

# O40 群 *S. Johannesburg* による食中毒事例と 同時に分離された EHEC O157 について

浅川洋美 野田裕之 金子通治 田村和満\*

An Outbreak of Food Poisoning due to *Salmonella* serovar *Johannesburg*  
and Enterohemorrhagic *Escherichia coli* O157

Hiroyoshi ASAKAWA, Hiroyuki NODA Michiharu KANEKO  
and Kazumichi TAMURA

全国でサルモネラおよび腸管出血性大腸菌（以下 EHEC と略す）O157 による食中毒や散発下痢症が多数発生している<sup>1-5)</sup>。

このような状況下、山梨県において 1999 年 5 月に飲食店を原因施設とする食中毒事件が発生した。患者から EHEC O157 : H7 Stx2 および食中毒菌としては分離頻度の低い O40 群 *Salmonella Johannesburg* が分離された。

本事例は、患者から EHEC O157 が分離されたとの医療機関から報告により、当初は EHEC O157 による食中毒として調査が開始された。その後の聞き取り調査および細菌学的検査から、EHEC O157 による食中毒ではなく、本県で初めて分離された *S. Johannesburg* を原因とする食中毒事件であることが判明した。

今回、今後の食中毒の疫学的基礎資料とする目的で、この事件の概況と細菌・疫学的成績について検討を加えたので報告する。

## 材料および方法

### 1. 食中毒原因菌の検査方法

常法<sup>6)</sup>どおり食中毒の細菌検査を実施した。

サルモネラ検査については、増菌培地にセレナイト培地、分離培地に DHL および SSB 寒天培地を用いた。糞便からの分離には、直接分離培養も行った。食品からの分離には EEM ブイヨン培地も使用した。

EHEC 検査については、増菌培地には mEC 培地、分離培地には SMAC、CT-SMAC およびクロモアガー培地を使用した。また、免疫磁気ビーズ法も併用した。

\* : 国立感染症研究所

### 2. サルモネラの同定

サルモネラの同定は常法<sup>6)</sup>に従い、生化学的および血清学的性状検査からサルモネラと同定し、その血清型を決定した。市販血清では血清型を判別できないものについては、国立感染症研究所に依頼し同定した。

### 3. 志賀毒素産生試験

逆受身ラテックス凝集法 (RPLA 法) と遺伝子増幅法 (PCR 法) の両法を実施した。

### 4. 薬剤感受性試験

NCCLS 法の規格に準拠した一濃度ディスク法 (BBL センシディスク) により測定した。使用薬剤は、既報<sup>7)</sup>の 12 薬剤である。

### 5. パルスフィールド電気泳動法 (PFGE) による DNA 分析

国立感染症研究所の方法<sup>8)</sup>に準拠し、実施した。制限酵素は *Xba*I および *Bln*I を用い、既報<sup>5)</sup>のとおり行った。

## 事件の概要

本食中毒の概要を表 1 に示した。5 月 14、15 日の 2 日間に A 飲食店を利用した 5 グループ 61 人中 20 名が、15～17 日に下痢、腹痛、発熱を主症状とする食中毒症状を呈した。患者 5 名、無症状者 6 名および従業員 2 名から *S. Johannesburg* が分離された。A 飲食店以外に共通利用施設はなく、症状、発症時間等の疫学調査から、この A 飲食店を原因施設とする *S. Johannesburg* による食中毒と推定された。しかし、原材料の食品からは、*S. Johannesburg* は分離されず、原因食品は特定されなかった。

表1 食中毒の概要

発生年月日	1999年(H11)5月15日	
発生場所	自宅	
摂食者数	61名(14日:19名 15日:42名)	
患者数	20名(発症率32.8%)	
原因食品	不明	
病因物質	サルモネラ(S. Johannesburg)	
分離菌	S. Johannesburg	13株
	S. Rissen(食品)	2株
	E. coli O157:H7 Stx2	2名
原因施設	A飲食店	

表2 食中毒事件の経過

月日(曜日)	経過の概略
5.14(金)	午後9時、会社員K(N会社)が仲間6人とA飲食店で喫食。
15(土)	会社員K夕方初発(下痢 腹痛 発熱)。午後5時、会社員T(N会社)は仲間19人とA飲食店で喫食。
17(月)	会社員KはB病院に受診。会社員TはC病院に受診。
19(水)	B病院より会社員Kから病原大腸菌O157分離との連絡——事件の探知当所でStx2の産生を確認。仲間3人にも症状有り。
21(金)	C病院より5.15(土)にA飲食店で喫食したN会社の会社員Tからサルモネラを検出したと保健所へ連絡。 患者数/喫食者数 5.14(金)7/19(2グループ:N会社社員, 学生) 5.15(土)13/42(3グループ:N会社社員, サークル, 公務員)
22(土)	A飲食店営業禁止(4日間)

