

- 食品の汚染実態

わが国では、1980年に生乳の約65%から黄色ブドウ球菌を検出し、そこから分離した黄色ブドウ球菌株の約40%がエンテロトキシン産生菌株であったとの報告がある。また2002年には、魚介類、肉類（豚肉、鶏肉、牛肉）及び食肉製品から分離した黄色ブドウ球菌株の10～40%からエンテロトキシン産生性菌株を検出したとの報告がある。[6]

イ. 諸外国

黄色ブドウ球菌エンテロトキシン(SE)は、耐熱性タンパクであり、胃腸症状の原因となっている。ほとんどの症例は黄色ブドウ球菌と関係があるが、エンテロトキシン産生のコアグラーゼ陽性ブドウ球菌(*S. intermedius*)も関係がある。また、メシチリン耐性黄色ブドウ球菌も黄色ブドウ球菌食中毒に関係がある。黄色ブドウ球菌はヒトの手、鼻や、タンパク質が豊富な食べ物に存在し、まれに犬や猫の鼻咽頭や傷口に存在することもある。

1991年から1992年にヨーロッパで発生した食中毒のアウトブレイクのうち、黄色ブドウ球菌が関与したものは3.5%であった(1993年から1998年では4.1%)。また、1993年から1998年にヨーロッパ諸国で960のアウトブレイク(患者数10,899名)が確認されている。さらに、2009年EU諸国において293のアウトブレイク(患者数978名、死者2名)が確認された。[12]

● 主なアウトブレイク事例

【事例 1】1990 年—アメリカ：フロリダ州の刑務所での事例（215 症例）

1990 年 10 月 10 日の夜、フロリダ州の刑務所の収容者 474 人の多くが、胃腸症状を訴え始めた。

調査対象は、収容者、キッチンの評価および食物を扱う慣習、残存食物処理、便処理の慣習、食品取扱者の鼻孔および皮膚損傷(skin lesions)にまで及んだ。331 人の収容者のうち、65%にあたる 215 人が下痢、嘔吐、もしくはその両方の症状を患っていた。潜伏期間の平均値は 5 時間(1~41 時間)だった。昼食から 8 時間以上経過しているものには嘔吐はなく、下痢のみだった。10 月 10 日の夕ご飯で、チキンを食べたことと病気のリスクが関連していた。チキンの食べ残しからサルモネラ菌と黄色ブドウ球菌が検出され、このうちサルモネラ菌は 20 の便試料のうちの 18 から検出された。食品取扱者の前鼻孔や皮膚障害組織から黄色ブドウ球菌が検出されたが、ファージタイプではこれらの種とアウトブレイクを結びつけることはできなかった。不適切な食品の取扱がこのようなアウトブレイクを助長させた。このレポートは複数の病原体によるアウトブレイクが起こることを認識するという重要性がある、というも、より多くの場合、予防のための指導は、別個の菌種、およびコンタミネーションしうるものに関連したリスクを知ることに依存しているからである。[13]

【事例 2】1990 年—タイ：障害者スポーツ大会での事例（485 症例）

1990 年 8 月 25 日、タイの地方の大学での障害者スポーツ大会に参加した 400 名以上の人々が夕食後に胃腸症状を訴えた。疫学チームは、原因を特定し、食中毒の抑え方を提供したいと考えた。調査は、スポーツ大会に参加した 1210 人に及んだ。加えて、環境評価、食物サンプルの研究解析、そして食品取扱者の直腸、耳、喉、それから鼻腔検査が行われた。症例は、夕食での食物を何か食べ、嘔吐、吐き気、腹痛および下痢を経験した人として定義された。1094 人のうち 485 症例存在し、感染率は 43%であった。インタビューは、485 症例のうち、470 症例が完了した。最も共通して起こった 3 つの症状は、悪心(93%)、嘔吐(88%)、腹痛(81.5%)であり、平均潜伏期間は 3.2 時間であった。3 つの品目と発症に有意な関連性が認められ、そのうちエクレアが最も相対リスクが高かった(RR = 7.0, 95%CI = 4.8, 10.2)。エクレアは、夕食で出されるまでの 12 時間以上室温で保管されていた。エクレアからは黄色ブドウ球菌およびセレウス菌が同定されたが、それらのファージタイプは健康な食品取扱者から同定された菌種とは異なっていた。[14]

【事例 3】1991 年—アメリカ：アメリカ西部での食中毒の事例（265 症例）

1991 年の 10 月、アメリカの西部で 265 症例の食中毒が起こった。S. intermedius が原因であることが示唆された。代表的なアウトブレイクが A 型のエンテロトキシンを産生した。4 つのエンドヌクレアーゼによって作られ、パルスフィールドゲル電気泳動によって解析された DNA 断片は、カリフォルニアとネバダの 9 つの異なる州からの分離物はすべて単一の菌種に由来するという決定的な証拠を与えた。これらアウトブレイク分離物のパルスフィールドゲル電気泳動パターンは、家畜由来の 7 つのコアグラウゼ陽性ブドウ球菌種および 5 つの無関係な黄色ブドウ球菌研究株の異種混合のコレクションとは全く異なっていた。そのデ

