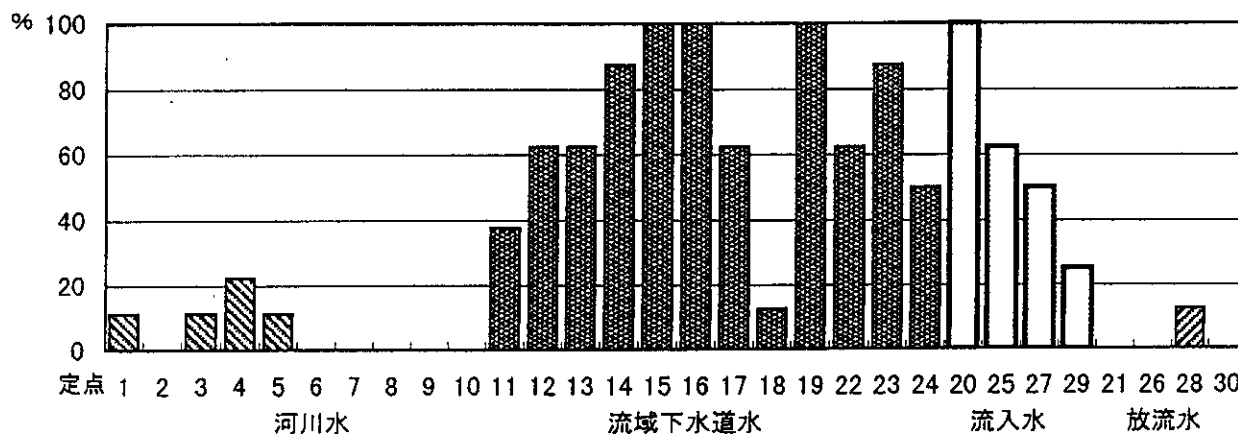


図12 定点別検出頻度：Campylobacter jejuni/coli

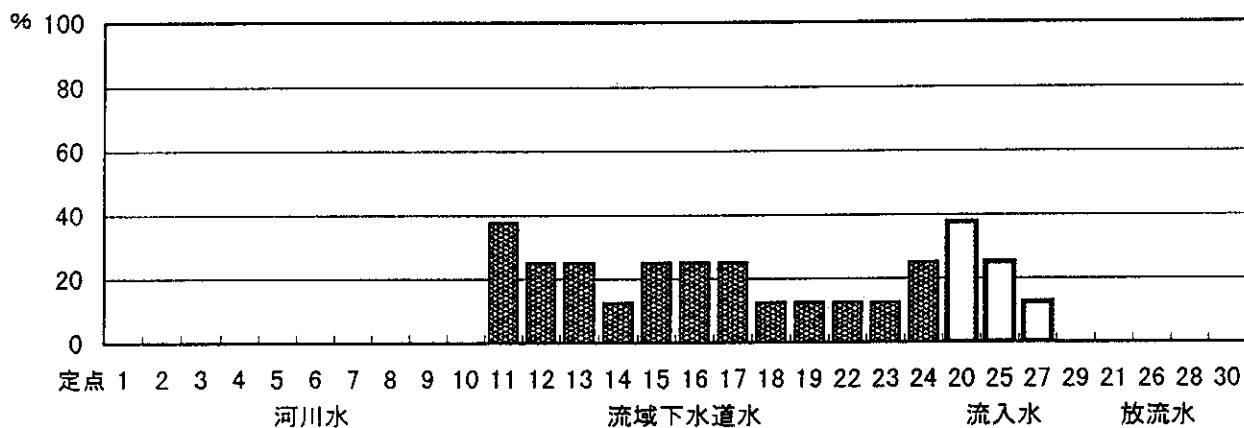


図13 定点別検出頻度：その他のCampylobacter

