

保育園における *Salmonella* Heidelberg による食中毒事例

An Outbreak of *Salmonella* Heidelberg Food Poisoning in a Nursery

担当者 廣地 敬

1. はじめに

パルスフィールド・ゲル電気泳動(PFGE)パターンの解析は、食中毒事例及び感染症事例で菌株の関連性を調べ、感染源や感染経路を推定する上で重要である。

当所では平成12年度より「食中毒事例及び感染症事例のパルスフィールド・ゲル電気泳動パターンの解析について」をテーマとして調査研究を行っている。

2002年8月、札幌市内の保育園で発生した食中毒事例において、*Salmonella* Heidelberg (S.H)を検出した。この菌は、主に食肉、鶏卵とその加工食品等から検出され、欧米では *S. Enteritidis*、*S. Typhimurium* と並んで原因菌として多く報告されているが、日本では1996年、海外の施設で製造され、国際線の機内食で提供されたチョコレートムースによる食中毒以外集団発生の報告はない。

今回の事例は、S.Hが食品と患者便から検出された日本では稀な集団食中毒であり、PFGEによるDNA解析により感染源の推定を試みたので、その概要を報告する。

2. 事件の概要

2002年8月27日、市内の医療機関より保健所に同一保育園に通園する入院患者3名の便からサルモネラ属菌O4群を検出し、また、同園には他にも有症者がいるとの連絡があった。その直後に同園の園長より「8月26日から園児の欠席者が増加して

いる」との連絡があった。

保健所による喫食調査及び疫学調査の結果、園児149名中95名及び職員27名中16名の計111名の有症者が確認された。

また、原因食品としては、8月23日の昼に喫食した炒め納豆が疑われた。

主な症状は、下痢、発熱(37.0~41.0)、腹痛、倦怠感、悪寒、頭痛、嘔気、嘔吐であった(表1)。

表1. 有症者111名の主な症状

症状	下痢	発熱	腹痛	倦怠感
患者数	103	96	82	47
率(%)	92.8	86.5	73.9	42.3

症状	悪寒	頭痛	嘔気	嘔吐
患者数	45	39	30	23
率(%)	40.5	35.1	27.0	20.7

3. 検査対象

有症者の検便9検体、保存食品10検体(8月21日1検体、8月22日3検体、8月23日6検体)、飲用水(イオン水)2検体、調理器具のふき取り4検体、計44検体を対象にサルモネラ属菌の検査を行った。

また、医療機関で分離された *Salmonella* 菌株19検体について血清型別試験を行った。

4. 検査方法

4-1. 細菌検査

便検体については、直接培養は分離培地として SS 寒天培地及び DHL 寒天培地に塗抹し 37 18 時間培養を行った。増菌培養は、セテナイトシスチンプロス(SC プロス)37 18 時間増菌後に前記と同様に分離培地に接種し培養後、中央部黒色(又は無色)コロニーを確認培地 TSI、LIM、BHI に接種し 37 18 時間培養した。確認培地 TSI で斜面赤、高層黄色、硫化水素陽性又は陰性、LIM でリジン陽性、インドール陰性、運動性陽性株について菌液を調製し RapiD20E {日本ビオメリュー(株)} で同定を行い、同時に H 抗原型と O 群型別試験を実施した。

また、*Salmonella* は、複相性であるためクレイギー管を用いた相誘導により 37 18 時間培養後、管外の培地表面から一白金耳を BHI プロスに接種し 37 6~8 時間培養し菌液とした。

食品検体については、冷凍保存検体であったため BPW 培地で 37 18 時間前増菌培養後、SC プロスで 42 18 時間増菌培養し、分離培地による培養操作以降は便と同様に実施した。

ふきとり検体については、10ml のうち 1ml を採取し便検体の増菌と同様に実施した。

4-2. PFGE による DNA 解析

菌株の PFGE は、食品由来株 1 株、有症者由来株 8 株について制限酵素として *Bln* (30U), *Xba* (50U) を用い BIO-RAD : CHEF-DR で“パルスフィールド電気泳動による病原細菌の分子型別の標準化に関する研究”^{*1}の *Salmonella* spp の条件により行った。なお、泳動条件は、電圧 6 V/cm, パルスタイム 5-50sec, 22 時間, 14 である。

また、PFGE バンドパターンの解析については、泳動後の PFGE 画像を、画像解析ソフト Fingerprinting に取込みクラスター解析によりデンドログラムを作成し類似度を比較した。

5. 結果

5-1. 細菌検査

園児 3 名、職員 6 名の計 9 名の便検体のうち直接

培養により 2 検体、増菌培養により 2 検体、また、食品 10 検体中 8 月 23 日の昼食に提供された炒め納豆の計 5 検体から *Salmonella* Heidelberg (O4 : r, 1, 2) を検出した。

