

Salmonella hadar による食中毒事例について

An Outbreak of Food Poisoning Caused by *Salmonella hadar*

仲宗根民男・徳村勝昌・平良厚徳¹⁾

Tamio NAKASONE, Katsumasa TOKUMURA
and Kotoku TAIRA

I はじめに

Salmonella (以下, *Sal*と略する) は腸内細菌科 (Family *Enterobacteriaceae*) に属する代表的な細菌で現在までに2,000を越す菌型(血清型)が報告され病原性の面から, (1)ヒトにチフス症を起こさせるもの, (2)動物にチフス症を起こさせるもの, (3)ヒトに急性の胃腸炎(いわゆる食中毒)を起こさせるものなどがあり, とくにヒトに胃腸炎を起こさせる *Sal* の菌型の決定には多くの群型別診断用免疫血清が必要で, *Sal* 食中毒発生時の患者や食品および保菌者由来株の菌型の決定に広く利用されている。

本県では昭和54年から平成元年までの過去11年間に125件の食中毒が発生したが, 原因が究明出来た事例が89件(71.2%)であり, その内71件が細菌性食中毒であった。そして細菌による食中毒の中で実に35件(49.3%)が *Sal* による食中毒であり原因菌の第1位を占めていた。著者らは昭和63年7月に県内では初めてと思われる *Salmonella hadar* (以下, *S. hadar* と略する) による食中毒事例を経験した。

本報では本事例の概要を報告すると共に, 原因究明のために当所に依頼のあった検体の細菌学的検査結果と併せて, 分離した *S. hadar* のプラスミドプロファイル解析を実施したので, その結果を報告する。

II 材料および方法

1. 検査材料

当所に搬入された検査材料は, 食中毒推定原因

食品及び患者や保菌者から分離された菌株であった。

(1) 食品群

誕生会に出席した人がお土産として持ち帰った食品(家庭で一般に使用されている容器(135×135×45mm, 3個)に詰め, 冷蔵庫に保管されていた)を保健所の職員が収去して来た。食品はそれぞれ個別に仕訳した後, 滅菌したハサミとピンセットを使用して必要量を計量後, 滅菌生理食塩水でストマッカーを用いてホモジナイズし, 10%乳剤を作製して検査材料とした。

(2) 患者および保菌者由来株

入院し治療を受けた患者からの分離株(4株)と保健所において無症状者(保菌者)から分離した1株で, それぞれ菌型(血清型)の決定のために当所に送付された菌株であった。

2. 検査方法

(1) 食品検査

食品の10%乳剤は食中毒における食品検査指針に基づいて一般細菌数や大腸菌群を検査すると共に, SS培地・マッゴンキー培地・MS-EY培地・TCBS培地などの分離培地を使用して直接分離培養を行った(図1)。分離菌は定法に従って自家性の培地を使用して各種の生化学的性状を検査し, またバイオテスト1号(栄研)による検査も併用しながら同定した。同定された *Sal* のO群別は市販の診断用免疫血清(デンカ生研)を用いてスライド凝集反応を行った。また, H抗原の型別はH型別診断用免疫血清(デンカ生研)を用い試験管内凝集反応に

¹⁾ 中央保健所

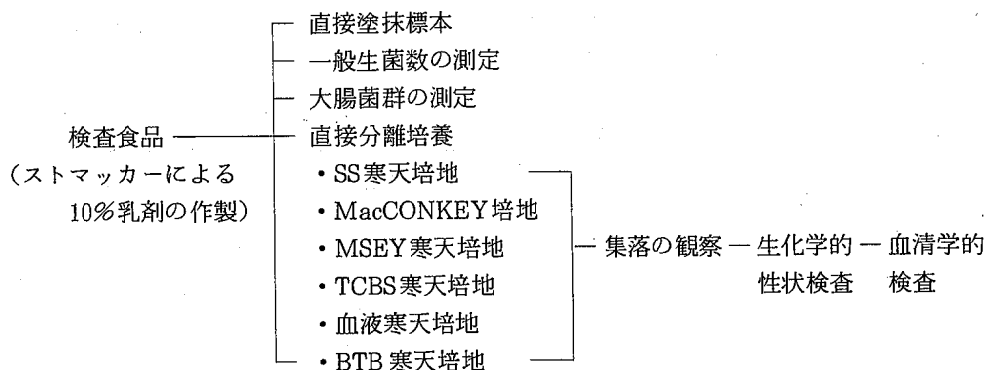


図1. 食品の細菌学的検査順序.