ータは、異なるブドウ球菌種内だけでなく、同じ種、さらには同じエンテロトキシン型でも重要なパルスフィールドゲル電気泳動パターンの変成分を示している。この結果は、パルスフィールドゲル電気泳動が、ブドウ球菌の疫学的特定のための、貴重な、菌種特異的の識別装置であることを示唆している。私たちの知っている限りでは、今回が、*S.intermedius* によって引き起こされた最初の文書化された食物媒介性のアウトブレイクである。これらの発見は、*S.intermedius* および、食物中の *S.hyicus* のような他の種の存在が不安の種であることを示唆している。[15]

【事例4】1998年—ブラジル：カトリックの聖職者の聖職授任式での食中毒の事例（約3000症例、うち16人死亡）

1998年の夏、ブラジルのミナスジェライス州でのカトリック聖職者の聖職授任を祝うためにおよそ8000人の人々が集結した。食事数時間内におよそ4000人が激しい胃腸症状を訴え、およそ50%にあたる2000人が26の病院施設に救急搬送された。このうち、およそ20%にあたる396人が継続的な入院を必要とし、このうちおよそ20%の81人が集中治療室で治療を受けた。全部で16人(ICU治療人数のおよそ20%)

が不可逆性多重ショックで治療中に亡くなった。事後調査で、コンタミネーションの原因として黄色ブドウ球菌陽性だった食品取扱者の存在が示唆されている。今回の知見は黄色ブドウ球菌の経口暴露についての情報を与えている。[16]

【事例5】1998年—ブラジル：野菜サラダにおける食中毒の事例（およそ180症例）

ブラジルのサンパウロ州のプロドウスキーでおよそ180人を巻き込んだ黄色ブドウ球菌食中毒が起こった。黄色ブドウ球菌は、食物と食物取扱者から、表現型(フェージタイプ、抗菌物質感受性試験、エンテロトキシン産生試験)と遺伝型(ランダム増幅多型DNA法)を調べる両方の検査によって、病気の原因として同定された。マヨネーズ・ソース、焼かれた鶏、トマト・ソース中のパスタの入った野菜サラダと、5人の糧食勤務員の中咽頭の分泌から検出された菌種は、みな同じフェージ型および抗生物質耐性を示した。ランダム増幅多型DNA法では、OPE-20とOPA-7のプライマーを用いたところ17箇所(結合箇所)が発生した。菌種の類似性は、4個の主なクラスター(I、II、IIIおよびIV)に対し、59の黄色ブドウ球菌株を分類した樹状図の作成により分析が行われた。マヨネーズ・ソース、焼かれた鶏、トマト・ソース中のパスタの入った野菜サラダと、5人の糧食勤務員の中咽頭の分泌から検出された菌種は同じクラスターに属し、エンテロトキシンAを産生した。従って、これらの食物と食物取扱者が特定された。[17]

【事例6】2000年—日本：低脂肪牛乳における食中毒の事例（13,420症例、うち180人入院）

黄色ブドウ球菌による食中毒が日本の関西地方で起こった。13,420人ものが大阪市にある工場によって製造された製品を摂取した。製品の主要な材料は、北海道の工場で生産された脱脂粉乳であった。エンテロトキシンA(SEA)は、低脂肪牛乳で検出(<or = 0.38ng/mL)され、およそ脱脂粉乳中に3.7 ng/g含まれていた。一人当たりのSEAの摂取量の合計は、お

よそ 20-100 ナノグラムと見積もられた。想定した発症率は、以前のアウトブレイクで報告された発症率より少なかった。少なくとも 2 回、130℃の高温に 2~4 秒間処理された SEA は、一部不活性化されたかもしれないが、免疫学的、生物学的活性は保持したままであった。今回のアウトブレイクは、熱処理がミルク中の黄色ブドウ球菌を破壊したが、SEA は、毒性を起すために十分な活性を保持していた点において特殊だった。後に SEH も検出され、結果的に食中毒は複数のエンテロトキシンによって引き起こされたことが明らかになった。[18]

【事例 7】2005 年—ギリシャ：粉チーズにおける食中毒の事例（600 症例以上）

今回のアウトブレイクの原因は黄色ブドウ球菌であったことが示唆されている。原因食物は粉チーズで、軍隊において、牛肉と混ざった状態でランチに出されたものであった。このアウトブレイクは、若くて健康な人々に対し、短期間で中程度の強さの症状を引き起こす際のエンテロトキシン産生細菌の許容量を示している。今回のアウトブレイクはさらに、適切な食品取扱習慣の必要性や、適時に認知するという公衆衛生の重要性を強調している。[19]