なお、患者のうち2名からEHEC O157:H7 Stx2が分離され、細菌・疫学的に検討したが、原因食品、原因施設等は不明であった。

### 事件の経過

経過の概略を表2に示した。5月14日(金)の夜、N会社の会社員Kが仲間6人とA飲食店で喫食し、翌15日(土)の夕方、下痢、腹痛および発熱等の症状を呈した。

表3 患者の症状別発現率

症状	患者数	%
下痢	19	95.0
発熱	12	60.0
腹痛	11	55.0
悪寒	7	35.0
倦怠感	3	15.0
頭痛	2	10.0
嘔気	1	5.0
悪寒	1	5.0

表4 潜伏時間別患者発症率

時間	患者数	%
1	1	5.0
12~16	4	20.0
~20	5	25.0
~24	6	30.0
~28	1	5.0
~36	1	5.0
~42	1	5.0
~67	1	5.0

表5 患者の摂食状況

メニュー	患者数	%
生レバー(馬)	19	95.0
焼き鳥	15	75.0
馬刺し	11	55.0
タコぶつ	7	35.0
フライドポテト	6	30.0
焼き肉	5	25.0
漬け物	4	20.0

17日(月)Kは、B病院に受診した。2日後の19日(水)にB病院より、この会社員Kから病原大腸菌O157が分離されたとの連絡があり、当所でStx2の産生を確認した。保健所の調査の結果、仲間3人にも症状があることが判明し、EHEC O157による食中毒として疫学調査が開始された。

一方、21日(金)にC病院から、15日(土)にA飲食店で喫食したN会社の別の会社員Tからサルモネラが検出され

表6 細菌検査結果

検体	検体数	Sal (陽性数)	O157 : H7 Stx2 (陽性数)	SPC・CFG/g
施設ふきとり	10	0	0	NT
食品				
生レバー (馬)	2	Rissen (2) <360/100g (MPN) 360/100g (MPN)	0	$1.9 \times 10^4$ , $2.0 \times 10^4$ $4.6 \times 10^4$ , $6.8 \times 10^2$
焼き鳥	1	0	0	NT
馬刺し	1	0	0	NT
糞便				
患者	12	Johannesburg (5)	1	NT
無症状者	14	Johannesburg (6)	0	NT
従業員	3	Johannesburg (2)	0	NT

表7 分離株の薬剤感受性

菌名	株数	薬剤感受性
S. Johannesburg	13	Sensitive
S. Rissen	2	Sensitive
E. coli O157 : H7 Stx2	2	Sensitive

使用薬剤：SA, SM, TC, CP, KM, ABPC, CET, CFX, LMOX, NA, NFLX, SXT

たとの連絡が保健所にあった。

本事件は、当初 EHEC O157 : H7 による食中毒として調査が開始されたが、以後、サルモネラ食中毒としても調査がなされた。両日の喫食者数と発症者は、14日(金)に2グループ(N会社の社員、学生)、19人中7人、15日(土)に3グループ(N会社の社員、サークル関係、公務員)、42人中13人で合計61人中20名であった。

## 疫学調査および検査結果

### 1. 患者の症状別発現率

患者の症状別発現率を表3に示した。主な症状は、多い順に下痢20人中19名、95.0%、発熱12名、60.0%、腹痛11名、55.0%、以下、悪寒、倦怠感、頭痛、吐き気、悪寒等であった。

### 2. 発病までの潜伏時間

潜伏時間別発症率を表4に示した。潜伏時間は、1~67時間で、発症者は、12~24時間に集中し、全患者の75.0%を占めた。

### 3. EHEC O157 : H7 Stx2 分離患者の潜伏時間と症状

A飲食店を原因施設とした場合、EHEC O157 が分離された患者2名の潜伏時間と症状は、5月14日喫食の患者Kの潜伏時間は、19時間で、症状は、下痢、腹痛および39.0℃の発熱であった。5月15日喫食の患者は、潜伏時間1時間、症状は、下痢のみであった。