より実施した. H抗原の相誘導は Jamsen の方法⁵⁾により相誘導用免疫血清 (デンカ生研) を添加させた濾紙を用いて行った.

(2) 患者および保菌者由来株

患者由来 (4株), 保菌者由来 (1株) のそれぞれの分離株は普通寒天培地に再分離した後, 各種の性状を検査し, O群別およびH型別を食品由来株と同様の方法で実施した.

(3) 薬剤感受性試験

普通寒天培地に純培養した被検菌のコロニーを4~5個白金耳で釣菌し, 滅菌トリプトソイブイオン (栄研) で菌浮遊液 (McFarland 標準液 0.5濃度) を作製した. それを感受性ディスク用培地 (栄研) を分注し固めた角型1号シャーレ (栄研) に滅菌綿棒で全面に塗抹し, ディスクディスペンサーで感受性ディスク (K-B

ディスク) を配置した後, 37°Cの孵卵器で16~18時間培養後に阻止円の直径を測定した.

(4) プラスミドプロファイル解析

今回の食中毒で分離・同定された菌株はその後, 保存培地 (カシトン半流動培地) に保存をしていたところ, *S. hadar* についてもプラスミドプロファイル解析の疫学的応用が可能であるとのことが報告されたので, 食品由来株 (6株) ・患者由来株 (4株) ・保菌者由来株 (1株) を東京都衛生研究所微生物部 (細菌第一研究科太田先生のご厚意による) に菌株を送付して, 被検菌のプラスミドプロファイル解析を実施して戴いた.

III 結果

1. 発生概況

昭和63年7月29日 (金), 那覇市内の家庭におい

表1. 潜伏時間別患者数.

時間区分	患者数
3時間	1
9時間	1
10時間	1
13時間	1
14時間	2
17時間	1
不明	2
合計	9

表2. 年齢別男女別患者数.

年齢階層	男	女
1~4	1	3
5~9		
10~14		
15~19		1
20~24		1
25~29		2
50~54		1
合計	1	8

表3. 臨床症状別患者数.

症状別	有症者	無症者	発現率
下痢	7	2	77.8%
発熱	6	3	66.7%
嘔気	4	5	44.4%
頭痛	3	6	33.3%
悪寒	6	3	66.7%
戦慄	6	6	66.7%
嘔吐	4	5	44.4%
腹痛	5	4	55.6%
倦怠感	6	3	66.7%
脱力感	6	3	66.7%

て孫の1歳の誕生パーティーに提供された手作りの料理を同日午後8時から10時にかけて14名の者が喫食したところ、7月30日(土)午前0時から31日(日)午前1時にかけて悪寒、発熱、腹痛、下痢を伴う症状が起こった。翌日、県立那覇病院外来で受診したところ食中毒と診定され、6名の者が直ちに入院治療を受けた。残りの3名は比較的軽症(臨床的に)であったために病院での治療は受けなかった。8月2日(火)午前11時頃那覇病院の医師からその旨の電話連絡が入り、中央保健所が疫学調査を実施した。患者らの発症までの潜伏時間と臨床症状などを表1, 2, 3に示した。

疫学調査の結果、患者らの共通食品は7月29日の誕生会に提供された食品が推定原因食品として上げられた。幸いにも、当時提供された食品の残品が冷蔵庫に保管されていたので収去し原因究明のため細菌学的検査を実施したところ、チキンのから揚げ、おにぎり、ハムの巻き揚げなどからそれぞれSalが検出された。分離されたSalは血清学的検査の結果、*S. hadar*であることが分かった。また、同時に入院患者の便からも同菌が検出された。その後、疫学的な広がりを知るために誕生パーティーに出席した軽症者や関係者を含めた全員の検便を実施したところ、調理に従事していた主婦からも同菌が検出された。以上の結果より、本

食中毒は当時料理された食品の喫食によるSal食中毒と決定された(表4)。

表4. 食中毒事件の概要.