【事例 8】2007 年—パラグアイ：低温殺菌されていない牛乳における食中毒の事例（400 症例、うち 60 人入院）

2007 年の 3 月、低温殺菌されていない牛乳の消費に関連した食中毒のアウトブレイクが起こった。400 人が影響を受け、そのうち 60 人が入院を余儀なくされた。黄色ブドウ球菌が 5 人の患者、3 人のオペレーター、3 つの牛乳サンプルから同定された。全ての菌種でエンテロトキシン産生が確認された。3 人の患者、1 人のオペレーター、全ての牛乳サンプルから検出された菌種は、エンテロトキシン C と D をコードした遺伝子を持っていて、区別のつかないバルスフィールドゲル電気泳動パターンを示した。牛乳が毒性の発生源として同定され、製造ラインがコンタミネーションの発生源として同定された。これがパラグアイで報告された最初の食物媒介性のアウトブレイクである。[20]

【事例 9】2007 年—カナダ：フローズンクリームブリュレ(デザート)における食中毒の事例（およそ 190 症例）

カナダ食品監視局(CFIA)は、冷凍のクリーム・ブリュレがおよそ 190 人を中毒させた疑いがある、とカナダ人に警告しています。ケベックにある「Selection du Pâtisier」によって製造されたクランベリー・クリーム・ブリュレは、黄色ブドウ球菌の毒素を含むのではないかと疑われている。メーカーは、製品がケベックで分配されたと言っているが、国中の商品棚で見つかるかもしれない。「Selection du Pâtisier」は、製品をリコールしていて、CFIA も、購入した人に対し、食べないようにと促している。CFIA は、黄色ブドウ球菌が混入した食物は、見た目にもおいも、腐っているようではなく、また、通常の料理の温度では毒素を破壊するのは難しい、と述べている。[21]

《各国の Staphylococcus aureus (黄色ブドウ球菌)による食中毒発生状況、汚染状況》

【アジア地域】

日本

○アウトブレイク件数

1996	1997	1998	1999	2000	2001
44	51	85	67	87	92
2002	2003	2004	2005	2006	2007
72	59	55	63	61	70

- ・1971～1990年の間起きた食中毒のうち24.8%が黄色ブドウ球菌による食中毒。1990年代では2～5%。
- ・1970年代では、8000症例も報告された。1980年代では、3000～5000件である。
- ・1984年より前は、毎年およそ200件の黄色ブドウ球菌食中毒事件が起きていた。それは全ての細菌食中毒の25～35%に相当する。
- ・1995～1999年では、穀物(特におにぎり)とインスタント食品が主に原因となっている。

○アウトブレイクに関わった症例数

1996	1997	1998	1999	2000	2001
698	611	1,924	736	14,722	1,039
2002	2003	2004	2005	2006	2007
1,221	1,438	1,298	1,948	1,220	1,181

○アウトブレイク事例

- 2000年 — 大阪工場の脱脂粉乳による食中毒(13,420症例、180人入院)
- 2001年(掲載時) — 建設作業員間で報告された食中毒の事例(21症例)
- 2009年(掲載時) — 大学祭での食中毒の事例

韓国

○汚染率

- 黄色ブドウ球菌は、韓国で2番目に多い、細菌性下痢(bacterial diarrhea)の原因(2004～2006年)
- ・全ての食中毒の14.9%が黄色ブドウ球菌によるもの(1971～1990年)、15.9%(1981～1995年)。
- ・インスタント食品の4.0%が汚染(2003～2004)
- ・ベーカリー、喫茶店、サンドイッチバーで提供されるサンドイッチの1.3%が汚染(2013出版)
- ・細菌による食中毒の9.7%が黄色ブドウ球菌によるもの(1981～1995年)
- ・食品関連のアウトブレイクの61.7%、アウトブレイク症例の81.5%がノロウイルスもしくは黄色ブドウ球菌によるもの(2002～2006年)

○主なアウトブレイク事例

- 2013年(掲載時) — テジョンのレストランで出されたフライドチキンによる食中毒の事例(8症例)

中国

○汚染率

- ・浙江省湖州市の病院で治療を受けている下痢の患者数の 15.4%が黄色ブドウ球菌によるもの。
- ・検査を受けた食料品の 7%(生肉の 11%、調理製品の 3.1%、生乳製品の 16.3%を含む)は、黄色ブドウ球菌に汚染されている(Yangzhou, 2007 年出版)

○アウトブレイク事例

- 1989 年 — 中国から輸入したマッシュルームの缶詰によるアメリカでの食中毒の事例(4 件、99 症例)
- 2007 年 — 中国南部の結婚披露宴における食中毒の事例(371 症例)

台湾

○アウトブレイク件数

1996	1997	1998	1999
10	7	8	11

- ・1986 年～1995 年で、169 件の食中毒が報告された(6,651 症例)。全ての食中毒の 30%にあたる。
- ・2001 から 2003 年までに 247 症例が報告された。
- ・1994 年は食品関連食中毒のうち、20.3%が黄色ブドウ球菌によるものだった。

○食品関連の全食中毒における黄色ブドウ球菌食中毒の、各年における割合

1995	1996	1997	1998	1999
6%	1%	3%	2%	1%

○豚肉の食中毒における黄色ブドウ球菌食中毒の割合

2003	2006	2007	2008	2009	2010
4.8%	6.6%	10.8%	5.1%	6.4%	7.4%

タイ

- ・発酵ソーセージ(Nham:traditional fermented pork)の 39.3%に黄色ブドウ球菌が混入。しかし、エンテロトキシン陽性は 0%(2009 年出版)
- ・オープンマーケットの食品のうち 39%が汚染