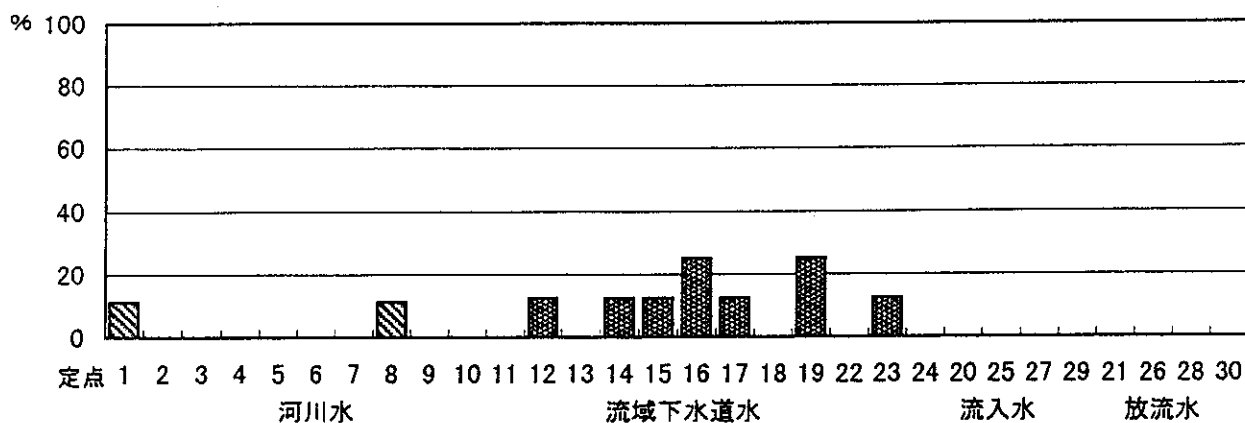


図14 定点別検出頻度：Yersinia enterocolitica

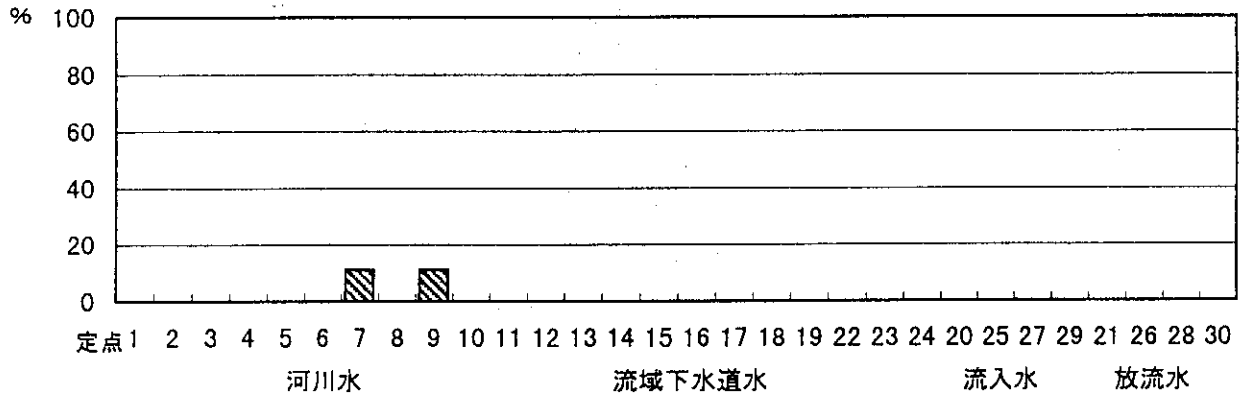
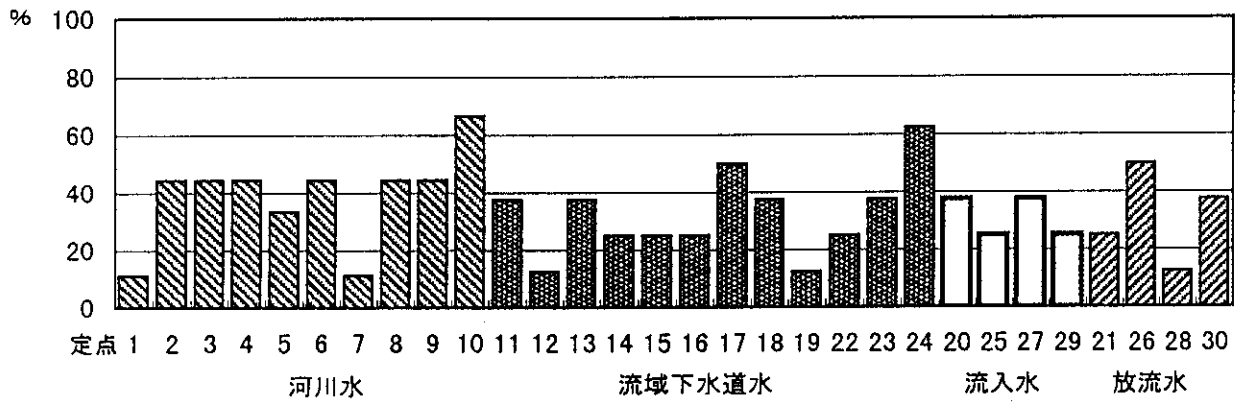


