

1996 年山梨県で発生した学校・保育園給食による *S. Enteritidis* 集団食中毒事例について

金子 通治

高橋 照美

Outbreaks of Food Poisoning Caused by Secondary School, Nursery School-lunch Contaminated with *Salmonella* serovar Enteritidis in Yamanashi Prefecture, 1996

Michiharu KANEKO and Terumi TAKAHASHI

(学) 国立衛生研究所 補食部研究室

要旨の欄に記入

はじめに
わが国では 1989 年からサルモネラ・エンテリティディス (*Salmonella* serovar Enteritidis, 以下 SE と略す) を原因とした食中毒、下痢症が急激に増加している。この現象は現在も続いている。特に 1989 年の急増の原因是 SE に汚染された鶏卵が原因であった。その後においても卵が食中毒の原因食品としてあげられることが多い。1996 年は全国で病原性大腸菌 O157 による食中毒、散発下痢症が多発し社会問題ともなったが、同時に SE による食中毒や散発下痢症も以前にも増して多く発生した¹⁾。山梨県においても、1985 年以来最多の散発下痢症患者由来のサルモネラが分離された²⁾。また、食中毒も大型化し学校および保育園での事例が 4 件みられ、患者数も例年になく多く病原性大腸菌 O157 とともに再興および新興感染症として注目された。

このような現況下、SE 食中毒等を予防するための基礎的資料の提供を目的に、1996 年に山梨県で発生した 4 件の学校・保育園給食による SE 集団食中毒事例を疫学的および細菌学的に検討したので報告する。

食中毒菌の検査法および調査方法

1. 食中毒原因菌の検査方法

常法³⁾に準拠し原因菌検索を行なった。サルモネラについては、増菌培地にセレナイト培地、分離培地には DHL、SSB 寒天培地を使用した。必要に応じ、とくに食品からの分離には EEM ブイヨン培地をも用いた。

2. サルモネラの同定法

サルモネラの同定は常法³⁾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。

3. 薬剤感受性試験法

すでに報告⁴⁾した方法によった。すなわち NCCLS 法の規格に準拠し、一濃度ディスク法 (BBL センシディスク) によって測定した。使用薬剤はサルファ剤がスルフィソキサゾール (SA), ストレプトマイシン (SM), テトラサイクリン (TC), クロラムフェニコール (CP), カナマイシン (KM), アミノベンジルペニシリン (ABPC), セファロチキン (CET), セフォキシチン (CFX), ラタモキセフ (LMOX), コリスチキン (CL), ノルフロキサシン (NFLX) およびナリジクス酸 (NA) の 12 薬剤である。

4. プラスミドプロファイル

Kado と Liu の方法⁵⁾に準拠し、実施した。プラスミド DNA を抽出後、0.65 % のアガロースを使用し、約 2 時間 30 分電気泳動してエチジウムプロマイドで染色後、紫外線照射下で撮影しプラスミドを観察した。

5. ファージ型別

SE のファージ型 (PT) は国立予防衛生研究所 (現、国立感染症研究所) に依頼した。

表1 山梨県のサルモネラ食中毒の原因血清型
(1986年～1996年)

最近10年間のサルモネラ食中毒発生状況

1986年からのサルモネラ食中毒事例の原因血清型等を表1に示した。1989年から急増した血清型Enteritidisによる事例が最も多く11例、次いで血清型Typhimuriumによるものが3例であった。1994年から1996年までの3年間では21事例中、20事例がSEによった。1993年にはまれな血清型であるGaminaraによる事例⁶⁾もあった。

1996年のサルモネラ食中毒発生状況

表2に示したように、1996年は山梨県では過去最高である13件のサルモネラ食中毒の発生があった。そのうち12例までがSEによるものであった。表2のNo.3, 4, 6, 7の4件は学校給食および保育園給食による集団食中毒事例であった。

1996年に発生したSEによる集団食中毒事例

前述したように、表2のNo.3, 4は全国で病原性大腸菌O157食中毒の発生がみられ始め注目されてきた時期での発生であった。またNo.6, 7はO157事件でマスコミ等を通して食中毒の予防について再確認された後の発生事例であった。これら4事例の集団食中毒の原因血清型はすべてSEであった。4つの事例のうち、No.3の学校給食による事例、No.6およびNo.7の保育園給食による事例の概要を以下に示した。