○アウトブレイク事例

- 1990 年 — スポーツ大会で出されたエクレアによるセレウス菌、黄色ブドウ球菌食中毒の事例(485 症例)

マレーシア

○アウトブレイク事例

- 1983 年 — カンパルで発生した黄色ブドウ球菌による食中毒の事例

インド

○アウトブレイク事例

- 1965 年 — ニューデリーの航空機で出されたデザート(Trifle dessert)による食中毒の事例(15 症例)

【オセアニア地域】

オーストラリア

○アウトブレイク件数

1980-95	95-2000	2002
9	5	2

○アウトブレイクに関わった症例数

1980-95	95-2000	2002
99(1死亡)	78	15

○汚染率

- ・小売りの牛ひき肉の 28.1%、羊肉の角切り(diced lamb)の 22.5%が汚染(2008 出版)
- ・腰肉(striploins)の 7.7%、骨無し牛肉(boneless beef)の 3.4%、プライマルカットの外側の 8.4%が汚染(2011 年)

○アウトブレイク事例

- 1965 年 — アデレードの航空機で出されたローストチキンによる食中毒の事例 (4 症例)
- 1997 年 — クイーンズランド州の老人ホームで出されたカレー卵(curried egg)による食中毒の事例 (42 症例)
- 2000 年 — クラブにおいて、初老の人々(elderly persons)に出されたチキンによる食中毒の事例(18 症例)
- 2002 年(掲載時) — クイーンズランド州で報告されたアウトブレイクの事例

ニュージーランド

○アウトブレイク件数

1998	1999	2001	2002	2003	2004	2005
8	16	11	4	2	2	5
2007	2008	2009	2010	2011	2012	
2	0	0	2	0	1	

○アウトブレイクに関わった症例数

1998	1999	2001	2002	2003	2004	2005
41	43	23	9	11	6	21
2007	2008	2009	2010	2011	2012	
6	0	0	6	0	3	

【ヨーロッパ地域】

イギリス (イングランド、ウェールズ)

○アウトブレイク件数

1980	1981	1993	1994	1995	1996
11	10	1	2	3	5
1997	1998	1999	2000	2006	2009
2	0	4	0	1	3

- ・1969年から1990年までで、黄色ブドウ球菌のアウトブレイクは359件起きている。このうち、牛肉と鶏肉が75%、魚が7%、牛乳製品が8%を占める。
- ・黄色ブドウ球菌の食中毒は、1992年から1993年では食品関連アウトブレイク全体の2%、1993年から1998年では1%を占める。
- ・1992年から1999年の間に、イングランドとウェールズで報告されたアウトブレイクは、鶏肉が10件、魚が1件だった。
- ・1992年から1999年の間で、イングランドとウェールズで報告された8件のアウトブレイクは、赤肉(red meat)が原因である。
- ・ウェールズの学校で出されたインスタント食品(ready-to-eat food)の0.17%で黄色ブドウ球菌が見つかった。(2009年)
- ・イングランド、ウェールズ、スコットランド、北アイルランドにおける ready-to-eat specialty meats の0.2%で、黄色ブドウ球菌が見つかった。(2008年)

○アウトブレイク事例

- 1984年 — イタリアから輸入したラザーニャによる食中毒の事例(47症例 in U.K)
- 2009年 — 教会で出されたパエリアによる食中毒の事例(20症例)
- 2009年 — 警察でサンドイッチを食べた職員の食中毒の事例(47症例)

ギリシャ

○汚染率

- ・ドライソーセージ(traditional fermented dry sausage)を生産している小規模の設備工場(small-scale facilities)から採取されたサンプルの11.7%が汚染されていた。(2008年)
- ・小売店で売られている新鮮ジュースの3.34%は汚染されていた(2011年)。
- ・クレタ島からのチーズサンプル(Pichtogalo Chanion cheese)の6.45%は汚染されていた(1998年)。
- ・大学食堂で提供されているデザートのカリム(cream)の12%は汚染されている(2001年~2010年)

○アウトブレイク事例

- 2005年 — ギリシャ西部にある空軍基地で出された粉チーズによる食中毒の事例(600症例以上)

マケドニア

○アウトブレイク件数

1993	1994	1995	1996	1997	1998
0	1	0	3	1	1
1999	2000				
2	1				

○アウトブレイクに関わった症例数

1993	1994	1995	1996	1997	1998
0	133	0	84	35	28
1999	2000				
28	27				

○アウトブレイク事例

2008年 — スコピエで発生したクリーム入りのパン菓子による食中毒の事例(87 症例)

ドイツ

○アウトブレイク件数

1993	1994	1995	1996	1997	1998
8	5	5	4	2	2
1999	2000	2008	2009	2010	2011
1	0	1	3	2	2

