

千葉県でも患者がみられた食中毒様A群レンサ球菌 感染症について

小岩井健司

Foodborn Epidemic of Group A Streptococci

Kenji KOIWAI

1 はじめに

A群レンサ球菌は咽頭炎、扁桃炎、化膿性皮膚炎やしよ紅熱、リウマチ熱等の原因菌である。また、近年は多臓器不全や軟部組織の壊死等を起こし急激な病態を惹起する劇症型感染症起因菌として注目¹⁾されている。さらに本菌は、例数は少ないものの食品を介し、食中毒様の感染形態をとって発症する事例の原因菌としても報告²⁻⁵⁾されている。

1998年8月、茨城県で仕出し弁当を原因とするA群レンサ球菌感染症が発生した。千葉県内でも16名の患者が確認され、うち12名からA群レンサ球菌が分離された。今回、これらの分離菌を用いてパルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE)による遺伝子解析および食品中でのA群レンサ球菌の増殖試験等を実施したのでその結果を報告する。

2 事件の概要

事件の概要⁶⁾を表1に示す。喫食者数423名、発症者数342名、発症率は80.9%と高率であった。原因食品は8月16日の昼食用弁当で、野菜煮物、牛肉信田巻き、シュウマイ、厚焼き卵およびメロンからA群レンサ球菌が分離されている。

表1 事件の概要

発生日日	1998年8月16日19:00頃～
発生場所	水戸市(ソフトボール大会参加者)
喫食者数	423名(千葉県:20名)
発症者数	342名(発症率80.9%)<千葉県:16名>
主な症状	のどの痛み、発熱(38~39℃)、関節の痛み、頭痛、倦怠感
喫食時間	8月16日昼頃
原因食品	昼食用弁当(野菜煮物、牛肉信田巻き、シュウマイ、厚焼き玉子、メロン)
病因物質	A群レンサ球菌(T22)

3 材料及び方法

1) A群レンサ球菌の検索

A群レンサ球菌の検索は、茨城県内で行われたソフトボール大

会に参加した千葉県関係者20名の咽頭ぬぐい液について行った。培養は羊血液寒天培地による直接培養とSEB培地(日水製薬)による増菌培養を併用し、羊血液寒天培地上でβ溶血を示した集落について、生化学性状(アピストレップ20)、群別試験(Phadebact Streptococcus Test)および血清型別試験(デンカ生研)を実施した。

2) 分離菌の遺伝子解析

分離されたA群レンサ球菌の発赤毒素遺伝子の検出はPCR法⁷⁾によって行った。また、パルスフィールド電気泳動(PFGE)法によるゲノムDNAの解析は満田ら⁸⁾の方法に準じて実施した。なお、PCR法による発赤毒素遺伝子の検出およびPFGEの解析は茨城県衛生研究所から分与された本感染症事例の弁当由来株(4株)、弁当製造業者由来株(3株)および患者由来株(6株)、計13株を対照として行った。

3) A群レンサ球菌の増殖試験

本事例弁当由来株(Todd-Hewitt培地使用)と*Vibrio parahaemolyticus*(ペプトン水使用)を20℃、30℃および37℃で培養し、560nmにおける濁度を測定することにより各温度における増殖速度を比較した。また、弁当由来株をTodd-Hewitt培地で35℃、1夜培養後、リン酸バッファーで洗浄し、およそ10³cfu/mlに希釈した菌100μlを10gの厚焼きタマゴに添加し、30℃における食品中での増殖試験を行った。

4 結果

1) A群レンサ球菌の分離状況と血清型

検査した20名のA群レンサ球菌分離状況を表2に示す。有症者は16名、無症状者は4名であった。有症者のうち直接培養で11名、増菌培養で1名、計12名(12/16:75%)からA群レンサ球菌が分離され、その血清型はいずれもT22であった。また、無症状者1名からT1が分離された。

2) 分離菌の遺伝子解析

分離されたT22型12株についてPCR法により発赤毒素遺伝子の検出を行ったところ、すべてB、Cの遺伝子を保有していた。茨城県分与株(13株)も同様であった。

PFGEの結果を図1、2に示す。制限酵素Sma I(図1)では約242.5kb付近のバンドに微細の差が認められただけであったがSfi I(図2)を用いたPFGEでは泳動パターンは明らかに2種類に分類され、本事例は2種類のT22が関与したのと考えられた。図には示さなかったが茨城県の患者由来株も2種類の泳動パターンに分類された。