2名からS. Johannesburg は分離されなかったこと、他の喫食者・従業員・食品および施設からEHEC O157 は分離されなかったこと、EHECの潜伏時間は4~8日とさせられていることから、EHEC O157 については、A飲食店での喫食が原因とは考えられなかった。従って原因施設不明で、潜伏時間も不明であった。

一方、サルモネラは分離されなかったが、サルモネラの潜伏時間は8~48時間といわれ、2名の症状はサルモネラによるものとも考えられた。なお、患者Kは、その後のO157陰性確認検査でS. Johannesburg が分離された。

### 4. 患者の喫食状況

14, 15両日の共通メニューにおける患者喫食状況を表5に示した。馬の生レバー、焼き鳥および馬刺しの喫食者が多く、とくに摂食率の高い馬の生レバーが原因食品として疑われた。

### 5. 細菌検査結果

細菌検査結果を表6にまとめた。

糞便検査では、患者12名中5名、無症状者14名中6名および従業員3名中2名からS. Johannesburg が分離された。また、5月15日喫食の患者1名からEHEC O157:H7 Stx2のみが分離された。

食品では、馬の生レバー2検体からS. Rissen が分離され、菌数は、最確数法で360個/100g (MPN) と360

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 M

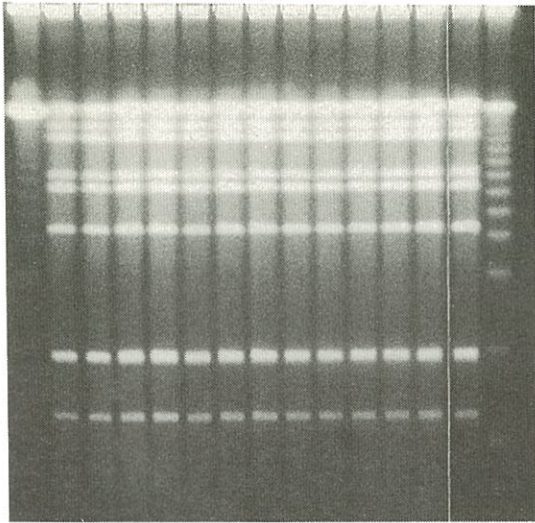


図1 PFGEによる *S. Johanneburg* のDNA 切断パターン (*Bln I* 消化)

M : Lambda ladder      レーン 6~11 : 無症状者株  
 レーン 1~5 : 患者株      レーン 12~13 : 従業員株

M 1 2 3 M

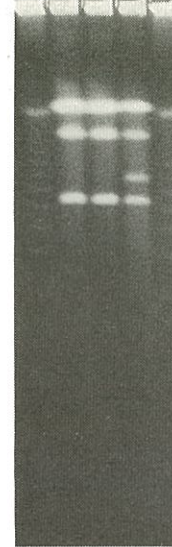


図2 PFGEによる *S. Rissen* の DNA 切断パターン (*Bln I*)

M : Lambda ladder  
 レーン 1, 2 : 生レバー株  
 レーン 3 : 散発下痢症患者由来株 (1993)

M 1 2 3 M

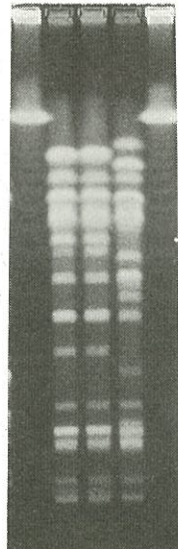


図3 PFGEによる O157 : H7 Stx2 の DNA 切断パターン (*Xba I*)

M : Lambda ladder  
 レーン 1, 2 : 患者株  
 レーン 3 : 散発下痢症患者由来株 (1999. 8)

## 6. 分離菌の薬剤感受性と DNA パターン分析

EHEC O157 : H7 Stx2, *S. Johannesburg* および *S. Rissen* は、いずれの薬剤に対しても感受性であった (表7)。

PFGEによる分離株のDNAパターン分析を実施し、分離菌株間の比較をした。図1に *S. Johannesburg*、図2に *S. Rissen* の *Bln I* 消化のDNAパターン、図3に EHEC O157 : H7 Stx2 の *Xba I* 消化のDNAパターンをそれぞれ示した。図2の *S. Rissen* は対照株として1993年に分離された散発下痢症患者由来株を、図3では、1999年8月に分離された散発下痢症患者由来株を対照株としてそれぞれ用いた。*S. Johannesburg* のDNAパターンは、患者株、無症状者株および従業員株いずれも同じであった。また、馬の生レバーから分離された *S. Rissen* も対照株を除き、今回分離された2株は同一パターンであった。EHEC O157 : H7 Stx2 のDNAパターンについても対照株と異なり、患者2名は同じであった。