年	発生件数	原因血清型 [件数]
1986	1	S.Virchow
1987	1	S.Litchfield
1988	1	S.Typhimurium
1989	3	S.Typhimurium [2], SE [1] (PT 34)
1990	0	
1991	1	SE (PT 4)
1992	1	SE (PT 4)
1993	2	S.Gaminara [1], S.Typhimurium [1]
1994	6	SE [6] (PT 22 : [1], PT 4 : [1], PT 1 : [2], PT 5 a : [1], PT 9 : [1])
1995	2	SE [2] (PT 5 : [2])
1996	13	SE [12] (PT 4 : [7], PT 1 : [1], PT ? : [4]) 08群 : [1]

1. 学校給食による食中毒事例 (No.3)

(1) 食中毒の概要

1996年6月27日(木)午後2時に、小笠原保健所管内の病院より6月21日から発熱、下痢症状があったA中学校生徒5名が6月24日に受診し、この5名全員からサルモネラが検出されたとの報告があった。

疫学調査の結果、摂食者764名のうち416名（教員2名を含む）が発症し、患者の共通食品である学校給食が原因食品と推定された。表3にA中学校での食中毒の概要を示した。

(2) 患者の症状別発現率

腹痛が231名で83.1%と最も高かった。次いで頭痛231名55.5%，下痢50.0%，発熱148名35.6%の順であった。サルモネラの特徴である発熱と下痢の頻度が非常に少なかった。表4に症状別発現率を示した。

表2 1996年山梨県のサルモネラ食中毒発生状況

No.	発生月日	検査月日	場所	摂食者数	患者数	原因食品	血清型	原因施設
1.	5. 5	5. 9	N町	11	6	手作り料理	Enteritidis	家庭
2.	5.21	5.28	K市	3	3	家庭料理	"	家庭
3.	6.21	6.27	K町	749	416	学校給食	"	学校給食
4.	7. 5	7.11	T町	181	37	保育所給食	"	保育所給食
5.	7.14	7.19	F市	435	89	ホテルの食事	"	飲食店(旅館)
6.	8.29	9. 1	T村	99	64	保育所給食	"	保育所給食
7.	9.13	9.18	R町	44	25	保育園給食	"	保育園給食
8.	11. 4	11.12	Y村	109	7	従業員食堂	"	従業員食堂
9.	7. 6							
10.				5件	20	10	家庭料理	Enteritidis (4) 08群(1)
13.	10.18							いずれも家庭

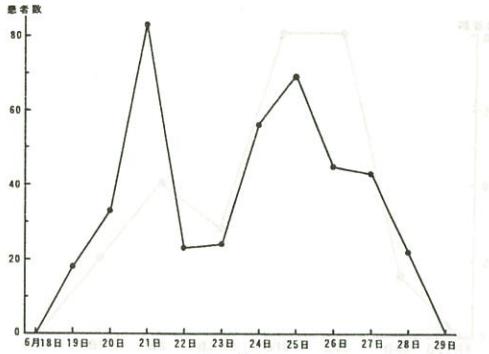


図 1 A中学校食中毒における日別患者発生数

(3) 日別患者発生状況

図1に日別患者発生数を示した。6月21日が83名と最も多かった。次いで25日が69名が多く、二峰性となつた。患者の発生は19日から28日までの10日間におよんだ。

(4) 原因食品および病原物質

患者の共通食品がA中学校の学校給食に限られたことから、原因は学校給食であると推定された。事件の探知が遅かったことから6月23日分以前の検食はなく、また6月17日から20日までの献立メニューの χ^2 検定でも原因食品を特定することはできなかった。表5に献立を示した。

患者の糞便検査の結果、33名中15名からSEが分離された。また、給食従事者6名の糞便検査の結果、1名からSEが分離されたことから病原物質をSEと決定した。

(5) 分離されたSEの性状

分離された16株のSEのPTはすべて4型であった。プラスミドプロファイルの結果もすべての株が60kbプラスミド単独保有株で、薬剤耐性型もSM1剤耐性型ですべて同じ成績であった。これらから原因となったSEは同一の菌株によると推定された。

