

1995～96年に千葉県で発生した黄色ブドウ球菌による食中毒について

久門 勝利, 小岩井健二司, 鶴岡 佳久

Outbreaks of Staphylococcal Food Poisoning in Chiba, 1995-96

Katsutoshi KUMON, Kenji KOIWAI and Yoshihisa TSURUOKA

I はじめに

ブドウ球菌は自然界に広く分布している菌株の1つで、ヒトをはじめとする各種動物のヒフや上気道、腸管等の粘膜に常在細菌叢として存在し、生体外の空中、水、塵埃などほとんどあらゆるものから検出される。

本菌による食中毒は食物中で、*Staphylococcus aureus* (黄色ブドウ球菌 以下黄色ブ菌と略す)が増殖し、その際に産生されたstaphylococcal enterotoxin (以下エンテロトキシン: SETと略す)を、食物とともに摂食することによって惹起され、嘔吐を伴う急性胃腸炎を特徴とする毒素型食中毒である。SETは耐熱性毒素で100℃、30分間の加熱でも破壊されない。したがって、いったん食品中で黄色ブ菌が増殖してSETが産生されれば後から加熱しても、菌そのものは殺菌できるがSETは破壊されないことから食中毒は防止できないことになる。

ブドウ球菌食中毒は、サルモネラ、腸炎ビブリオに次いで重要であり、各種食品の細菌学的検査においても、検出頻度の高い病原細菌で、食品衛生上重要な細菌として注目されている。

食中毒の原因菌あるいは感染源の特定には、菌の分離とSETの検出の両方を行うことが重要であり、SETの検出によってより確実な診断が出来る。

1995年から96年にかけて、千葉県内で発生した黄色ブ菌による食中毒について、その原因食として疑われる保存食品のSETの検出を行ったので、その概要を報告する。

II 材料と方法

1. 供試検体

供試検体は1995年～96年にかけて千葉県内の保健所管内で発生した食中毒に関連したもので、原因食として疑われた保存食品は5つの事例から72検体あり、患者吐物が4検体あった。

これらについて、黄色ブ菌及びSETの検出を試み、一部の食品については黄色ブ菌数も調べた。また食品、患者便並びに従業員の手指等の拭き取り検査から分離されたブ菌50株については、コアグラゼ型別及びSETの検出と型別を行った。

2. コアグラゼ型別法

分離された黄色ブ菌のコアグラゼ型別 (以下コア型と略す) は、潮田ら¹⁾の方法に準じ、デンカ生研製の型別血清で行った。

3. SET型別法

SET産生性及び型別試験は、五十嵐ら²⁾の方法に準じて実施した。①食品については、食品によって非特異凝集反応を示すものがあるのでカオリン処理を行い、②供試菌については、菌をBHIブイオンに接種し、20時間振とう培養した菌液を用いた。

これらについて市販のブドウ球菌エンテロトキシン検出用キット (SET-RALA「生研」:デンカ生研)を用いて行った。

4. 食中毒の概要

事例1. 95' 11. 6.

鴨川市内のホテルで夕食を喫食後7～10時間で発病 (腹痛・嘔吐・下痢)。

喫食者: 3名, 患者数3名。(ホテル宿泊者: 133名)
疑われる原因食: 夕食の洋食オードブル。

検査した検体数: 保存食28検体及びホテル従業員の拭き取り検査等で分離された黄色ブ菌25株。(表-1, 2)

事例2. 96' 2. 27.

鴨川市立O保育園で給食後園児が4～28時間で発病 (嘔吐・腹痛・吐き気・下痢)。

喫食者: 16名, 患者数8名。

疑われる原因食: 保育園での給食。

検査した検体数: 保存食10検体, 患者吐物4検体及びパン工場からの原材料5検体と保育園長の拭き取り検査及びベーカーリー従業員の便より分離されたブ菌3株。(表3, 4)

事例3. 96' 6. 16.