図15 定点別検出頻度：病原血清型大腸菌



## 1998年に発生したサルモネラによる大規模食中毒2事例 および腸管出血性大腸菌 O157 による広域食中毒事例

1998年1月～12月の間に、横浜、川崎、横須賀の三市を除く神奈川県内で発生したサルモネラによる大規模食中毒は3事例であった。うち1事例は、3月に大阪府下の食品加工施設で製造された学校給食の三色ケーキを原因食品とした *Salmonella* Enteritidis による食中毒の関連事例で、神奈川県他に岩手県、東京都、福井県で発生した。本県内では4小学校で患者が発生し、患者数は642名（児童620名、教員22名）であった。本関連事例では患者便203検体中131検体から *S. Enteritidis* が分離されたが、三色ケーキから本菌は分離されなかった。

神奈川県内の施設を原因とした事例は、(1) 給食センターの仕出し弁当を原因食品とした *Salmonella* Infantis による食中毒、(2) 飲食店のサンドイッチ弁当を原因食品とした *S. Enteritidis* による食中毒、の2事例で、各々の事例の疫学状況を調査した。

さらに1998年5～6月にかけて、富山県、東京都、神奈川県等7都府県において、北海道産イクラ醤油漬を原因食品とする腸管出血性大腸菌 O157 (以下 O157) 食中毒事件が発生した。本事件は、魚卵製品が O157 に汚染されて発生した世界でも例を見ないもので、本県における、(3) 腸管出血性大腸菌 O157 による広域食中毒事例、の調査でイクラを原因食品と特定した。

### (1) *Salmonella* Infantis による食中毒

#### 1. 概要

1998年8月21日、神奈川県秦野市内の給食センターの同じ仕出し弁当を喫食したグループ10名が、下痢、発熱、嘔吐などの食中毒症状を呈した。直ちに県で調査したところ、8月17日以降、同給食センターの仕出し弁当喫食者の多数が同様の食中毒症状を呈していたことが判明し、仕出し弁当を原因とする集団食中毒と断定された。その後の調査で、本事例の病因物質は *S. Infantis* であること、また発症者が8月17～26日の10日間続発していたことから、その間の仕出し弁当喫食者数710名、患者数は372名に達する大規模な事例であることが明らかになった(表1-1)。

#### 2. 患者の発生状況

##### 2-1. 発症状況

8月17～26日の10日間に発生した。患者372名のうち発症日が特定できた患者348名の発生状況は、8月20日の発症者が221名(63.5%) について21日55名、19日34名、22日22名で、19～22日の4日間に集中していた(表1-2)。

##### 2-2. 潜伏時間

不明。

推定原因食品が数日に及んで提供されていたと考えられることから、潜伏時間を明らかにできなかった。

##### 2-3. 症状

下痢 (91.4%)、腹痛 (82.3%)、発熱 (57.8%)、倦怠感または脱力感 (57.8%)、頭痛 (38.4%)、悪寒 (38.4%)、吐き気 (21.8%)、嘔吐 (11.3%) であった。