2. B保育所給食による食中毒事例(No.6)

(1) 食中毒の概要

1996年8月31日(土)午後6時45分、B保育所所長から「8月31日園児104名中51名が欠席しており、うち数名が病院に入院している」という旨の連絡が石と保健所にあった。

疫学調査の結果、摂食者99名中64名が発熱、下痢、腹痛等の食中毒様症状を呈した。患者の共通食品は保育所の給食であり、原因食品と推定された。発症率は64.6%であった。表6にこの概要を示した。保育所の園児数は104名、職員数は11名である。

表3 A中学校の学校給食による食中毒の概要(1)

発生年月日	1996年(H 8) 6月19日(水)
発生場所	K町A中学校
摂食者数	749名
患者数	416名(発症率55.5%)
死者数	0名
原因食品	学校給食(品目は特定できず)
病原物質	S. Enteritidis (PT 4, SM, 60 kb)
原因施設	学校給食施設

表4 A中学校食中毒の患者の主な症状別発現率

症 状	患 者 数	%
腹 痛	347	83.4
頭 痛	231	55.5
下 痢	208	50.0
発 熱	148	35.6
吐き気	110	26.4

表5 A中学校学校給食の献立

月 日	昼 食 メ ニ ュ ー
6月17日(月)	牛丼、菜の花あえ、冷奴、牛乳、ババロア、じゃがいもとわかめのみそ汁
18日(火)	蒸しパン、スペゲティミートソース、牛乳、ししゃものフリッター、かにサラダ、ゼリー
19日(水)	ビビンバ、海藻サラダ、四色スープ、牛乳、くだもの
20日(木)	パン、マカロニ炒め、グリーンサラダ、牛乳、鮭とチーズのサンドフレイ、キャベツスープ

表6 B保育所食中毒の概要

発生年月日	1996年(H 8) 8月29日(木)
発生場所	T村B保育所
摂食者数	99名
患者数	64名(発症率64.6%)
死者数	0名
原因食品	保育所給食 (芙蓉蟹、野菜の醤油ドレッシングあえ)
病原物質	S. Enteritidis (PT 4, SM, 60 kb)
原因施設	保育所給食施設

(2) 患者の症状と日別患者発生状況

患者の症状別発現率を表7に示した。発熱、下痢、腹痛の順に多かった。患者の平均発熱温度は38.8°Cと高く、典型的なサルモネラ食中毒の発熱であった。最高は42°C(3歳男児)で、最低は37.1°C(4歳女児)であった。

患者の日別発生状況を図2に示した。8月30日、31日の両日がそれぞれ20名ずつ多く、ピークであった。午前と午後に分けてみると30日は午前、午後とも10名ずつであったが、31日は午前16名、午後4名であり、30日午前から31日午前にかけての間が最も多くの患者の発生がみられた。患者の発生は8月29日から9月3日までの6日間にわたった。

(3) 患者の年齢・性別分布

表8に患者の年齢・性別分布を示した。この保育所では1~6歳児までの園児が在籍しているが、5歳児の発症者が最も多く、27名で42.2%であった。次いで4歳児が21名32.8%であった。

男女別では男64.1%に対し女35.9%で男の患者が多くいた。

(4) 原因食品および病因物質の細菌学的検査結果

患者の共通食品は保育所の給食であり、保育所の給食が原因食品である推定された。表9に保育所の給食の献立を示した。これらすべてが保存されており、検査の結果、8月28日(水)の「芙蓉蟹」および「野菜のしょう油ドレッシングあえ」からそれぞれSEが分離された。これらの菌数を測定した結果、一般生菌数は芙蓉蟹が $3 \times 10^4/g$ 、野菜のしょう油ドレッシングあえが $5.1 \times 10^5/ml$ であったが、SEはそれぞれ10個以下であった。芙蓉蟹の原材料である鶏卵と蟹等はすでになく、検査を実施することができず、原材料からの特定はできなかった。

糞便検査は、全国的に病原性大腸菌O157による食中毒が社会問題となっており、その影響で園児全員を対象に実施した。113名中60名(職員1名を含む)からSEが分離された。以上のことから「芙蓉蟹」および「野菜のしょう油ドレッシングあえ」を原因食品、病因物質をSEと決定した。