君津市上総公民館で踊りの会の昼食後発表会参加者 (出演者及び一般観客) が4～8時間で発病 (嘔吐・腹痛・吐き気・発熱・下痢)。

喫食者: 約400名, 患者数20名。

疑われる原因食: おにぎり弁当。

検査した検体数: 保存食11検体と患者便及び従業員の手指の拭き取り検査で分離された黄色ブ菌2株。(表-5)

事例4. 96' 6. 17.

船橋市内の工務店宿舍の寮で調製された弁当を喫食後2～4時間で発病 (嘔吐・下痢等)。

喫食者: 34名, 患者数16名。

疑われる原因食: 工務店の宿舍で調製された弁当。

検査した検体数: 保存食9検体と患者便及び従業員の手指の拭き取り検査等で分離された黄色ブ菌11株 (表-6)

事例5. 96. 7. 30.

船橋市内の会社の研修会の昼食後2～5時間で発病（腹痛・嘔吐・下痢・発熱）。

喫食者：41名，患者数19名。

疑われる原因食：昼食のイベント弁当（特注弁当）。

検査した検体数：保存食14検体と患者便等から分離された黄色ブドウ球菌6株。（表-7）

III 結果及び考察

1. 事例1

原因食として「夕食の洋食オードブル」が疑われたので、保存食28検体について調べたところ、黄色ブドウ球菌を含め食中毒菌はいずれの食品からも検出されなかった。が、【牛タンのゼリー寄せ】からSETのC型が1,280～2,560ng/g及びD型が640～1,280ng/g検出された。【牛タンのゼリー寄せ】による典型的な黄色ブドウ球菌食中毒であった。（表-1）

発病まで時間がかかったのは、食した量によるものだろう。

一方、ホテル従業員の拭き取り検査で分離された黄色ブドウ球菌25株

についてコア型とSETを調べたところ、従業員Aの咽喉よりコア型Ⅶで、SET：B型とSET：（-）の2株、Bの咽喉よりコア型Ⅶ，SET：B型、Cの咽喉よりコア型Ⅱで、SET：D型とSET：（-）の2株及びCの手指の拭き取り検査よりコア型Ⅶ，SET：（-）の株が、またDの咽喉よりコア型Ⅶ，SET：D型と便からコア型Ⅵ，SET：（-）株が分離された。（表-2）

しかし、この事例の原因菌は【牛タンのゼリー寄せ】から検出されたSETのC、D型株なる故、ホテル従業員のA、B、C及びDの咽喉より分離されたB型及びD型株とは異なっており、従業員が感染源とは考えにくく、汚染源の特定は出来なかった。

2. 事例2

原因食として「保育園での給食」が疑われたので、保存食10検体と患者吐物4検体について調べたところ、食中毒菌はいずれの食品からも検出されなかった。しかし、【ツイストパン】及び【患者吐物】1検体からSETのC型が20～40ng/gと4～8ng/g検出された。（表-3）

