

茨城県内で発生した黄色ブドウ球菌による食中毒事例について

茨城県衛生研究所 細菌部

○中本有美 山本和則 深谷節子 増子京子

【はじめに】

黄色ブドウ球菌は、環境中や動物、ヒトの皮膚・鼻腔等広く存在している。また、同菌が食品中で増殖する際に産生するブドウ球菌エンテロトキシン（以下 SE）を摂取することで、嘔吐を主徴とした食中毒をおこすことが知られている。近年、食中毒発生件数は減少傾向にある一方で、従来型 SE 以外の新型 SE の存在が報告されている。昨年度、当県では黄色ブドウ球菌が原因と考えられる食中毒事例が 2 件発生したため、通常の SE 産生試験と併せて新型 SE 遺伝子の検査も実施したので、その結果について報告する。

【事例 1】

<概要>

平成 27 年 6 月 18 日に県内幼稚園において、家庭教育学級実施時に提供された昼食を喫食した園児及び保護者が、嘔吐・腹痛・下痢の症状を訴えている旨の報告が管轄保健所にあった。保健所が調査したところ、昼食には給食センターの給食と菓子屋の製造したおにぎりが提供されており、昼食喫食者 121 名中 32 名が症状を呈したことが確認された。給食センターは他の教育機関にも 1,920 食を提供していたが、他施設から発症者は確認されなかったため、菓子屋のおにぎりが原因と疑い調査がすすめられた。なお、喫食後 3～12 時間で発症し、発症者の症状は吐気 94%、嘔吐 88%、腹痛 63%、下痢 56%であった。

<材料・方法>

菓子屋施設ふきとり 10 検体、従業員糞便 3 検体、有症者糞便 7 検体、嘔吐物 4 検体、食品 7 検体（幼稚園残品 4 検体、菓子屋 S 残品 3 検体）計 31 検体について食中毒起因菌検査（11 項目）を行った。黄色ブドウ球菌は、X-SA 寒天培地（日水製薬）を用いて分離培養し、定型的集落を純培養後分離し、SET-RPLA（デンカ生研）を用いて SE 型別（SEA～SED）を実施した。SE 産生が確認された菌株はデンカ生研免疫血清を用いてコアグララーゼ型別を行った。食品は、エンテロトックス「F」（デンカ生研）を用いて、食品から直接 SE を検出することを試みた。

さらに、新型 SE 遺伝子の保有状況を確認するため、Multiplex PCR を図 1 のとおり実施した。

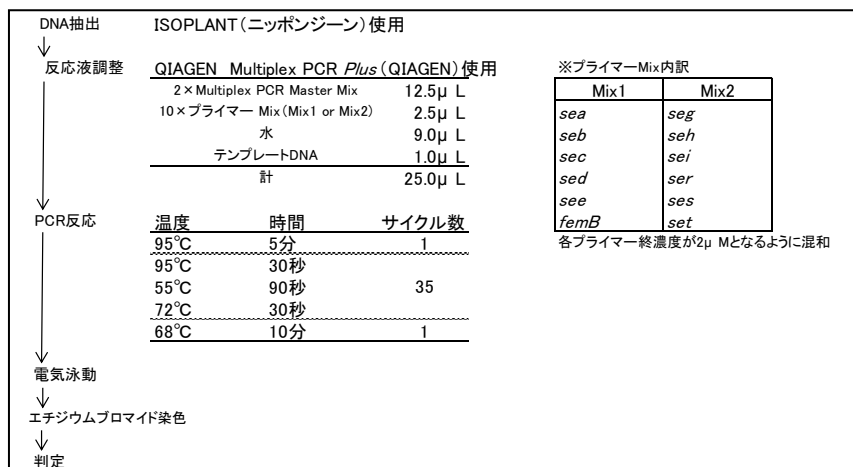


図 1. Multiplex PCR 手順

<結果>

施設ふきとり検体 3 検体（おにぎり型，まな板，シンク蛇口），従業員糞便 3 検体，有症者糞便 6 検体，食品 5 検体（幼稚園残品の赤飯，おにぎり類，菓子屋残品のおにぎり）から黄色ブドウ球菌のみが分離された。分離黄色ブドウ球菌についてコアグララーゼ型別試験を実施したところすべてⅦ型であった。また分離菌株の SE 型は RPLA 法で SEA が検出されたが，その後実施した PCR において *sea* 及び *seh* が検出され，従来型 SEA 遺伝子だけでなく，新型 SEH 遺伝子もあわせて保有していたことが確認された。食品中の SE は，シャケおにぎりから SEA が検出され，その濃度は 16ng/g と算出された。

【事例 2】

<概要>

平成 27 年 9 月 30 日に，救急隊員から保健所へ「29 日夕方に食中毒を疑う患者 2 名を医療機関へ搬送した」旨の報告があった。その後医療機関からも同様の報告があり，管轄保健所が調査を行った結果，患者 2 名の共通食が 29 日昼の弁当屋で製造した日替わり弁当であることが確認された。また，同じ日替わり弁当を喫食した当該グループを含む 8 グループ 39 名中 13 名が食中毒症状を呈していた。喫食後 3～10 時間で発症し，発症者の症状は下痢 100%，吐気 77%，嘔吐 62%，腹痛 54%であった。

<材料・方法>

施設ふきとり 12 検体，有症者糞便 5 検体，食品 9 検体計 26 検体について食中毒起因菌検査（11 項目）を行った。黄色ブドウ球菌の検査については，事例 1 と同じ方法で実施した。