1. 発生年月日	昭和63年7月29日(金曜日)
2. 発生場所	沖縄県那覇市(三原)の家庭
3. 摂食者数	14名
4. 患者数	9名(男1名, 女8名)
5. 発病率	64.3%(9/14)
6. 摂食場所	家庭
7. 原因食品	チキンのから揚げ, おにぎり ハム巻揚げ
8. 病因物質	<i>Salmonella hadar</i>

2. 細菌学的検査結果

(1) 食品群からの分離状況

当所に搬入された食品群は7品目34種類で、そのうち6検体(分離率17.6%)からSalが分離されたが、それ以外の食中毒起因菌は分離されなかった。その内訳については、チキンのから揚げが8検体中2検体(25.0%)であり、以下のり巻きおにぎり4検体中1検体(25.0%)、振掛けおにぎり1検体(100.0%)および卵・チーズのハム巻き揚げ2検体中2検体(100.0%)であった。その他の食品から病原細菌は分離されなかった(表5)。

表5. 食品群からの食中毒起因菌の分離状況。(7品目34種類)

検体名	一般細菌数	大腸菌群	食中毒起因菌
チキンのから揚げ	< 10 ²	—	—
"	10 × 10 ² / g	—	—
"	20 × 10 ² / g	—	—
"	85 × 10 ⁴ / g	21 × 10 ² / g	<i>Salmonella</i> 08
"	< 10 ³	—	<i>Salmonella</i> 08
"	11 × 10 ⁴ / g	—	—
"	51 × 10 ⁵ / g	50 × 10 ² / g	—
"	27 × 10 ⁴ / g	—	—
のり巻きおにぎり	32 × 10 ⁴ / g	—	—
"	28 × 10 ⁴ / g	—	—
"	81 × 10 ⁵ / g	—	—
"	57 × 10 ⁵ / g	80 × 10 ² / g	<i>Salmonella</i> 08
振り掛けおにぎり	34 × 10 ⁶ / g	80 × 10 ⁴ / g	<i>Salmonella</i> 08
ハム巻き揚げ	42 × 10 ⁶ / g	18 × 10 ⁴ / g	<i>Salmonella</i> 08
"	27 × 10 ⁴ / g	14 × 10 ³ / g	<i>Salmonella</i> 08
ウインナー	10 × 10 ² / g	—	—
"	20 × 10 ² / g	—	—
"	25 × 10 ² / g	—	—
"	20 × 10 ² / g	—	—
"	10 × 10 ² / g	—	—
魚のから揚げ(アジ)	< 10 ³	—	—
魚のから揚げ(ベラ)	< 10 ³	—	—
魚のから揚げ(アジ)	< 10 ²	—	—
魚のから揚げ(ベラ)	< 10 ²	—	—
魚のから揚げ(ベラ)	< 10 ²	—	—
チキンナゲット	10 × 10 ² / g	—	—
"	15 × 10 ² / g	—	—
"	12 × 10 ² / g	—	—

cfu / g

cfu / g

表 6. 分離菌 (11株) の生化学的諸性状について.

検査項目	結果	食品	患者	保菌者
・グラム染色性	GNR	6 / 6	4 / 4	1 / 1
・オキシダーゼ	—	6 / 6	4 / 4	1 / 1
・カタラーゼ	+	6 / 6	4 / 4	1 / 1
・インドール	—	6 / 6	4 / 4	1 / 1
・硫化水素	+	6 / 6	4 / 4	1 / 1
・VP	—	6 / 6	4 / 4	1 / 1
・硝酸塩還元能	+	6 / 6	4 / 4	1 / 1
・IPA (SIM)	—	6 / 6	4 / 4	1 / 1
・ウレアーゼ	—	6 / 6	4 / 4	1 / 1
・リシン・デカルボキシラーゼ	+	6 / 6	4 / 4	1 / 1
・オルニチン・デカルボキシラーゼ	+	6 / 6	4 / 4	1 / 1
・アルギニン・デヒドラーゼ	+	5 / 6	4 / 4	1 / 1
・運動性	+	6 / 6	4 / 4	1 / 1
・クエン酸塩	+	6 / 6	4 / 4	1 / 1
・ONPG	—	6 / 6	4 / 4	1 / 1
・マロン酸塩	—	6 / 6	4 / 4	1 / 1
・ブドウ糖からのガス産生	+	6 / 6	4 / 4	1 / 1
・炭水化物 (酸)				
ブドウ糖	+	6 / 6	4 / 4	1 / 1
乳糖	—	6 / 6	4 / 4	1 / 1
白糖	—	6 / 6	4 / 4	1 / 1
アラビノース	+	5 / 6	4 / 4	1 / 1
マルトース	+	6 / 6	4 / 4	1 / 1
ラムノース	+	6 / 6	4 / 4	1 / 1
アドニット	—	6 / 6	4 / 4	1 / 1
マンニット	+	6 / 6	4 / 4	1 / 1
ソルビット	+	6 / 6	4 / 4	1 / 1
イノシット	+	5 / 6	4 / 4	1 / 1
・免疫血清による凝集反応	08群	6 / 6	4 / 4	1 / 1
H-抗原 第1相	Z ₁₀	6 / 6	4 / 4	1 / 1
第2相	e,n,x	6 / 6	4 / 4	1 / 1