分離した食品由来の2株、ヒト由来の60株の計62株のプラスミドプロファイルをみたが、いずれも60kb単独保有株で、SM1剤耐性株であった。また、PTもすべて4型であったことから同一菌株のSEが原因であると推定された。

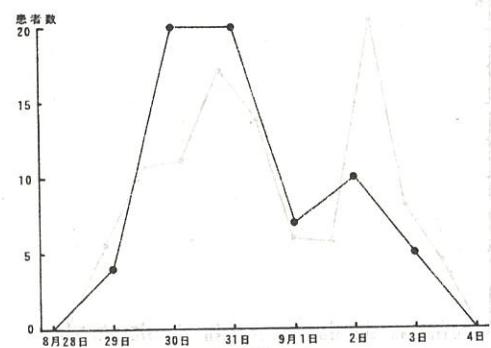


図2 B保育所食中毒における日別患者発生数

表7 B保育所食中毒の患者の主な症状別発現率

症 状	患 者 数	%
発 热	58	90.6
下 痢	46	71.9
腹 痛	35	54.7
頭 痛	19	29.7
吐き気	18	28.1
嘔 吐	17	26.6

表8 B保育所食中毒患者の年齢・性別分布

性別 年齢	40						計	%	
	1	2	3	4	5	6			
男	1	1	3	15	16	5	0	41	64.1
女	0	0	3	6	11	2	1	23	35.9
計	1	1	6	21	27	7	1	64	
%	1.6	1.6	9.4	32.8	42.2	10.9	1.6		

表9 B保育所給食の献立

月 日	昼 食 メ ニ ュ ー
8月 26日(月)	蒸し鶏の中華サラダ
27日(火)	魚のコーン揚げ、豚汁
28日(水)	芙蓉蟹みそ汁、野菜の醤油ドレッシングあえ
29日(木)	ドライカレー、生野菜、乳酸菌飲料
30日(金)	酢豚、カニ卵スープ、パイン缶

そのほか午前、午後におやつとして牛乳、ヨーグルト、乳酸菌飲料、りんご、バナナ、せんべい、ミニソーセージ

3. C保育園給食による食中毒事例（No.7）

(1) 食中毒の概要

1996年9月18日(木)午前10時、C保育園園長から身延保健所に「園児2名が病院に入院し、現在10名の園児が腹痛で休んでいる」という旨の連絡があった。

疫学調査の結果、患者25名（発症率56.8%）の共通食品は保育園給食であった。C保育園の園児数は42名、職員数は7名である。表10に食中毒の概要を示した。

(2) 患者の症状別発現率

表11に患者の主な症状別発現率を示した。下痢が最も多く23名、92%，次いで発熱21名、84%，腹痛19名、76%の順であった。下痢回数（調査対象者20名）は最高20回の患者が1人いたが、4～8回までが9名と最多であった。また、発熱状況（調査対象者20名）は最高が40.0℃、3名、最低は37.0℃、2名であり、39.0℃が6名と多かった。平均の発熱温度は38.8℃であった。

(3) 患者の日別発生状況と年齢・性別分布

日別患者発生状況を図3に示した。初発患者は9月13日であった。患者発生のピークは14日の7名で、患者の発生がみられたのは13日から18日までの6日間であった。

表12には患者の年齢・性別分布を示した。患者の発生が最も多かったのは3歳児の8名で80%であった。性別をみると、罹患率は男68.2%，女45.5%で、患者数に対する発症率も男が25名中15名60%，女が25名中10名40%で男が多かった。

(4) 原因食品および病原物質の細菌学的検査結果

事件の探知が9月18日であったにもかかわらず、病原性大腸菌O157食中毒が社会問題となり、検食の保存期間が長くなつたため検食が原材料とともに保存されていた。疫学調査の結果から9月9日からの給食を細菌検査に供した。表13にC保育園の給食の献立を示した。

検査の結果、9月12日の「ほうれん草のごままぶし」

表10 C保育園食中毒の概要

発生年月日	1996年(H8)9月13日(金)
発生場所	R町C保育園
摂食者数	44名
患者数	25名（発症率56.8%）
死者数	0名
原因食品	保育園給食 (ほうれん草のごままぶし、野菜の天ぷら、 ちくわのいそべ揚げ、シルバーサラダ)
病原物質	S.Enteritidis(PT4, SM, 60 kb)
原因施設	保育園給食施設