○アウトブレイクに関わった症例数

1998	1999	2009
94	6	8

・食品関連のアウトブレイクのうち、2%が黄色ブドウ球菌食中毒(1990年~1992年)。2.8%(1993年~1998年)

・北西ドイツの胃腸症状の1.7%が黄色ブドウ球菌によるもの(2004年)

○アウトブレイク事例

2008年 — バーデンウエルテンベルク州の結婚式で発生した食中毒の事例(12 症例)

フランス

○アウトブレイク件数

1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997
25	37	35	37	60	32	34	32
1998	1999	2000	2001	2008	2009	2010	2011
48	40	45	43	211	51	220	290

○アウトブレイクに関わった症例数

1993	1997	2001	2009
1298	569	620	457

・死者なし(1997, 1998 or 2001年)

- ・黄色ブドウ球菌による食中毒は、食品関連のアウトブレイク全体の7%を占める(1990～1992年)
- ・1996年から2005年までに報告された食中毒件数は366件で、5750症例、うち2人死亡した。
- ・2006年から2008年では、133件のアウトブレイク、1401症例。

○アウトブレイク事例

2003年—Longeville-sur-le-Doubsでのフットボールの試合で発生した、サラダによる食中毒の事例

2009年—低温殺菌牛乳から作られたソフトチーズによる食中毒の事例(23症例、6クラスター)

2010年—モンペリエでのラグビーの試合において発生した、ハムによる黄色ブドウ球菌とカキによるノロウイルスの食中毒の事例(94症例)

イタリア

○アウトブレイク件数

1998	2008	2009	2010
4	2	3	3

- ・ピエモンテ地方の食中毒の6%は黄色ブドウ球菌食中毒が占める(2002年から2009年までの黄色ブドウ球菌食中毒は209件)
- ・牛肉製品の19.3%、フレッシュチーズの13.3%、焼きものの製品の3.6%、配達製品の7.7%が汚染されている(黄色ブドウ球菌は、16.3%のエンテロトキシン産生型を含んでいる。2011年)
- ・チーズは汚染されていない(2004年)

○アウトブレイク事例

1973年 — アメリカ行き航空機3便で出されたカスタードによる食中毒の事例(ローマ50症例、リスボン179症例、トータル276症例)

1984年 — イタリアから輸入したラザーニャによる食中毒の事例

ロシア

○アウトブレイク件数

1992	1993	1994	1995	1996	1997
0	3	0	1	1	9
1998	1999	2000			
0	4	4			

○アウトブレイクに関わった症例数

1992	1993	1994	1995	1996	1997
0	112	0	53	25	471
1998	1999	2000			
0	185	109			

スペイン

○アウトブレイク件数

1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999
50	39	24	40	39	36	21
2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006
22	27	31	22	33	32	28
2007	2008	2009	2010	2011		
21	32	11	9	22		

- ・全ての食品関連アウトブレイクのうち、6%が黄色ブドウ球菌食中毒によるもの(1990年~1992年)
- ・全ての食品関連アウトブレイクのうち、4.1%が黄色ブドウ球菌食中毒によるもの(1993年~1998年)
- ・301件のアウトブレイクが1994年~2003年で報告された。うち、2003年は22件(216症例)を含む。
- ・2009年のアウトブレイクに関わった症例数は、232症例。

○汚染率

- ・バレンシアでの手作りのタイガーナッツ飲料(tiger nut beverages)の汚染率は0%。

○アウトブレイク事例

- 2002年 — アストゥリアスで発生した食中毒の事例(アウトブレイク件数3件)

スイス

○アウトブレイク件数

1999	2000	2008	2009	2010
2	0	1	2	3

○アウトブレイク症例数

1999	2000
25	0

アイスランド

○アウトブレイク件数

1993	1994	1995	1996	1997	1999	2000
0	1	1	1	0	1	0

○アウトブレイクに関わった症例数

1993	1994	1995	1996	1997	1999	2000
0	7	3	5	0	2	0

- ・全ての食品関連アウトブレイクのうち、1985年~1993年では19%、1993年~1998年では10%が黄色ブドウ球菌食中毒によるものである。

アイルランド

○アウトブレイク件数

1999	2000	2001	2002	2003	2006
1	1	1	1	1	0
2007	2010	2011	2012		
0	0	0	0		

○アウトブレイクに関わった症例数

1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005
62	7	5	7	4	3	6
2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
0	0	1	1	0	0	0

○汚染率

・イングランド、ウェールズ、スコットランド、北アイルランドにおける ready-to-eat の specialty meats のうち 0.2%が汚染されている。(2008年)

オランダ

○アウトブレイク件数

1999	2000	2008	2009	2010	2011
4	1	6	2	2	1

○アウトブレイクに関わった症例数

1999	2000	2006
12	7	4

・全ての食品関連アウトブレイクのうち、1990年~1992年では10%、1993年~1998年では0.8%が黄色ブドウ球菌による食中毒である。

○アウトブレイク事例

1985年 — ドライソーセージによる食中毒の事例(6症例)