免疫血清はデンカ生研のものを使用

分離株のそれぞれの生化学的性状を表6に示した。分離菌はグラム陰性の桿菌でチトクロームオキシダーゼ、インドール、ウレアーゼの性状は陰性でありまた、カタラーゼ、硫化水素、硝酸塩還元能、リシン・デ・カルボキシラーゼ、クエン酸塩 (シモンズ) は陽性であった。その中で食品由来株の1株だけがアルギニン、アラビノースおよびイノシットの性状が他の株と異なっていた。診断用免疫血清による凝集反応はO多価および08 (旧称C₂群) 群血清に強く凝集し、生理食塩水による自然凝集はこれを認め

なかった。H抗原は第1相がZ₁₀、2相はe,n,xとなり、Kauffmann-WhiteのSal抗原構造表よりSal亜属Iの*S. hadar*と同定された。

(2) 患者および保菌者由来株

患者や保菌者から分離された菌株は食品から分離された株と同様な生化学的性状を示し、また血清学的にもO抗原およびH抗原の第1相と2相共に同様の結果を示したので、両者の成績より*S. hadar*と同定した (表6)。

(3) 薬剤感受性試験

11株共に同様な結果を示し、ペニシリン系抗

菌剤のABPCには耐性でPIPCには感受性であった。セフェム系の場合はCMZおよびCTMの両者に感受性で、アミノグリコシド系の場合はSMが耐性であった。テトラサイクリン系の場合はTCおよびMINOの両者共に耐性であった。その他の抗菌剤についてはFOMに感受性であった(表7)。

(4) 分離株のプラスミド保有状況

分離した*S. hadar* 11株のうち、10株(写真1 No.3~6およびNo.8~13)が共通して約2.5 Kbのプラスミドを保有していた。患者由来の1株のみにプラスミドの存在が認められなかった。従って、11株中で10株の*S. hadar*が同様のプラスミドを保有していることが分かった(表8)。

表7. 分離菌株(11株)の薬剤感受性について。

抗菌剤(略称)	耐性	感受性
ペニシリン系		
アンピシリン(ABPC)	11	0
ピペラシリン(PIPC)	0	11
セフェム系		
セフメタゾール(CMZ)	0	11
セフォチアム(CTM)	0	11
アミノグリコシド系		
ゲンタマイシン(GM)	0	11
アミカシン(AMK)	0	11
ストレプトマイシン(SM)	11	0
テトラサイクリン系		
テトラサイクリン(TC)	11	0
ミノサイクリン(MINO)	11	0
その他の薬剤		
ホスホマイシン(FOM)	0	11

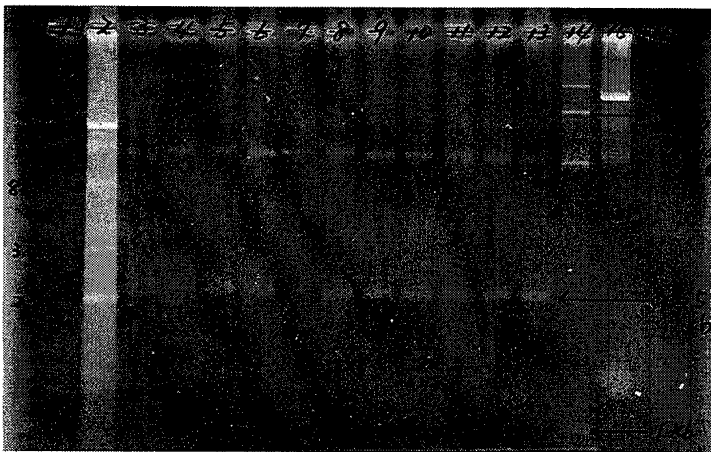


写真1 *Salmonella hadar* 11株のプラスミドプロファイル解析
 カラムNo. 1, 16はblank, 2, 14, 15は対照菌株, 3~13は被検菌株。