そこで、感染源究明のため、パン工場からの原材料4検体と同一ロットのツイストパンを調べたが、黄色ブドウ球菌・SETとも検出

表-1 事例1の検体名と黄色ブドウ球菌及びエンテロトキシンの検出状況

番号	検体名	黄色ブドウ球菌の検出	SET検出	番号	検体名	黄色ブドウ球菌の検出	SET検出
1	スモールブッシュ ランプブッシュ	陰性	陰性	15	前菜： ひよこ豆甘煮	陰性	陰性
2	スモールブッシュ とびっ子	陰性	陰性	16	前菜： つぶ貝	陰性	陰性
3	スモークサーモン	陰性	陰性	17	お通し 湯葉	陰性	陰性
4	カマンベール チーズ	陰性	陰性	18	煮物：人参 野菜炊き合わせ	陰性	陰性
5	貝柱のサラダ 貝柱	陰性	陰性	19	煮物： タケノコ	陰性	陰性
6	貝柱のサラダ とさかのり	陰性	陰性	20	煮物： こんにゃく	陰性	陰性
7	海老のカクテル 海老	陰性	陰性	21	煮物：れんこん 野菜炊き合わせ	陰性	陰性
8	牛タンのゼリー寄せ	陰性	陽性※	22	煮物：がんも 野菜炊き合わせ	陰性	陰性
9	前菜： 梅ワイン煮	陰性	陰性	23	煮物： 白蒸し饅頭	陰性	陰性
10	前菜： トマトゼリー	陰性	陰性	24	煮物：椎茸 野菜炊き合わせ	陰性	陰性
11	前菜： アスパラカステラ	陰性	陰性	25	煮物： 金目鯛の飯蒸し	陰性	陰性
12	前菜：白魚 とびっ子和え	陰性	陰性	26	煮物： 同上のもち米	陰性	陰性
13	前菜： アン肝豆腐	陰性	陰性	27	酢の物： 穴子南蛮漬	陰性	陰性
14	前菜：白魚 白子	陰性	陰性	28	酢の物： れんこん、みょうが	陰性	陰性

※SET；C型：1,280～2,560ng/g
D型：640～1,280ng/g

表-2 ホテル従業員の拭き取り検査等で検出された黄色ブドウ球菌のコアグラゼ型別とエンテロトキシンの検出状況

番号	検体名	コアグラゼ凝集	型別	S検出	E	T
1	A-咽喉	+	VII	陰性		
2	〃	+	VII	陽性		B
3	〃	+	VII	陽性		B
4	〃	+	VII	陽性		B
5	〃	+	VII	陽性		B
6	〃	+	VII	陽性		B
7	B-咽喉	+	VII	陽性		B
8	〃	+	VII	陽性		B
9	〃	+	VII	陽性		B
10	C-咽喉	+	II	陰性		
11	〃	+	II	陰性		
12	〃	+	II	陰性		
13	〃	+	II	陰性		
14	〃	+	II	陰性		
15	〃	+	II	陰性		
16	〃	+	II	陰性		
17	〃	+	II	陽性		D
18	〃	+	II	陽性		D
19	〃	+	II	陰性		
20	〃	+	II	陰性		
21	〃	+	II	陽性		D
22	C-手指	+	VII	陰性		
23	D-咽喉	+	VII	陽性		D
24	D-便	+	VI	陰性		
25	〃	+	VI	陰性		

されなかった。また、保育園長の拭き取り検査（鼻前庭）より1株、ベーカリー従業員の便より2株のブ菌が分離されたが、ベーカリー従業員の便1株のみ黄色ブ菌であった。この株はコア型がVII, SETはD型であったため、感染源ではなく、汚染源の特定は出来なかった。（表-4）

では【パン】による食中毒か？

問題点；①発症者8名のうち2名はパンを食べていない。

②同日製造の同一ロットのパンは他の保育園でも68個納入・喫食されているが発症者はいない。

③別ロットのパンが小学校、中学校でも1,243個納入・喫食されているが発症者はいない。

④パンから検出されたSETのC型の量は園児（体重15kg）を発症させるに十分な量とは言い難い。

⑤発症時間も4~28時間とかかりすぎている。

よって、パンは原因食品ではなく、また食中毒様症状の原因物質は黄色ブ菌の産生したSETではない。今回の食中毒様疾患は保育園給食を原因とする食中毒ではない可能性が考えられた。それでは、パンから検出されたSETはどこで汚染されたのか？。以下のことが考えられる。