2004年 — バーベキューで食べた麺による食中毒の事例

リトアニア

○アウトブレイク件数

1996	2008	2009
1	2	2

○アウトブレイクに関わった症例数

1999	2000
104	99

アゼルバイジャン

○アウトブレイク症例数

1999	2000
0	0

ベラルーシ共和国

○アウトブレイク件数

1998	1999
1	1

○アウトブレイクに関わった症例数

1998	1999
11	11

ボスニア・ヘルツェゴビナ

○アウトブレイクに関わった症例数

1993	1994	1995	1996	1997	1999	2000
12	87	36	24	67	0	0

○10万人に対する症例数 (rates per 100,000 (Republic of Srpsca))

1993	1994	1995	1996	1997	1998
1	6	3	2	5	2

ブルガリア

○アウトブレイク件数

1993	1995	1996	1997	1999	2000	2011
2	2	7	2	1	1	4

・38 症例(1999年)、99 症例(2000年)

・10万人あたりの症例数は、0.5人(1999年)、1.3人(2000年)

・1990年~1992年の間に報告された食品関連のアウトブレイクのうち、6%が黄色ブドウ球菌食中毒

クロアチア

○アウトブレイクに関わった症例数

1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000
73	14	7	0	84	0	30	12

キプロス

○黄色ブドウ球菌食中毒症例数

1999	2000
0	0

エストニア

○黄色ブドウ球菌食中毒症例数

1999	2000
93	88

・10万人当たりの症例数は、1999年が6.43人、2000年が6.41人

ウズベキスタン

○アウトブレイク件数

1993	1994	1995	1996	1997	1998
3	1	1	1	0	1

○アウトブレイクに関わった症例数

1993	1994	1995	1996	1997	1998
46	34	19	10	0	25

《参考文献》

- [1] 黄色ブドウ球菌 安形則雄 防菌防黴 38(3), 199-208, 2010-03-10
- [2] 食中毒における毒素産生細菌とその毒素(3)黄色ブドウ球菌とエンテロトキシン 重茂 克彦 食品衛生研究 59(12), 17-23, 2009-12-00
- [3] Enterotoxigenic potential of coagulase-negative staphylococci. 2013 Apr 15;163(1):34-40. Podkowik M, Park JY, Seo KS, Bystron J, Bania J. Int J Food Microbiol.
- [4] 食品安全委員会「黄色ブドウ球菌による食中毒について」
- [5] 平成 21 年度食品安全確保総合調査「食品により媒介される感染症等に関する文献調査報告書」社団法人 畜産技術協会
- [6] 食品安全委員会 ファクトシート ブドウ球菌食中毒 (Staphylococcal foodborne poisoning)
<http://www.fsc.go.jp/sonota/factsheets/09staphylococcal.pdf>
- [7] ブドウ球菌性食中毒と MRSA 腸炎 (特集 食中毒の基礎と臨床：疾患メカニズムから予防まで) -- (最新の臨床研究と診療戦略) 奥山 祐右, 吉田 憲正日本臨床 70(8), 1362-1365, 2012-08-00
- [8] The formation of Staphylococcus aureus enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. Virulence. 2011 Nov-Dec;2(6):580-92. Schelin J, Wallin-Carlquist N, Cohn MT, Lindqvist R, Barker GC, Rådström P.
- [9] Staphylococcus aureus and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. FEMS Microbiol Rev. 2012 Jul;36(4):815-36. Hennekinne JA, De Buyser ML, Dragacci S.
- [10] Novel platform for the detection of Staphylococcus aureus enterotoxin B in foods. Appl Environ Microbiol. 2013 Mar;79(5):1422-7. Tallent SM, Degrasse JA, Wang N, Mattis DM, Kranz DM.
- [11] 感染症発生動向調査週報 IDWR 感染症の話 ブドウ球菌食中毒
http://idsc.nih.gov/idwr/kansen/k01_g1/k01_13/k01_13.html
- [12] 国際感染症情報 GIDEON <http://www.gideononline.com/>
- [13] A foodborne outbreak of gastroenteritis involving two different pathogens. Am J Epidemiol 1992 Sep 1;136(5):611-6. Meehan PJ, Atkeson T, Kepner DE, Melton M
- [14] An unusual outbreak of food poisoning. Southeast Asian J Trop Med Public Health 1995 Mar ;26(1):78-85. Thaikruea L, Pataaraechachai J, Savanpunyalert P, Naluponjiragul U
- [15] Application of pulsed-field gel electrophoresis to the epidemiological characterization of Staphylococcus intermedius implicated in a food-related outbreak. Epidemiol Infect 1994 Aug ;113(1):75-81. Khambaty FM, Bennett RW, Shah DB
- [16] A case study of a massive staphylococcal food poisoning incident. Foodborne