#### 2-4. 患者の性別および年齢分布

患者の性別および年齢分布は、男性 304 名、女性 68 名で、患者のほとんどは事業所の労働者年齢である 20~60 歳代にほぼ均等に分布していた (表 1-3)。

### 3. 病因物質の検索

#### 3-1. 検便結果

患者 20 名および給食センター従業員 11 名について検便を行った。その結果、患者 13 名および従業員 4 名から *S. Infantis* が検出された (表 1-4)。

#### 3-2. 食品等検査結果

8 月 19 日、20 日製造の各検食、食材 1 検体、使用水 1 検体、調理施設および調理器具のふきとり材料 23 検体について検査を行った。その結果、19 日製造の検食 (ハムもやしソテー) およびふきとり材料 (調理室の床) 2 検体から *S. Infantis* が検出された (表 1-4)。

### 4. *S. Infantis* 分離株の PFGE パターン

本食中毒由来の *S. Infantis* 分離株 (患者: 13 株、従業員: 4 株、食品: 1 株、ふきとり: 2 株) および他の事例由来の *S. Infantis* 分離株 6 株について、制限酵素に *Bln* I および *Xba* I を用いて PFGE パターンを比較検討した。

その結果、本食中毒由来株の PFGE パターンはすべて一致した。また他事例由来株とは異なるものであった (図 1-1)。

### 5. 原因食品および病因物質

#### 5-1. 原因食品

患者の発症日から推測して、原因食品は 8 月 19 日の仕出し弁当が強く疑われたが、17~21 日の間に 19 日製造以外の弁当を喫食して発症した患者もいたことから、17~19 日にかけて調理された仕出し弁当と推定された。

#### 5-2. 病因物質

*S. Infantis* が、患者、給食センター従業員、調理施設器具ふきとり材料、8 月 19 日製造の仕出し弁当から検出されたこと、さらにそれら分離株の PFGE パターンがすべて一致していたことから病因物質と特定された。

### 6. 考察

給食センターの調理室の床から、患者由来株と同じ PFGE パターンを示す *S. Infantis* が検出されたこと、また、本菌の仕出し弁当への暴露日が数日に及んでいたと推定されることから、調理環境の本菌による汚染が原因と思われ、器具の洗浄殺菌、調理従事者の手洗いが不十分であったことなどが要因として考えられた。さらに、給食センターでは仕出し弁当を数回に分けて調理したために、調理済み食品が弁当調製時まで長時間室温放置されていたことも発生要因と推定された。

原因食品の推定および病因物質の特定に、*S. Infantis* 分離株の PFGE パターン解析は有効な疫学解析の指標になり得ると思われた。

## (2) *Salmonella* Enteritidis による食中毒

### 1. 概要

1998年10月29日、茅ヶ崎市内の病院において、腹痛、下痢等の食中毒様症状を呈する幼稚園児を診察したところ、検便からサルモネラ菌が検出された。患者は茅ヶ崎市内のB幼稚園に通う園児で、県による調査の結果、他にも同様の症状を呈する園児がいることが判明した。同幼稚園では平塚市内の飲食店が製造したサンドイッチ弁当を昼食に提供しており、共通する食事が他にないことから、この弁当を原因とする食中毒と断定された。その後の調査で、本事例の病因物質は *S. Enteritidis* であること、また B 幼稚園の他に A 幼稚園でも患者が発生していることが判明し、サンドイッチ弁当喫食者数は 652 名、患者数は 234 名に達する大規模な事例であることが明らかになった (表 2-1)。

### 2. 患者の発生状況

A 幼稚園では 10 月 21~30 日の間に、また B 幼稚園では 10 月 22 日~11 月 3 日の間に発症者が認められた。この間の患者 234 名のうち、幼稚園関係以外の患者 3 名を除く 231 名の発生状況はつぎのとおりであった。