表11 C保育園食中毒患者の主な症状別発現率

症 状	患 者 数	%
下 痘	23	92
発 热	21	84
腹 痛	19	76
嘔 吐	7	28
吐き気	5	20
頭 痛	5	20

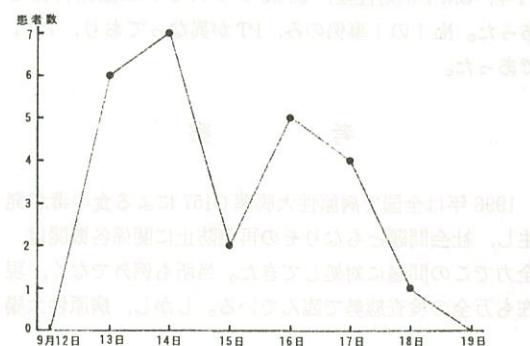


表12 C保育園食中毒患者の年齢・性別分布

園児性	3歳未満		3歳		4歳		5歳		職員		計	
	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F	M	F
摂食者数	5	4	7	3	4	6	5	3	1	6	22	22
計	9		10		10		8		7		44	
患者数	2	2	6	2	4	3	3	2	0	1	15	10
計	4		8		7		5		1		25	
%	40.0	50.0	85.7	66.7	100	50	60	66.7	0	16.7	68.2	45.5
計	44.4		80		70		62.5		14.3		56.8	

「ちくわのいそべ揚げ」、「野菜の天ぷら」および9月13日の「シルバーサラダ」からSEが分離された。しかし、原材料であるほうれん草、ちくわ、卵、野菜（天ぷらの材料）、はるさめ、キャベツ、きゅうり等からはSEは分離されなかった。

また糞便検査の結果、42名中31名（園児27名、職員4名）からSEが分離された。これらのことから原因食品は9月12日の「ほうれん草のごままぶし」、「ちくわのいそべ揚げ」、「野菜の天ぷら」、9月13日の「シルバーサラダ」と断定した。患者糞便からもSEが分離されたことにより、病因物質はSEと決定した。

分離された35株のSEはいずれもPT4、SM1剤耐性、60kbプラスミド単独保有株であったことから、同一株のSEによる汚染が原因であったと推定された。

1996年に発生したSE食中毒の疫学マーカー

表14に1996年に発生したSE食中毒12件（表2）のうち、No.1～No.8の8事例についてのPT、薬剤耐性型、保有プラスミドの各疫学マーカーを示した。すでに述べたように4件の集団食中毒事例をはじめ、7件のSE食中毒は各疫学マーカーが同一であった。すなわち、PT4、SM1剤耐性型、60kbプラスミド単独保有株であった。No.1の1事例のみ、PTが異なっており、PT1であった。

考 察

1996年は全国で病原性大腸菌O157による食中毒が発生し、社会問題ともなりその再発防止に關係各機関は、全力でこの問題に対処してきた。当所も例外でなく、現在も万全の検査態勢で臨んでいる。しかし、病原性大腸

表13 C保育園給食の献立

月 日	昼 食 メ ニ ュ ー
9月 9日(月)	スペゲティナポリタン、野菜スープ、ブドウ
10日(火)	ホワイトシチュー、きゅうりとわかめの酢あえ
11日(水)	給食なし
12日(木)	ほうれん草のごままぶし、ちくわのいそべ揚げ、野菜の天ぷら
13日(金)	野菜コロッケ、シルバーサラダ、みそ汁
14日(土)	メロンパン、牛乳、りんご
17日(火)	カレーうどん、かぼちゃのふくめ煮、お新香

9月15日、16日は給食なし

菌O157食中毒の影にかくれて、サルモネラ食中毒の増加が憂慮されている。

1996年はサルモネラ食中毒が全国で350件発生し、原因細菌の第1位を占めた。これは過去最高の発生件数であった。患者数も16,334名と多かった。また、死者も3名あった。この原因是1989年から急に増加したSEによる食中毒増加である。SEは病原性大腸菌O157とともに現在、最も留意しなければならない細菌である。山梨県でも1996年はSEによる食中毒の発生が過去最高であり、4事例は集団食中毒であった。うち3事例の患者は保育園児であるという特徴があった。サルモネラ感染症は2歳児を中心に4歳児以下の発症例が多く、幼児である園児は感染を受けやすいグループであり、注意しなければならない。