表8. 分離株のプラスミド保有状況について。(人由来5株 食品由来6株)。

カラム No	検体名	分離菌	プラスミド	備考
人由来	3 神○末○ (女 51歳)	<i>S. hadar</i>	約2.5 Kb	保菌者
	4 平○勇○ (男 1歳)	<i>S. hadar</i>	約2.5 Kb	患者
	5 大○さ○み (女 24歳)	<i>S. hadar</i>	約2.5 Kb	患者
	6 平○杏○ (女 4歳)	<i>S. hadar</i>	約2.5 Kb	患者
	7 神○末○ (女 19歳)	<i>S. hadar</i>	保有せず	患者
食品由来	8 チキンのから揚げ	<i>S. hadar</i>	約2.5 Kb	食品
	9 チキンのから揚げ	<i>S. hadar</i>	約2.5 Kb	食品
	10 ハム巻き揚げ	<i>S. hadar</i>	約2.5 Kb	食品
	11 のり巻きおにぎり	<i>S. hadar</i>	約2.5 Kb	食品
	12 振掛けおにぎり	<i>S. hadar</i>	約2.5 Kb	食品
	13 ハム巻き揚げ	<i>S. hadar</i>	約2.5 Kb	食品

IV 考察

近年, *Sal* による食品および環境汚染の著しい増加は多数の研究者の報告するところであり, また都市下水および河川水などの高度汚染が指摘され公衆衛生上重要な問題を提起している. 市販食肉の *Sal* 汚染率は報告者によって異なるが, 鶏肉が最も多く10~40%, 次いで豚肉10~20%, 牛肉6~8%でありこれらの食肉の汚染菌量は100g当たり $10^1 \sim 10^3$ オーダーであると言われている. 本県では, 過去11年間の沖縄県食中毒発生状況によると, 原因が究明出来た細菌性食中毒の49.3%が *Sal* による食中毒で原因菌の半数近くを占めている. また, その原因食品は圧倒的に肉類および加工食品等が多く本県の食習慣を物語っているものと思われる. 散発例としての *Sal* 胃腸炎については県下では平良らの中部病院における過去8年間の事例での報告によると, その菌型は多岐に亘っており, その中で *S. hadar* による散発例は, 僅か1例 (昭和63年の1例) が存在するのみである. また, 過去11年間に発生した食中毒事例でも本菌型は報告されていない. 従って今回の報告が本県における *S. hadar* による最初の事例であることが伺える. しかしながら, 本邦における病原微生物検出情報によると, 年々 *S. hadar* の食品や患者および環境からの分離頻度が増大してきている. 今回, 著者らが経験した事例は小規模の *Sal* 食中毒であったが, 細菌学的検査の結果, 食品や患者および保菌者と思われる主婦からも同一菌型の *Sal* を検出したことにより原因が究明出来た. 食中毒を起こした原因菌の由来に関しては原材料がすでに *Sal* に汚染されていたために調理課程で調理器具 (包丁, まな板, 布巾など) が汚染され, それを介して別の食品への二次汚染があったか, あるいは調理人が原因食品である食品の調理や準備, 盛り付けなどをすべて同人が行っていること, またその料理を多く摂食しているにも拘らず, *Sal* 食中毒特有の症状も見られなかったことから保菌者であった可能性が考えられた. しかしながら食品および患者由来株との因果関係にまで至らなかった. *Sal* 食中毒の場合, 原材料の汚染と同時に保菌者との関係が問題となり, 原因施設における調理従事者の保菌状態は食品への汚染を招くこと

ともなりかねない.