表2 A群レンサ球菌検査結果

検体番号	直接培養	増菌培養	T型	備考
1	+	+	22	
2	+	+	1	症状無
3	-	-		症状無
4	+	+	22	
5	-	-		症状無
6	+	+	22	
7	-	-		
8	+	+	22	
9	-	+	22	
10	+	+	22	
11	-	-		
12	-	-		
13	+	+	22	
14	-	-		
15	+	+	22	
16	+	+	22	
17	+	+	22	
18	-	-		症状無
19	+	+	22	
20	+	+	22	

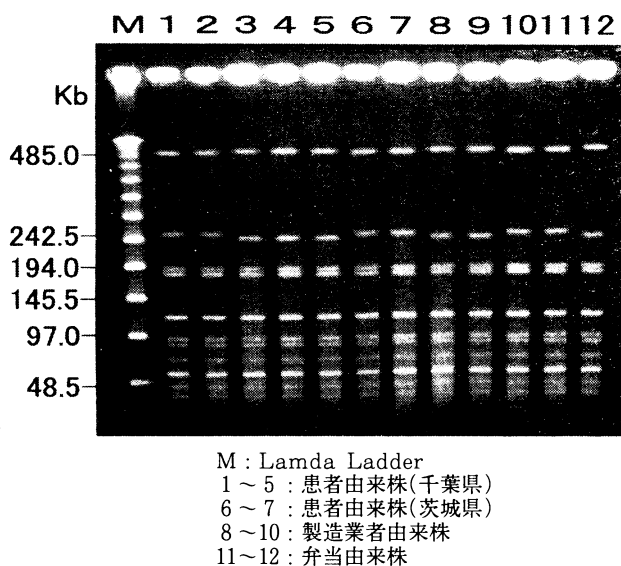


図1 A群レンサ球菌のPFGEパターン (Sma I)

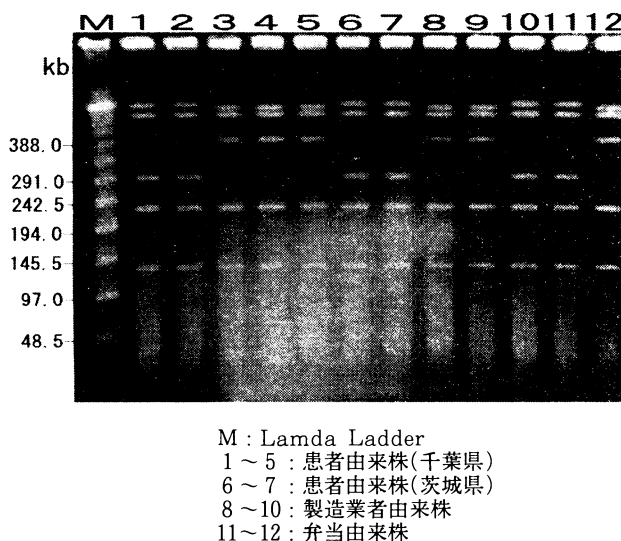


図2 A群レンサ球菌のPFGEパターン (Sfi I)

3) 各種温度における増殖

図3に各種温度における液体培地中のA群レンサ球菌の発育曲線を示す。本菌は20℃における発育は緩やかであったが、30~37℃では *Vibrio parahaemolyticus* と同等かそれ以上の発育を示した。

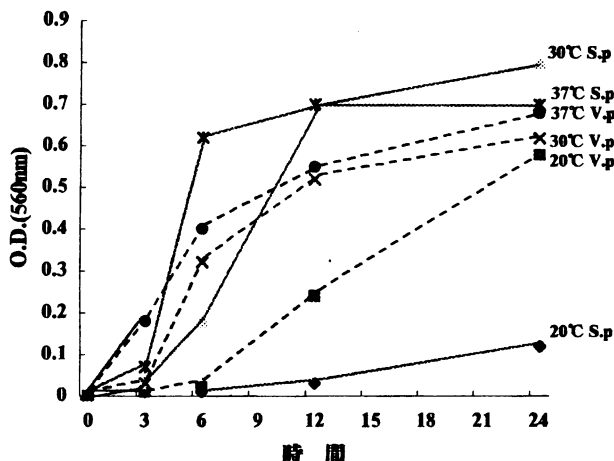


図3 A群レンサ球菌と腸炎ピブリオの増殖

4) 食品中におけるA群レンサ球菌の増殖

液体培地において30~37℃での発育が旺盛だったことから、30℃における厚焼き卵中での増殖試験を行った。その結果を図4に示す。本菌は食品中で速やかに増殖することが確認され、 10^1 cfu/gの菌は3時間で約10倍増加した。