#### 2-1. 発症状況

A および B 幼稚園共に、患者の発生日にはばらつきが見られた (表 2-2)。

#### 2-2. 潜伏時間

平均 5 日。

サンドイッチ弁当喫食日：A 幼稚園は 10 月 20 日 (220 食)、10 月 27 日 (195 食)、B 幼稚園は 10 月 22 日 (400 食)、10 月 29

日 (352 食)

(原因と疑われる自家製マヨネーズ使用品は、A 幼稚園 20 日、B 幼稚園 22 日に喫食した。) 従って、A 幼稚園においては 10 月 20 日の喫食を、B 幼稚園においては 10 月 22 日の喫食を原因として潜伏時間を算出すると 2 時間 25 分~11 日、平均で約 5 日となる。

しかし、園内での二次感染が否定できないこと、さらに患者のほとんどが幼児であり、子供の発症に気づいて親が届ける場合は遅れることが多いので、実際の潜伏時間はこれよりも短いものと推測される。

#### 2-3. 症状

腹痛 (79.5%)、下痢 (79.1%)、発熱 (68.8%)、頭痛 (30.3%)、倦怠感または脱力感 (28.2%)、吐き気 (25.2%)、悪寒 (23.6%)、嘔吐 (22.2%) であった。

#### 2-4. 患者の性別および年齢分布

患者の性別および年齢分布は、男性 114 名、女性 120 名で、患者のほとんどは幼稚園児年齢である 10 歳以下に分布していた (表 2-3)。

### 3. 病因物質の検索

#### 3-1. 検便結果

患者 105 名および飲食店従業員 3 名について検便を行った。その結果、患者 53 名から *S. Enteritidis* が検出された (表 2-4)。

#### 3-2. 食品等検査結果

食材 13 検体、調理施設および調理器具のふきとり材料 18 検体について検査を行った。その結果、すべての検体から食中毒菌は検出されなかった (表 2-4)。



#### 4. *S. Enteritidis* 分離株のファージ型

A 幼稚園患者由来 12 株（分離日は 11/2 : 3、11/3 : 4、11/4 : 4、11/6 : 1）、B 幼稚園患者由来 23 株（分離日は 11/1 : 3、11/2 : 3、11/3 : 3、11/4 : 3、11/6 : 11）、計 35 株の *S. Enteritidis* 分離株のファージ型は、すべてファージ型 1 であった（表 2-5）。

#### 5. *S. Enteritidis* 分離株の PFGE パターン

ファージ型別に供試したのと同じ *S. Enteritidis* 分離株 35 株について、制限酵素に *Bln* I および *Xba* I を用いて PFGE パターンを比較検討した。

その結果、*Xba* I で切断した DNA の PFGE パターンは 35 株のすべてが同一であった。一方、*Bln* I で切断した DNA の PFGE パターンは B1~B4（暫定名）の 4 パターンに分かれたが、各パターンに該当した株数は B1 : 21 株、B2 : 1 株、B3 : 2 株、B4 : 1 株で、B1 がほとんどを占める主要パターンであった。パターン B2 は 11/6 の A 幼稚園分離株に、パターン B3 は 11/3 および 11/6、パターン B4 は 11/6 の B 幼稚園分離株にそれぞれ認められた（表 2-5、図 2-1）。

### 6. 原因食品および病因物質

#### 6-1. 原因食品

患者の共通食は当該飲食店が調製したサンドイッチ弁当の他にないことから、この弁当が原因食品であると推定された。

さらに、サンドイッチ弁当には自家製マヨネーズが使用されていた。同じ飲食店で調製されたサンドイッチ弁当を食べても発症者が

でなかった他の幼稚園もあり、使用された食材のうち発症者のあったグループとなかったグループに使用されたロットが明らかに異なるものは自家製マヨネーズであった。つまり、10 月 18 日製造の自家製マヨネーズが使用され、A 幼稚園では 20 日に、また B 幼稚園では 22 日に喫食したサンドイッチ弁当が原因食品と推定された。

#### 6-2. 病因物質

*S. Enteritidis* が、患者（A 幼稚園 : 18 名、B 幼稚園 : 34 名、その他 : 1 名）からに検出され、分離株（A 幼稚園 : 12 株、B 幼稚園 23 株）のファージ型はすべてファージ型 1 であったこと、さらにそれら分離株のほとんどは PFGE パターンが一致していたことから病因物質と特定された。