①保育園で保存食として2つに切断されて冷蔵保存された時に汚染された。

②製造所で、器具・設備を介して特定のパンのみが黄色ブ菌に汚染され、製造工程中で菌が増殖しSETが産生された。オーブンで焼かれる時、菌は死滅したがSETは残った。

③製造所でヒトから特定のパンのみが黄色ブ菌の汚染を受け、製造工程中で菌が増殖しSETが産生された。

表-3 事例2の検体名と黄色ブドウ球菌及びエンテロトキシンの検出状況

番号	検体名	黄色ブドウ球菌の検出	SET検出	番号	検体名	黄色ブドウ球菌の検出	SET検出
1	大根と人参の煮物	陰性	陰性	11	患者吐物	陰性	陰性
2	サバの味噌煮	陰性	陰性	12	患者吐物	陰性	陽性※ ²
3	鶏の唐揚げ	陰性	陰性	13	患者吐物	陰性	陰性
4	すいとん	陰性	陰性	14	患者吐物	陰性	陰性
5	豆腐の味噌汁	陰性	陰性	15	脱脂乳	陰性	陰性
6	御飯・海苔佃煮	陰性	陰性	16	ショウトニング	陰性	陰性
7	ミカン（2月26日）	陰性	陰性	17	砂糖	陰性	陰性
8	レタス・マヨネーズ	陰性	陰性	18	小麦粉	陰性	陰性
9	ツイストパン	陰性	陽性※ ¹	19	ツイストパン	陰性	陰性
10	ミカン（2月27日）	陰性	陰性		(No.9と同一ロット)		

※¹；SET：C型20~40ng/g, ※²；SET：C型4~8ng/g.

表-4 事例2の保育園長の拭き取り検査（鼻前庭）及びベーカリー従業員の便より分離されたブドウ球菌のコアグラゼ型別とエンテロトキシンの検出状況

番号	検体名	コアグラゼ凝集	型別	S	E	T
1	園長；鼻前庭	-		黄色ブドウ球菌ではない		
2	従業員；便	+	VII	陽性		D
3	〃	-		黄色ブドウ球菌ではない		
備考：						
番号	コアグラゼ試験 (ウサギ血漿)	クラumpingファクター (P S-ラテックス)		ブドウ球菌同定 (N-IDテスト・SP-18「ニッスイ」)		
1	-	-		S. warneri		
2	+	+		S. aureus		
3	-	-		S. epidermidis		

オープンで焼かれる時、菌は死滅したがSETは残った。

3. 事例3

原因食として「おにぎり弁当」が疑われたので、保存食11検体、患者便1検体並びに従業員の手指の拭き取り検査1検体について調べたところ、SETは【残品のおにぎり】より（A型：160～320ng/g）が検出された。また、黄色ブ菌は食品のうちの6検体、患者便及び拭き取り検査分から分離された。

食品中の黄色ブ菌数は $3.0 \times 10^3 \sim 1.0 \times 10^9$ の範囲にあり、【残品のおにぎり】2検体と【サケフレーク】が 10^7 以上と高濃度であった。黄色ブ菌のコア型とSETは1株を除いてⅦ型とA型であり、拭き取り検査からの1株はコア型Ⅱ，SET：D型であった。このことより、この食中毒は【おにぎり】によるものと特定された。（表-5）

4. 事例4

原因食として工務店宿舍の寮で調製された「昼食の弁当」が疑われたので、保存食9検体及び患者便等7検体について調べたところ、SETは検出されなかった。が、黄色ブ菌は食品から6株、

患者便から3株及び従業員の便及び拭き取り検査分から2株と計11株分離された。これらの菌株は全てコア型Ⅶで、SETはA型であった。（表-6）

このことより、この食中毒は【5月17日の昼食の弁当】によるものとわかったが、どの食品によるものかは特定出来なかった。

5. 事例5

原因食として「イベント用弁当」が疑われたので、保存食14検体について調べたところ、SETはC型が【カニ棒たまご：160～320ng/g】及び【カニ肉：40～80ng/g】から検出された。黄色ブ菌は食品のうちの14検体、患者便等6検体から分離され、食品中の黄色ブ菌数は $100 > \sim 4.0 \times 10^9$ の範囲にあり、【カニ棒たまご】は 3.0×10^8 ，【カニ肉】は 4.0×10^9 と高濃度に汚染されていた。分離された黄色ブ菌は全てコア型Ⅶで、SETはカニ棒たまご、カニ肉及び患者便2株から検出され、C型であった。（表-7）