<結果>

食品中から SE は検出されなかったが，施設ふきとり 1 検体（盛り付け台），有症者糞便 1 検体，食品 2 検体（玉子ロール，千切りキャベツ）から黄色ブドウ球菌のみが分離された。分離菌株はすべてコアグララーゼⅦ型であり，SE は RPLA 法で SEA 及び SEC が検出された。また，その後実施した PCR により *sea,sec* 及び *seh* が検出され，事例 1 と同様に従来型 SE 遺伝子だけでなく，新型 SE 遺伝子も保有していることが確認された。

2 事例の PCR 結果から，黄色ブドウ球菌は高い割合で新型 SE 遺伝子を保有している可能性があると考え，当所で保存していた過去分離株（有症苦情分離株含む）を用いて SE 遺伝子保有状況を調査した。平成 12 年以降に発生した 10 事例の分離菌株 28 株を対象として，SE 遺伝子検出 PCR を実施したところ，4 株が従来型 + *seh* を，5 株が従来型 + *sei,seg* を保有していることが確認できた。また，RPLA 法では SE 非産生菌株の中には *sei,seg* のみを保有している株が 9 株存在していた。

【考察】

2 事例とも食品，ふきとり及び糞便から黄色ブドウ球菌が分離され，事例 1 では SEA を，事例 2 では SEA 及び SEC を産生していた。食品からの SE 検出は事例 1 では 16ng/g であり，事例 2 においては検出することができなかった。事例 1 ではおにぎり 1 個（約 100g）を喫食したと考えれば，発症量（一般的に 100ng/ヒト）に届くと考えられる。事例 2 では食品中での汚染の偏りがあり，毒素量が検出感度以下であったと推察した。

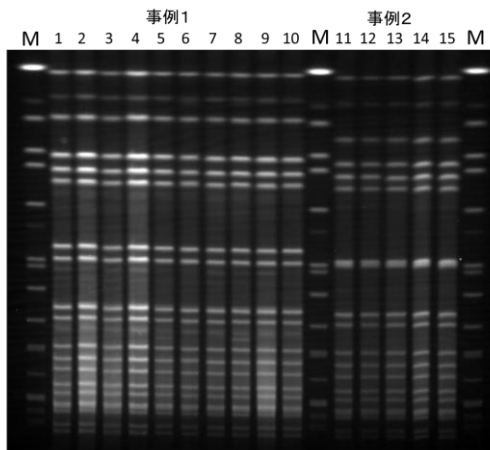
また，今回当所では新型 SE 遺伝子も検出できる Multiplex PCR を実施し，従来型とともに新型 SE 遺伝子も保有していることが確認できた。この結果から，過去の分離株を用いて SE 遺伝子の探索を実施し，新型 SE 遺伝子の存在を確認することができた。このことから，黄色ブドウ球菌は複数の SE 遺

伝子を保有していることが多く、以前から新型 SE 遺伝子を高い割合で保有していたと考えられた。SE 遺伝子を利用することで、従来の RPLA 法では検出できない SE に対応でき、その組み合わせによって疫学マーカーとして利用できることが示唆された。

現在までに黄色ブドウ球菌食中毒として報告されているものの大半が従来型の SEA~SEE によるものだが、他県では新型 SE の関与が疑われるものも少数ではあるが報告されている。そのため、当県でも引き続き新型 SE 遺伝子の保有状況を調査するとともに、新型 SE による食中毒等の今後の動向に注意していきたい。

表 1. 事例概要

	事例1	事例2
施設	菓子屋	弁当屋
喫食者数	121名	39名
患者数	32名	13名
喫食日時	平成27年6月18日昼	平成27年9月29日昼
検査検体内訳	検体名	検体名
	黄色ブドウ球菌陽性数/検体数	黄色ブドウ球菌陽性数/検体数
	施設ふきとり 3/10	施設ふきとり 1/12
	従業員糞便 3/3	従業員糞便 -
	有症者糞便 6/7	有症者糞便 1/5
	嘔吐物 0/4	嘔吐物 -
	食品 5/7	食品 2/9
推定原因食品	おにぎり	日替わり弁当
(菌数)	($3.4 \times 10^6 \sim 4.3 \times 10^{10}$ 個/g)	($1.6 \times 10^3 \sim 1.3 \times 10^4$ 個/g)
原因菌	黄色ブドウ球菌 (コアグララーゼVII型、エンテロトキシンA型) <i>sea,seh</i> 保有	黄色ブドウ球菌 (コアグララーゼVII型、エンテロトキシンA、C型) <i>sea,sec,seh</i> 保有



<事例1> 1~3:ふきとり由来 4~8:食品由来 9:有症者由来 10:従業員由来
<事例2> 11:ふきとり由来 12~14:食品由来 15:有症者由来
※DNAマーカーはSalmonella Braenderup H9812、制限酵素はXba Iを使用。

図 2. 2 事例の PFGE 結果

【参考文献】

- 1) Becker K., Roth R., and Peters G.: J Clin Microbiol., 36, 2548-2558 (1998)
- 2) Omoe K., Hu D. -L., Takahashi-Omoe H., Nakane A., and Shinagawa K.: FEMS Microbiol.Lett., 246, 191-198 (2005)
- 3) 狩野真由子, 重茂克彦, 品川邦汎: 岩獣会報, 35, 43-48 (2009)
- 4) 角田由紀子: 新潟県保健環境科学研究所年報, 68-72 (2013)