### 7. 考察

原因食品を喫食した後の患者発生が 10 月 21 日~11 月 3 日と長期間に及んでいる。この理由として、本事例の患者のほとんどが 3~6 歳の幼児であり、子供の訴えや親の察知が遅れて発症時間が実際より長くなってしまったこと、*S. Enteritidis* による幼稚園内の設備等の汚染、または園児間での二次感染があった可能性が考えられる。

本事例では、推定原因食品から *S. Enteritidis* が検出されなかったが、患者由来株のファージ型および PFGE パターンの解析結果から本菌を病因物質として特定できた。ファージ型および PFGE パターン解析はいずれも有効な疫学指標となり得るものであり、それらの併用は疫学解析に一層効果的であると思われた。

### (3) 腸管出血性大腸菌 O157 による広域食中毒事例

#### 1. 概要

1998年5月から、厚木市、秦野市、大和市、茅ヶ崎市など県内各地で腸管出血性大腸菌 O157（以下 O157）患者または保菌者の増加傾向が見られ、県で遡り摂食状況調査を実施したところ、それらの患者および保菌者の共通摂食品は寿司であることが判明した。同じ時期、他の都府県でも同様の患者等の発生があり、東京都と富山県では、6月17日、イクラ醤油漬（以下イクラ）が原因と疑われる O157 食中毒事件であることを発表した。その後の本県の調査で、寿司に使用された N 社製の北海道産イクラから O157 が検出され、患者および保菌者由来株とイクラ由来株の DNA パターンが一致したことから、イクラを原因とする O157 食中毒であると断定された。本食中毒事例は、富山県、東京都、千葉県、神奈川県、大阪府、山梨県および茨城県の 7 都府県で、患者 49 名、保菌者 13 名の発生をみた広域食中毒事例であった（表 3-1）。

#### 2. 神奈川県での患者等の発生状況

##### 2-1 発症状況

神奈川県では 5 月 23 日～6 月 16 日の間に、患者 10 名（入院 4 名、HUS 発症者はなし）、保菌者 4 名が発生した。これらのうち大和市内の寿司店で 5 名（患者 2 名、保菌者 3 名）、厚木市内の寿司店で 2 名（患者）、海老名市内の寿司店で 2 名（患者 1 名、保菌者 1 名）、小田原、伊勢原、綾瀬市内の寿司店または寿司売場および東京都内の寿司店で各 1 名（患者）がイクラを喫食したのち発症した（表 3-2）。

##### 2-2 潜伏時間

2～8 日で、平均 3～4 日であった。

##### 2-3.患者、保菌者の性別および年齢分布

患者の性別および年齢分布は、男性 4 名、女性 6 名、保菌者は男性 1 名、女性 3 名で、患者および保菌者の年齢は 10 歳以下の小児が 10 名（71.4%）と高率であった（表 3-2）。

#### 3. O157 の検査

##### 3-1.検便結果

患者および保菌者由来株は、O157 : H7 (*stx1*、*stx2* 陽性) であった。

各寿司店の従業員 47 名について検便を行った。その結果、O157 はすべて陰性であった（表 3-3）。

##### 3-2.食品等検査結果

N社製イクラ（賞味期限 98 年 9 月 15 日：ロット A）53 検体、ロット A 以外の N社製イクラ 5 検体、N社以外で製造されたイクラ 39 検体、寿司店のその他の食材 34 検体および施設のふきとり材料 64 検体について検査を行った。その結果、N社製イクラ（ロット A）28 検体（52.8%）から O157 : H7 (*stx1*、*stx2* 陽性) が検出された（表 3-3）。

#### 4. O157 分離株のファージ型

分離株のうち、イクラ 24 検体から分離された菌株 84 株および患者 8 名から分離された菌株についてファージ型別を行った結果、イクラおよび患者由来株ともにファージ型 14 であった（表 3-4）。