## 考 察

個/100g (MPN) 以下であった。混積培養法で一般生菌数は、 $1.9 \times 10^4$  および  $4.6 \times 10^4$  個/g、大腸菌群数は、 $2.0 \times 10^4$  および  $6.8 \times 10^4$  個/gであった。焼き鳥および馬刺しからはEHECおよびサルモネラは分離されなかった。施設のふきとり検査では、サルモネラおよびEHECを含む食中毒菌はすべて陰性であった。

今回の食中毒事件は、患者からEHEC O157 H:7 Stx2 および *S. Johannesburg* が分離された珍しい事例であった。事件探知当初は、最初に分離されたEHEC O157による食中毒事件と考えられた。その後、A飲食店を利用した別の患者からサルモネラが分離され、EHEC O157 およびサルモネラの両面から疫学調査が行われた。その

結果、患者の共通利用施設は、A飲食店以外にはなく、また、細菌検査で、患者、施設利用者および従業員からS.Johannesburgが分離され、PFGEによる分離株のDNA切断パターンも一致した。以上の成績から、このA飲食店が原因施設であり、患者の症状、発症時間からもサルモネラによる食中毒と推定された。しかし、食品からS.Johannesburgは分離されず、原因食品は特定されるに至らなかった。

患者2名から分離されたEHEC O157は、DNA切断パターンが一致したことから、感染源は同一の可能性が高いと考えられる。しかし、細菌検査では、この2名以外にEHEC O157は、患者、無症状者、従業員、食品および施設のふきとりのいずれからも分離されなかった。また、EHECの潜伏時間は、通常4～8日で比較的長いと言われる。本事例において、仮にA飲食店を原因施設とした場合、EHECの潜伏時間が1時間および19時間となるので短すぎる。従って、A飲食店を利用する以前にEHECの感染をうけ、本事件の発生時に発症した可能性が高い。本事件以前に感染したと仮定した場合、2人の勤務するN会社の社員食堂が原因施設ではないかと考えられた。しかし、社員食堂では一日に約400食を提供しているが、ほかに発症者はいなかったこと。また、2人は普段面識がないとのことで、接触感染も考えにくい。これらのことから、EHECについては、原因施設および原因食品等の推定は困難であった。

病因物質であるO40群S.Johannesburgは、分離頻度の低い血清型<sup>9)</sup>で、本県では初めて分離された血清型であった。全国においても、本菌による集団発生の報告はみられない。また、馬の生レバーから分離されたS.Rissenの分離頻度も低い<sup>10, 11)</sup>と報告されている。S.Enteritidisによ

る食中毒が、1989年以降増加し、公衆衛生上問題<sup>1～3)</sup>となっているが、今回、S.Johannesburgによる食中毒が発生したこと、食品からS.Rissenが分離されたことから、現在の主要血清型だけでなく、分離頻度の低い血清型株についても、今後注意を払う必要があると考えられた。

稿を終えるにあたり、食中毒の疫学調査をしていただいた日下部保健所、県健康増進課感染症担当および県衛生業務課の食品衛生担当職員の皆様に深謝します。

## 文 献

- 1) 中村明子：食品衛生研究，41，17～28（1991）
- 2) 国立予防研究所：病原微生物検出情報，18，51～52（1996）
- 3) 金子通治，中村明子：感染症誌，70，792～800（1996）
- 4) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報，21，92～93（2000）
- 5) 金子通治ら：山梨衛公研年報，42，17～24（1998）
- 6) 厚生省監修：微生物検査必携細菌・真菌検査，第3版，日本公衆衛生協会，東京（1987）
- 7) 金子通治ら：山梨衛公研年報，41，22～26（1995）
- 8) 和田昭仁：腸管出血性大腸菌O157の検出・解析等の技術研修会テキスト，17～31（1997）
- 9) 松下秀ら：感染症誌，70，42～50（1996）
- 10) 東京都立衛生研究所：東京都微生物検査情報，20，126～127（2000）
- 11) 金子通治：山梨衛公研年報，39，39～44（1995）