- Pathog Dis 2004 ;1(4):241-6. Do Carmo LS, Cummings C, Linardi VR, Dias RS, De Souza JM, De Sena MJ, Dos Santos DA, Shupp JW, Pereira RK, Jett M
- [17] Foodborne outbreak caused by *Staphylococcus aureus*: phenotypic and genotypic characterization of strains of food and human sources. *J Food Prot* 2007 Feb ;70(2):489-93. Colombari V, Mayer MD, Laicini ZM, Mamizuka E, Franco BD, Destro MT, Landgraf M
- [18] An extensive outbreak of staphylococcal food poisoning due to low-fat milk in Japan: estimation of enterotoxin A in the incriminated milk and powdered skim milk. *Epidemiol Infect* 2003 Feb ;130(1):33-40. Asao T, Kumeda Y, Kawai T, Shibata T, Oda H, Haruki K, Nakazawa H, Kozaki S
- [19] Outbreak of acute gastroenteritis in an air force base in Western Greece. *BMC Public Health* 2006 ;6:254. Jelastopulu E, Venieri D, Komninou G, Kolokotronis T, Constantinidis TC, Bantias C
- [20] [Foodborne outbreak associated with consumption of ultrapasteurized milk in the Republic of Paraguay]. *Rev Argent Microbiol* 2011 Jan-Mar;43(1):33-6. Weiler N, Leotta GA, Zárate MN, Manfredi E, Alvarez ME, Rivas M
- [21] FOOD POISONING, STAPHYLOCOCCAL, DESSERT - CANADA: ALERT, RECALL ProMED-mail. 2007; 22 Feb: 20070222.0653
<<http://www.promedmail.org>>. Accessed 22 Feb 2007.

厚生労働科学研究補助金

食品の安心・安全確保推進研究事業

食品中の毒素産生微生物および毒素に関する研究

平成25年度

分 担 研 究 報 告 書

ウエルシュ菌食中毒発現機構の解析

大阪府立大学大学院

三宅 眞実

厚生労働科学研究費補助金

食品の安心・安全確保推進研究事業

「食品中の毒素産生食中毒細菌及び毒素の直接試験法の研究」

分担研究報告書

ウエルシュ菌食中毒発現機構の解析

分担研究者 三宅 眞実 大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科 教授

協力研究者 安木 眞世 大阪府立大学大学院 生命環境科学研究科 助教

研究要旨：ウエルシュ菌は大規模型の食中毒を起こす。検査法は確立されているが、食中毒発生メカニズムには不明のことが多い。特に、腸管内での菌増殖、芽胞形成、毒素産生機構はほとんど研究されていない。本厚生労働科学研究で、新領域であるウエルシュ菌の腸管内増殖機構について、特にウエルシュ菌の芽胞形成に着目し研究を展開してきた。それは、芽胞形成は菌のエンテロトキシン産生と共制御されており、芽胞形成を抑制すれば食中毒発症を抑制することに繋がるからである。本年度はまず、昨年度に発見した胆汁酸（デオキシコール酸）による芽胞形成促進作用のメカニズム解析を行った。その結果、デオキシコール酸が芽胞形成のマスター・レギュレーターである Spo0A タンパクに直接、あるいは間接的にその上流に作用した結果、芽胞形成を強く誘導していることを明らかにできた。また、ウエルシュ菌食中毒において最も大きな役割を果たすとされるエンテロトキシンの効果を、科学的に評価するための材料を作出した。さらに、胆汁酸以外の芽胞形成調節因子を探索する過程で、マウス糞便中に芽胞形成を阻害する活性のあることを見いだした。以上の結果は、消化管内には胆汁酸などウエルシュ菌の芽胞形成を促進する圧力と、それを抑制する圧力の両者がバランスをとって存在し、このバランスが促進方向へ傾くことでウエルシュ菌食中毒のリスクが上昇する可能性を示唆するものである。今後さらにこれら成果を基に消化管内の環境因子が菌へ与える影響と、菌が宿主へ与える影響を分子レベルで解析することで、新しいウエルシュ菌食中毒発症リスク低減法を開発することが可能になることが期待される。

A. 研究目的

ウエルシュ菌はガス壊疽など創傷感染症を引き起こす他、経口感染して腸管内感染症をも引き起こす。腸管内感染症としてはトリの壊死性腸炎やウシのエンテロトキセミアが知られるが、ヒトでは本菌は食品媒介性の下痢症を引き起こす。これはウエルシュ菌食中毒と呼ばれ、その原因菌は特に A 型ウエルシュ菌に分類されるエンテロトキシン産生性ウエルシュ菌に限られる。ウエルシュ菌食中毒の原因食品は、カレー、シチューなど加熱加工食品が中心で、また大規模食品調理施設が関与する例が多いため、厚生労働省に指定されている食中毒原因細菌のうち、1 件あたりの患者数をもっとも多いことを特徴とする¹⁾。従って、ウエルシュ菌食中毒の制御には、大きな意義がある。

ウエルシュ菌食中毒は生体内毒素型食中毒に分類されている。本食中毒の発生機序として、1) 食品内での大量の生菌の存在、2) 食品を通じて取り込まれた生菌の胃通過、3) 生菌の腸管内での増殖、4) 芽胞とエンテロトキシンの産生、5) 毒素の腸管上皮細胞への攻撃、が認識されており、最終的にエンテロトキシンによる下痢誘発に至るものと理解されている¹⁾。ウエルシュ菌エンテロトキシンの産生は、菌が芽胞形成する過程と共制御されていて、つまり芽胞を形成する条件下でのみエンテロトキシン産生が起こる。これは芽胞形成に至るシグナル伝達系の下流にエンテロトキシン産生の制御系が置かれているこ