これら集団食中毒から分離されたSEの各疫学マーカーは同一であり、PT4、SM1剤耐性型および60kbプラスミド単独保有株という特徴があり、流行がうかがえた。

表14 食中毒検査結果と疫学マーカー

No.	菌陽性数／被検数	PT	薬剤耐性型	プラスミド(kb)	備 考
1	1／1(患者)	1	SM	60	
2	1／1(患者)	4	SM	60	
3	16／39(患者)	4	SM	60	中学校給食
4	20／35(患者)	4	SM	60	
5	1／13(従業員)	4	SM	60	患者は東京、神奈川で県内には不在
6	60／111(患者)	4	SM	60	
	2／42(検食)	4	SM	60	保育所給食
7	31／42(患者)	4	SM	60	(芙蓉蟹、野菜の醤油ドレッシングあえ)
	3／36(検食)	4	SM	60	保育園給食
8	2／7(従業員)	4	SM	60	(ほうれん草のごままぶし、いそべ揚げ、シルバーサラダ)

事例No.3の中学校でのSE食中毒は、事件の発生から日数が経過し、検食はなく食品の検査はできなかった。また、症状別の発現率もSE食中毒の典型的な特徴である発熱、下痢症状が少なかった。これは調査が遅くなり患者の症状が正確に把握できなかったことと、患者が回復期にあったためであると思われた。

事例No.6およびNo.7の食中毒は、病原性大腸菌O157食中毒が社会問題となっていたにもかかわらず発生した事例である。事例No.6は「芙蓉蟹」と「野菜のしょう油ドレッシングあえ」からSEが分離されたが、原材料がなく食品材料の特定はできなかった。「野菜のしょう油ドレッシングあえ」は原材料からみておそらくは二次汚染であろうと考えられた。病原性大腸菌O157問題から保育園の食中毒というと園児全員の糞便検査を実施する傾向が強く、この事例でも全員が検査対象者となつた。

事例No.7は事件の探知から6日目であったにもかかわらず、検食の保存期間が長くなつたため、9月12日の献立の食品すべてと9月13日の「シルバーサラダ」からSEが分離された。12日の「いそべ揚げ」と「野菜の天ぷら」は検食容器のなかで混在し、相互汚染があつたと思われた。また、13日の「シルバーサラダ」のSE汚染は調理器具の共用と洗浄の不十分さが原因と考えられた。

各事例で分離された SE の疫学マーカーは、PT 4, S M 1 剤耐性型, 60kb プラスマド単独保有株がほとんどで、現在の主流であると考えられる。PT 1 もみられたが、以前に報告¹⁷したように PT 1 の SA・SM・TC 耐性型ではなく、SM 1 剤耐性型であった。

国の食品衛生調査会食中毒部会においても、最近のサルモネラによる食中毒について分析、評価を実施している。感染源を今まで以上に詳細に調べるためにも、流行のSEの疫学マーカーを徹底的に分析し、諸外国のデータとも比較し、今後の発生の予測を行なう必要がある。としており、県内においてもSE食中毒発生予防のための基礎的な資料を提供しなければならないと考える。

稿を終わるにあたり、SEのファージ型別をしていただいた国立感染症研究所の寺嶋 淳先生、また食中毒の疫学調査をしていただいた小笠原保健所、石和保健所、身延保健所および県生活衛生課食品衛生担当の職員の皆様に深謝します。

文獻

- 1) 厚生省生活衛生局食品保健課：食品衛生研究, 47(9), 65～94 (1997)
 - 2) 高橋照美, 金子通治：山梨衛公研年報, 40, 17～20 (1996)
 - 3) 厚生省監修：微生物検査必携細菌・真菌検査, 第3版, p.D 43～D 54, 日本公衆衛生協会, 東京, 1987
 - 4) 金子通治：感染症誌, 70, 792～800 (1996)
 - 5) Kado, C. I. & Liu, S.T. : J.Bacteriol., 145, 1365～1373 (1981)
 - 6) 金子通治, 植松香星, 岡田博志：日食微誌, 12, 39～42 (1995)
 - 7) 金子通治：感染症誌, 69, 1294～1301 (1995)