#### 5. O157 分離株の PFGE パターン

ファージ型別に供試したのと同じ O157 分離株について、制限酵素に *Xba* I を用いて PFGE パターンを比較検討した。その結果、イクラ由来株 84 株中 82 株は同一パターン（パターン A）であったが、1 検体由来 3 株

中 2 株が若干異なるパターン (パターン B) を示した。一方、患者由来株の PFGE パターンは、8 名中 7 名がパターン A、1 名がパターン B であった (表 3-4、図 3-1)。

#### 6. 原因食品の特定

N社製のイクラおよびこれと同じロットのイクラを喫食して発症した患者から O157 : H7 (*stx1*、*stx2* 陽性) が検出され、イクラ由来株と患者由来株の PFGE パターンが一致した。さらに、東京都、富山県、横浜市での同様の事例における患者由来株の PFGE パターンもこれらと一致したことから、N社製イクラを原因食品として特定した。

#### 7. イクラの流通経路と患者の発生

N社製イクラは、北海道にある工場から 5 種類の流通経路を経て、神奈川県内の寿司店等に納入された。このうち患者または保菌者が喫食した寿司店等へは、北海道N社製造所—M社港区事業所—M社町田事業所—神奈川県内 (伊勢原市 : 2 店、小田原、厚木、海老名、大和、綾瀬市 : 各 1 店) 各寿司店等、という 1 流通経路だけの納入で、他の 4 種の経路で納入された寿司店等から患者および保菌者の発生は見られなかった (表 3-5)。

#### 8. 考察

O157 による食中毒は、本菌感染症が他の腸管感染症と比較して発症までの潜伏期間が長いこと、原因食品が得られにくいこと、従って、喫食調査等の疫学調査から原因食品を推定することが多く、広域的に発生した本食中毒事例においても、当初は同様の状況でイクラが原因食品として疑われた。しかし本県では、今回、患者が喫食したのと同じ製造日のイクラが収去できたとともに、そのイクラから患者由来株と同じ性状および PFGE パターンを示す O157 を分離したことから、N社製イクラを原因食品として特定できた。

県内へのN社製イクラの流通経路は 5 種類あり、患者の発生はそのうちの 1 流通経路だけで見られたが、イクラ製品は 1kg の個別包装で冷凍保存の状態での流通したこと、また、流通経路が異なるイクラを原因とした患者発生が 7 都府県に及んでいたことから、イクラへの O157 の汚染は流通過程ではなく製造過程で生じたものと考えられる。

今回の食中毒事例では、特定業者のイクラが原因であると決定できたことなどから大流行には至らなかったが、食中毒の広域的事例の察知と対応においては、国および各自治体間での情報交換など連携の重要性が示唆された。

表 1-1 概要

初発患者発病年月日	1998年8月17日
原因となった施設	秦野市内の給食センター
原因食品	仕出し弁当（ハムもやしソテーから <i>S. Infantis</i> を検出）
原因食品の摂食場所	仕出し先の事業所等
摂食者数	710名
患者数	372名（入院患者12名）
病因物質	<i>S. Infantis</i>

表 1-2 発症状況

発症月日	8/17	18	19	20	21	22	23	24	25	26 (日)
患者数	2	4	34	221	55	22	6	3	0	1 (人)

表 1-3 患者の性別および年齢分布

年齢	0	1-4	5-9	10-14	15-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-	不明	総数
男	0	0	1	0	4	64	66	61	69	36	1	2	304
女	0	0	1	1	1	11	16	19	17	2	0	0	68

表 1-4 病因物質の検索結果

検査材料	検査数	結果
便（患者）	20名	13名から <i>S. Infantis</i> を検出
便（従業員）	11名	4名から <i>S. Infantis</i> を検出
検食（8月19日製造）	1件	ハムもやしソテーから <i>S. Infantis</i> を検出
検食（8月20日製造）	1件	検出せず
施設器具ふきとり材料	23件	調理室の床ふきとり2件から <i>S. Infantis</i> を検出