とが原因である。つまり芽胞形成を人為的に制御することができれば食中毒の制御が可能になる。ウエルシュ菌が芽胞形成する際には様々な環境因子がこれを制御していることが、試験管内での研究によって報告されてきた。しかしウエルシュ菌が実際に消化管内環境においてどのような環境因子により芽胞形成するのかについてはほとんど報告が無かった。

本厚生労働科学研究では、特に上記(4)および(5)の過程に着目して研究を展開してきた。平成23年度にはウエルシュ菌標準株を用いて *in vitro* 感染実験系を構築し、菌は消化管内では宿主細胞の代謝活性や宿主因子を利用して自らが増殖しやすい条件を作りだしていることを明らかにした。また、食中毒由来株と非食中毒由来株について腸上皮バリア破壊能を比較検討すると、食中毒由来株は同じ条件下ではバリア破壊能を示さないことを明らかにした。さらに、バリア破壊能を示さない食中毒由来株でも、環境(培地)条件を変化させるとバリア破壊を引き起こすことを明らかにした。これはウエルシュ菌の病原性が環境条件に厳密に制御されていること、またウエルシュ菌が下痢症を引き起こすためには、腸管内にある環境因子が非常に重要であることを示している。

平成24年度は *in vitro* 感染実験系を使用して消化管環境に存在する様々な因子の芽胞形成・毒素産生への影響を調べた。まず高濃度(5 mM 以上)のグルコースが芽胞形成をほぼ完全に抑制することを確認し、グルコースを溶性デンプン(soluble

starch、SS) に置き換えるとある程度まで芽胞形成・毒素産生性が回復することを確認した。また、この条件下で各種胆汁酸を添加すると芽胞形成・毒素産生が強く誘導されること、誘導効果は胆汁酸の種類により異なり、デオキシコール酸で最も効果的に (10 μ M の濃度で確認できた) みられることを証明した。これらの結果は、ウエルシュ菌が腸管内で芽胞形成・毒素産生して下痢を引き起こす際には、胆汁酸が一種の誘導因子となっており、またこれを感知するシステムを菌が持っていることを示している。

そこで本年度はこの、ウエルシュ菌の胆汁酸感知システムを解明すべく、胆汁酸の芽胞誘導メカニズムの解明を試みた。また、胆汁酸以外にもウエルシュ菌の芽胞形成・毒素産生に影響を与える因子が存在することを疑い、マウス糞便中にその存在を求めたところ、芽胞形成・毒素産生を抑制する物質が存在することを見いだした。

B. 実験方法

1) ウエルシュ菌と菌数測定

菌株は食中毒由来の NCTC8239 株、SM101 株を用いた。菌は FTG 培地で培養後、PBS で洗浄してから DMEM/SS (後述) に懸濁し下記の種々の実験に用いた。培養後の栄養型菌、芽胞の菌数算出には colony forming unit (CFU) 法を用いた。栄養型菌の算出には培養液をそのまま 10 倍階段希釈し、その 50 μ l を brain heart infusion 寒天

培地へ接種、嫌氣的に 16~24 時間培養し、培地上のコロニー数を計測した。芽胞数の検出には、培養液を 75°C (NCTC8239 株) または 65°C (SM101 株) で 20 分間加熱処理後、栄養型と同様に 10 倍階段希釈を行って CFU を算出した。総菌数は栄養型菌数と芽胞数の和とした。

2) *In vitro* ウエルシュ菌感染実験 (共培養系)

ヒト結腸由来細胞株 Caco-2 細胞は、10% ウシ胎児血清 (FCS) 含有ダルベッコ MEM (DMEM) を用いて培養した。24 ウェル・プレートに細胞を播種し、3-4 日間培養した。この細胞の培地をグルコース不含 DMEM 培地+0.4% 可溶性デンプン (DMEM/SS) に換え、1 時間培養した。ここへ FTG 培地で前培養したウエルシュ菌を接種し、様々な時間で培養後のウエルシュ菌栄養型菌数、芽胞数を上述の方法で測定した。また、経時的に菌を採取し、抽出した RNA により菌の遺伝子発現を解析した。

3) マウス糞便抽出液の調製

4 週齢の dyd マウスの飼育ケージ内に散乱する糞便を採取し、重量を測定後、MiliQ 水を 5 倍量 (w/v) となるように加え、5 分間 vortex で攪拌した。その後、4°C、9,000 \times g、20 分間遠心処理した遠心上清液を糞便抽出液とした。

4) ウエルシュ菌のマイクロプレート培養系

ウエルシュ菌の芽胞形成あるいはエンテロトキシン産生に対する宿主由来因子 (糞便抽出液) の影響を調べるために、宿主細胞の存在しない培養系としてマイク