また、医療機関で分離された菌株 19 株について血清型別試験を行った結果、全て *Salmonella* Heidelberg と同定された。本事例の概要は表 2 のとおりである。

表 2. 事例概要

発生年月日	2002 年 8 月 27 日
発生場所	札幌市
原因施設	保育園
原因物質	<i>Salmonella</i> Heidelberg
原因食品	炒め納豆(8 月 23 日昼食)
喫食者数	園児 149 名中 138 名 職員 27 名中 25 名
発症者数	園児 95 名、職員 16 名
通院	95 名(入院を含む)
入院	17 名
死亡	0 名
潜伏期間	6~146 時間(平均 54 時間)

5-2. PFGE による DNA 解析

制限酵素 *Bln* 消化による PFGE を行った結果、患者便由来株 7 株と食品由来株 1 株は、100%の類似度で一致した。他の有症者由来株 1 株は、94.7%と高い類似度であった。(図 1)

また、制限酵素 *Xba* 消化による PFGE においても 91.7%~100%と高い類似度であった。(図 2)

6. 考察

本事例は、保育園での給食を原因とする *Salmonella* Heidelberg による集団食中毒であることが判明した。

原因となった炒め納豆は、豚ひき肉に人参、玉葱を加え加熱後冷却し、これに納豆を混ぜ合わせたものに、別に調理した炒り卵をトッピングしたものであった。保健所の疫学調査の結果、炒め納豆を食べているが、卵アレルギーのためトッピングに用いた炒り卵を食べていなかった園児 6 名については、

5名が無症状、他の1名は有症であったが便からS.Hは検出されなかったこと。また、調理の再現実験により、炒り卵の調理工程に問題があったことから、トッピングに用いた炒り卵がS.Hに汚染されたものと考えられた。

なお、炒り卵に含まれたS.Hの菌量については、保存食の量が少なく調査出来なかった。

7. 結語

患者糞便と食品から *Salmonella* Heidelberg を検出し、PFGE による DNA 解析で遺伝子型の一致が確認された保育園における食中毒事例を報告した。

参考文献

*1. パルスフィールド電気泳動の標準化

地方衛生研究所全国協議会 2000年12月20日

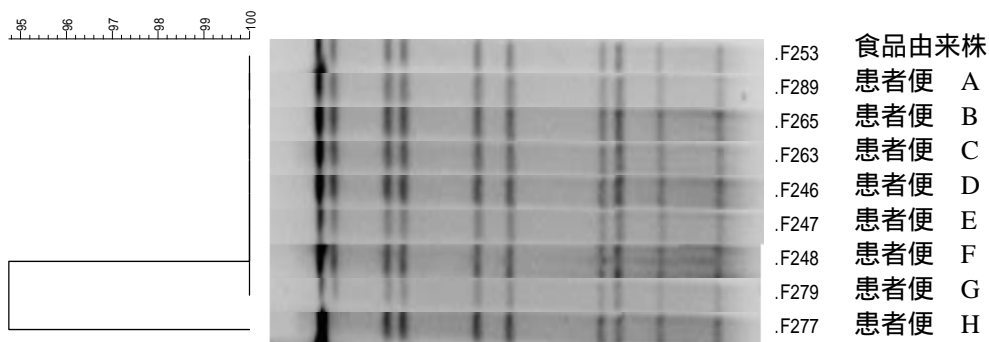


図 1 . *Bln* 消化による PFGE パターンのデンドログラム

図 1

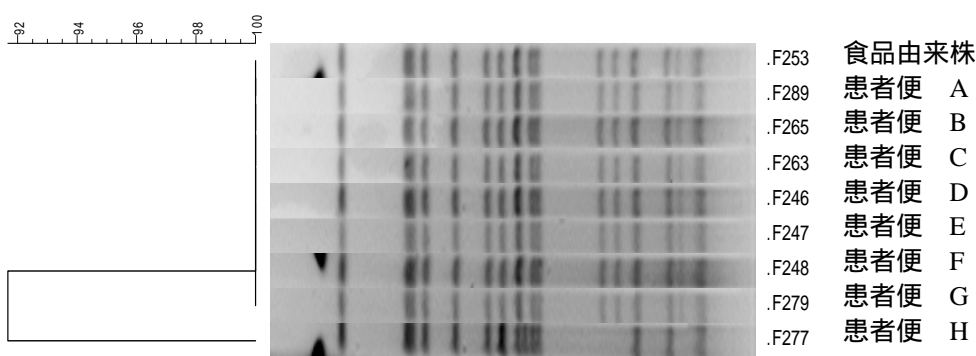


図 2 . *Xba* 消化による PFGE パターンのデンドログラム