このことより、カニ棒たまご及びカニ肉による食中毒と特定出来た。

表-5 事例3の検体名と黄色ブドウ球菌及びエンテロトキシンの検出状況

番号	検体名	SET検出	黄色ブドウ球菌 検出・菌数(cfu/g)	コアグラマーゼ 凝集・型別	菌株からのSET 検出・型別
1	おにぎり（残品：さけ）	陰性	陽性 5.0×10^7	+ VII	陽性 A
2	おにぎり（残品：梅）	陰性	陰性		
3	たくあん	陰性	陽性 6.0×10^3	+ VII	陽性 A
4	サケフレーク	陰性	陽性 5.0×10^8	+ VII	陽性 A
5	おにぎり（保存食：梅）	陰性	陽性 3.0×10^4	+ VII	陽性 A
6	玉子焼き	陰性	陰性		
7	かまぼこ	陰性	陰性		
8	フライドポテト	陰性	陰性		
9	キンピラ（参考食品）	陰性	陽性 3.0×10^3	+ VII	陽性 A
10	ウインナー	陰性	陰性		
11	おにぎり（残品：食べ残し）	陽性※	陽性 $1.0 \times 10^9 \leq$	+ VII	陽性 A
12	患者：便	NT	陽性 1.0×10^3	+ VII	陽性 A
13	従業員：手・指（ふきとり）	NT	陽性 2.0×10^3	+ II	陽性 D

※；SET：A型：160～320ng/g， NT：Not tested.

表-6 事例4の検体名と黄色ブドウ球菌及びエンテロトキシンの検出状況

番号	検体名	SET検出	黄色ブドウ球菌 検出・菌数	コアグラマーゼ 凝集・型別	菌株からのSET 検出・型別
1	カレー（6/15夕食）	陰性	陰性		
2	納豆（6/17朝食）	陰性	陰性		
3	ハムカツ（6/17昼食）	陰性	陽性	+ VI	陽性 A
4	塩サケ（6/17昼食）	陰性	陽性	+ VI	陽性 A
5	カキ揚げ（6/17昼食）	陰性	陽性	+ VI	陽性 A
6	豚肉としらたき（6/17昼食）	陰性	陽性	+ VI	陽性 A
7	細切昆布（6/17昼食）	陰性	陽性	+ VI	陽性 A
8	漬物（6/17朝食）	陰性	陰性		
9	レタス（6/17昼食）	陰性	陽性	+ VI	陽性 A
10	患者：便	陰性	陽性	+ VI	陽性 A
11	患者：便	NT	陰性		
12	患者：便	NT	陽性	+ VI	陽性 A
13	患者：便	NT	陽性	+ VI	陽性 A
14	患者：便	NT	陰性		
21	従業員：手・指（ふきとり）	NT	陽性	+ VI	陽性 A
26	従業員：便	NT	陽性	+ VI	陽性 A

NT：Not test.