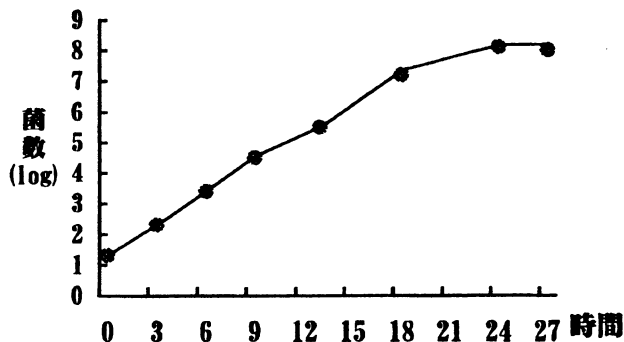


図4 A群レンサ球菌の食品中での増殖(厚焼き卵)

5 考察

ここ数年わが国において、食品を媒介して上気道炎等の患者が発生する食中毒レンサ球菌感染症が何例か報告されている。これらの原因となるのはA群が多いもののG群²⁾による事例も知られている。今回、千葉県でも患者が確認された事例に遭遇し、A群レンサ球菌感染症におけるPFGEの有用性あるいは本菌の食品中での増殖態度等を観察した。

患者由来12株および茨城県分与13株の血清型は共にT22、保有発赤毒遺伝子はB、Cであった。これらの株の制限酵素 *Sma* I を用いたPFGEの解析では、242.5kb付近の移動度にやや差が認められたがほとんど同一のパターンのようであった。しかし、*Sfi* I による泳動パターンは明らかに2種類に分類された。この

ようにA群レンサ球菌の疫学的調査にPFGEを用いることは非常に有用と思われた。ただ、サルモネラ等でも1つの制限酵素で解析した場合は同一のクローンと思われても他の制限酵素を使用すると識別可能になることが報告⁹⁾されていることから、A群レンサ球菌のPFGEによる解析も、少なくとも2種類の制限酵素を用いて比較することが適切と考えられた。

今回の事例は、弁当製造から喫食、発症までの時間が短時間であった。そこで、世代交代時間が短い食中毒菌*Vibrio parahaemolyticus*とA群レンサ球菌の発育速度を比較した。その結果、20℃における発育はあまり顕著ではなかったものの30℃、37℃では*Vibrio parahaemolyticus*と同等かそれ以上の速度で増殖することが確認された。

次に、食品を介したA群レンサ球菌感染症では卵関連食品が原因食品に含まれることが多く^{3),5)}、本事例でも厚焼き卵からA群レンサ球菌が分離されている。そこで厚焼き卵に該菌を接種して食品中での増殖が可能かどうかを観察した。その結果、本菌は速やかな増殖を示し、 10^4 cfu/gの菌は9時間で約 10^8 cfu/gまでに増殖した。

今回の事例におけるA群レンサ球菌の汚染経路や発症菌量等は不明である。しかしながら、食品に付着したA群レンサ球菌は気温が30℃前後になる季節には速やかに増殖し、食中毒様の感染症の原因となる可能性があることが実験等で明らかになった。A群レンサ球菌が食品に付着、増殖するという事は食品製造の現場ではあまり知られていないと思われる。今後、このような情報を提供していくことが重要である。

謝 辞

稿を終えるにあたり、本事例に関する資料を提供頂いた茨城県水戸保健所並びに菌株を分与下さった茨城県衛生研究所微生物部根本治育先生に深謝します。

6 文 献

- 1) 渡辺治雄, 清水可方監修: 劇症型A群レンサ球菌感染症, 近代出版, 東京 (1997)
- 2) 奥山雄介: 食品によるA群T12型溶血連鎖球菌咽頭炎集団発生の疫学的研究 (1985), 感染症学雑誌, 56, 1173-1185
- 3) 池田嘉子 (1998), 上気道感染症様 (カゼ症候群) 食中毒, 食衛誌, 39, J 468-469
- 4) 安岡富久, 絹田美苗, 西岡靖二 (1997): A群レンサ球菌T-22による集団発生事例, 病原微生物検出情報, 9, 307-308
- 5) 遠藤美代子 (1999): 食品媒介のレンサ球菌による集団咽頭炎について, 東京都微生物検査情報, 20, 5
- 6) 茨城県水戸保健所
- 7) 日本臨床特別号: 感染症-遺伝子診断と分子疫学-, 326-332, 日本臨床社, 東京 (1992)
- 8) 満田年宏, 荒井一二, 川本進, 横田俊平 (1995): パルスフィールドゲル電気泳動法による感染症の分子疫学的解析, 日細菌誌, 50, 1077-1086
- 9) J.TERAJIMA, A.NAKAMURA AND H.WATANABE (1998): Epidemiological analysis of *Salmonella enterica* Enteritidis isolates in Japan by phage-typing and pulsed field gel electrophoresis, Epidemiol. Infect. 120, 223-229