従来細菌学的検査方法では最終的に診断用免疫血清による菌型の確定によって同一菌として来た. *Sal* 食中毒菌として有名な *Salmonella typhimurium* などの場合は比較的研究が良く進んでいてフェージ型別やプラスミド解析などによって詳細に菌の持つ生物学的性状を検討し, 同一血清型であってもこれらの性状によって更に細分することが可能であり, 広く疫学的に応用されてきたが, その他の *Sal* については良く知られていなかった. ところが太田らによって, 標識法としてのプラスミドプロファイル解析が *S. hadar* にも応用することが可能で, 彼等の経験した事例も含め他県の事例と合わせて7事例について検討した結果, 4事例がプラスミド保有株による食中毒であり, 同一事例の患者・原因食品および保菌者などの関連性を示唆し, *S. hadar* に関してもその疫学的応用が有用であることを実証した. 今回の食中毒で分離した11株の *S. hadar* について, そのプラスミドプロファイル解析を実施して戴いたところ, 11株中10株が同一のプラスミドを保有していたことが分り, また薬剤感受性試験においても全ての株が同様なパターンを示したことから本食中毒から分離した患者・食品・保菌者由来株の同一性が認められた. プラスミドが認められなかった残りの1株については患者由来株であったが分離当初は同一のプラスミドを保有していた可能性があり, あるいはプラスミド抽出の際, 欠落があることなどが考えられた (私信). 本事例における3者 (患者, 食品, 保菌者) の関係はプラスミドプロファイル解析によって一連の関連性が証明されたが, 同菌の存在は調理の過程で調理者が食品を汚染したのか, それとも原材料がすでに *Sal* に汚染されていたのかは不明である. ところが疫学調査によると原材料は近所のスーパーで購入された食品であり, 当時この様な食中毒症状を起こしたとの情報は他にないこと, また *S. hadar* は食中毒起因菌としては希な菌型であり, 全国微生物検出情報によると昭和61年頃から増加傾向にあり, ヒト由来と食品由来の分離頻度の差はヒト由来の場合が大幅に上回っていることなどから現時点では調理者による食品への汚染も考慮される. そのような理

由から、その後保健所を通して調理に従事した主婦に対して再度の検便をお願いしたところ検査の機会を与えて貰えなかったことは残念であった。

ヒトの *Sal* の保菌状況については報告者によって若干の差はあるが大久保によると健康者の場合で 0.034 ~ 0.061 % で、また戸田による給食従事者は 0.58 %, 食品業者が 1.42 %, 一方、小野川らによると食品取扱者が 0.03 ~ 0.18 % などとなり、一般健康者における保菌者としての存在は希である。同種の食中毒事件における食品と保菌者の相互関係には今後も監視の目を緩めることなく、その因果関係の解明に努力しなければならないと思われる。従来から事業所としての食品関係施設の従事者には保健所で実施する健康診断の中に保菌者検索のチェック機構などがあり、もし保菌者であれば一定期間は調理に従事させないなどの措置を取り、食品の安全性を確保しているが、この様な一般家庭における主婦に対する場合は同措置が困難であり、従って食品の取り扱いに関しては十分な注意を払わなければならないと思われる。

V まとめ

那覇市内の家庭で発生した *Sal* 食中毒は摂食者数 14 名患者数 9 名の小規模の食中毒であったが、細菌学的検査の結果、食品や患者および保菌者より *S. hadar* が分離・同定された。同菌型による食中毒は全国的にも余り例がなく特異な菌型であるが近年、病原微生物検出情報などによると増加傾向が伺える。今回の事例で分離された *S. hadar* はプラスミドプロファイル解析によると同一のプラ

スミドを保有していることが分り、その疫学的有用性が実証された。

S. hadar 11 株のプラスミドプロファイル解析を快く実施して戴いた東京都衛生研究所微生物部細菌第 1 研究科の太田建爾先生に感謝いたします。

本報告の要旨は第 15 回九州衛生技術協議会で報告した。

VI 参考文献

- Jameson, J. E. (1961) Mon. Bull. Minist. Hlth. Lab. Serv., 20 (14)
- 楠淳・太田建爾 (1989) サルモネラにおけるプラスミドプロファイルの疫学応用。微生物検出情報 (月報), 国立予防衛生研究所, 111
- 沖縄県環境保健部環境衛生課 (昭和 54 年 ~ 平成元年) 沖縄県食中毒発生概況報告。
- 坂井千三編 (1988) 食中毒菌の制禦中央法規出版, pp. 27-33
- 坂崎利一編 (1984) 食中毒 I, 中央法規出版, pp. 589-602.
- 平良恵貴・島袋良秀・山里香代・蕃盛賢・平敷克哉 (1989) 当院で分離されたサルモネラの血清型について。中部病院医誌, 15 (1)
- 柳沢健編 (1978) 微生物検査必携, 細菌・真菌検査, 第 2 版, 日本公衆衛生協会。
- 善養寺浩・坂井千三 (1979) 腸管系病原菌の検査法, 第 3 版, 医学書院。