表-7 事例5の検体名と黄色ブドウ球菌及びエンテロトキシンの検出状況

番号	検体名	SET検出	黄色ブドウ球菌 検出・菌数(cfu/g)	コアグララーゼ 凝集・型別	菌株からのSET 検出・型別
1	ホタテ風味フライ	陰性	陽性 1.2 x 10 ⁷	+ VII	陰性
2	かまぼこ天ぷら	陰性	陽性 100>	+ VII	陰性
3	サトイモ	陰性	陽性 6.0 x 10 ⁶	+ VII	陰性
4	タケノコ	陰性	陽性 100>	+ VII	陰性
5	シイタケ	陰性	陽性 100>	+ VII	陰性
6	さつま芋の天ぷら	陰性	陽性 4.7 x 10 ⁷	+ VII	陰性
7	笹かまぼこの天ぷら	陰性	陽性 1.1 x 10 ⁷	+ VII	陰性
8	カニ棒たまご	陽性※ ¹	陽性 3.0 x 10 ⁸	+ VII	陽性 C
9	つくね串	陰性	陽性 1.4 x 10 ⁷	+ VII	陰性
10	錦糸卵	陰性	陽性 1.5 x 10 ⁷	+ VII	陰性
11	カニ肉	陽性※ ²	陽性 4.0 x 10 ⁹	+ VII	陽性 C
12	紅ショウガ	陰性	陽性 9.0 x 10 ⁶	+ VII	陰性
13	きゃらこぶ	陰性	陽性 3.1 x 10 ⁴	+ VII	陰性
14	ご飯(酢メシ)	陰性	陽性 1.5 x 10 ⁷	+ VII	陰性
15	患者:便	NT	陽性 N T	+ VII	陰性
16	患者:便	NT	陽性 N T	+ VII	陽性 C
17	患者:便	NT	陽性 N T	+ VII	陰性
18	患者:便	NT	陽性 N T	+ VII	陰性
19	患者:便	NT	陽性 N T	+ VII	陽性 C
20	健常者:便	NT	陽性 N T	+ VII	陰性

※¹; SET: C型: 160~320ng/g, ※²; SET: C型: 40~80ng/g.
No.15~19: 有症者, No.20: 健常者, NT: Not tested.

IV まとめ

黄色ブ菌による食中毒は毒素型なる故、喫食後短時間で発病し、嘔吐を伴う急性胃腸炎を特徴とする。SETは耐熱性毒素で、一度食品中で黄色ブ菌が増殖してSETが産生されれば後から加熱しても、菌は殺菌できるがSETは破壊されないことから食中毒は防止できない。また、食中毒の原因菌あるいは感染源の特定には菌の分離とSETの検出の両方を行うことが重要であり、SETの検出によってより確実な診断が出来る。

1. 事例1はまさに黄色ブ菌SETによる食中毒の例で、いずれの食品からも食中毒菌は検出されず、SETが【牛タンのゼリー寄せ】より高濃度に検出された。しかし、ホテル従業員の拭き取り検査で検出された黄色ブ菌のSETは、【牛タンのゼリー寄せ】と異なっているので、これらホテル従業員が感染源とは考えにくく、汚染源の特定は出来なかった。

2. 事例2は保存食と患者吐物について調べたが、食中毒菌は検出されなかった。が、【ツイストパン】及び【患者吐物】からSETが低濃度に検出された。しかし、【ツイストパン】が感染源とは考えにくく、汚染源の特定は出来なかった。

3. 事例3は【残品のおにぎり】からSET: A型が検出された。黄色ブ菌は食品及び患者便から分離され、コア型はVII、SETはA型で、この食中毒は【おにぎり】によるものと特定出来た。

4. 事例4は昼食の弁当の保存食からはSETは検出されなかつ

た。しかし、黄色ブ菌が食品及び患者の便から分離され、全てコア型VI、SETはA型であった。この食中毒は6月17日の昼の弁当が原因と特定出来たが、どの食品が感染源かは特定出来なかった。

5. 事例5は弁当の保存食から、SETはC型が【カニ棒たまご】と【カニ肉】から検出された。黄色ブ菌は食品及び患者便から分離され、菌数も【カニ棒たまご】と【カニ肉】では高濃度に検出された。また、分離された菌株は全てコア型がVIIで、検出されたSETもC型であった。このことから、この食中毒の原因は【カニ棒たまご】と【カニ肉】によるものと特定された。

謝辞

稿を終えるにあたり、試料の提供及び検体の送付に御協力を戴いた鴨川、木更津及び船橋保健所の関係各位に深謝いたします。

文献

- 1) 潮田 弘, 寺山 武, 坂井千三, 善養寺浩: 黄色ブドウ球菌のコアグララーゼ型別簡易法とその応用, 東京衛研年報, 26, 1-6, 1975.
- 2) 五十嵐英夫, 山田澄夫, 寺山 武: 食品中のブドウ球菌ロトキシンの簡易迅速検出法, モダンメディア, 24, (1), 519-528, 1978.