

香川県で発生した *Salmonella* Enteritidis 感染事例

Salmonella Enteritidis Cases in Kagawa Prefecture

宮本 孝子 有塚 真弓 関 和美 内田 順子
Takako MIYAMOTO Mayumi ARIZUKA Kazumi SEKI Junko UCHIDA

要 旨

2011年7月香川県内の保育所で下痢・発熱の症状を呈した *Salmonella* Enteritidis による集団感染事例が発生した。これらの菌株のDNAを制限酵素 *Xba*I, *Bln*I で切断したのち、パルスフィールドゲル電気泳動法 (P F G E法) を実施した。泳動後のDNA切断パターンを比較し、分子疫学解析を行った結果、制限酵素2種類とも同じパターンを示したことから同一感染源であることが示唆されたが、共通の飲食物からは食中毒菌が検出されなかったため原因追究には至らなかった。

また、これまでに *Salmonella* Enteritidis を分離した2010年の集団食中毒事例や2011年の感染症発生動向調査事業や液卵収去検査からの菌株もP F G E法を実施し関連性をみた。これらのうち同じパターンを示したのもあったので同一感染源であることが示唆されたが、原因追究には至らなかった。

キーワード: *Salmonella* Enteritidis 集団感染 P F G E法 制限酵素

I はじめに

感染症において疫学調査の目的は、患者・保菌者の存在、感染源、感染経路、流行地域などを調査し病原微生物を同定したり菌株間の相違を明らかにし感染拡大を防止することにある。

P F G E法は、細菌の遺伝子を制限酵素で切断し、特殊な電気泳動装置を用いることにより大きなDNAサイズの分離が可能であり、遺伝子学的に類似しているかどうか相互間の関連性を解析できるものである。

2011年7月香川県内の保育所で発生した集団感染事例で有症者及び給食従事者から分離した *Salmonella* Enteritidis 7株と当センターで分離同定した同菌19株の計26株についてP F G E法による分子疫学解析を実施し関連性を調査した。

II 方法

2011年7月に下痢・発熱の症状を呈した保育所の入所児童12名、給食従事者3名計15名の便、ふきとり10検体、使用水1検体及び保育所の給食6日間の原材料と調理済み食品12検体計38検体について食中毒菌検査を実施した。その結果、有症者6名、給食従事者1名から *Salmonella* Enteritidis 7株が検出されたため、P F G E法を実施した。

P F G E法は、増菌した検体を1%Seakem Gold Agarose にてゲルブロックに包埋後1%

N-lauroylsarcosin加1mg/ml proteinaseKにて溶菌処理後、制限酵素 *Xba*I, *Bln*I の2種類を用い、37°C で一夜反応させた。電気泳動はCHEF-DR III System (BIO-RAD) を使用し、泳動条件は6V/cm、スイッチングタイム *Xba*I, *Bln*I とも2.2-63.8秒、泳動時間19時間、0.5×TBE、14°Cの条件で実施した¹⁾。画像は画像解析ソフトFingerprinting II (BIO-RAD) を用いて解析した。

また、サルモネラ食中毒防止対策事業(2010年度、2011年度)で鶏の液卵製造施設の液卵収去検査(以下、液卵)にて検出した *Salmonella* Enteritidis 3株と小学生スポーツ大会(2010年8月)(以下、スポーツ大会)で発生した *Salmonella* Enteritidis 食中毒事例8株と感染症発生動向調査事業(2011年)(以下、発生動向)で当センターに送付され *Salmonella* Enteritidis と同定した8株の計19株(以下、比較菌株)についてもP F G E法を実施し、保育所由来7株と比較した。

III 結果

保育所由来7株と比較菌株19株計26株の制限酵素 *Xba*I によるP F G E法の結果を図1、制限酵素 *Bln*I によるP F G E法の結果を図2に示した。

P F G E法の結果から、26株は制限酵素 *Xba*I でのパターンは大きく5つに、制限酵素 *Bln*I では4つに分類された。

保育所由来7株は、2つの制限酵素ともパターンが一致していた。

スポーツ大会8株は、*BlnI*のパターンは一致していたが、*XbaI*では2株(No. 1, No. 2)が1バンド異なっていた。

発生動向の8株中4株(No. 1~4)は2つの制限酵素ともパターンが一致していたが、1株(No. 5)は3バンドずつ異なっていた。また、2株(No. 7, No. 8)は親子であり、液卵由来No. 2, No. 3とパターンが一致(ケース1)していた。また、発生動向No. 6と液卵由来No. 1も2つの制限酵素ともパターンが一致(ケース2)した。ケース1とケース2を比較すると*XbaI*で1バンド、*BlnI*で2バンド異なっていた。

保育所由来7株とスポーツ大会8株と発生動向4株(No. 1~4)は、*BlnI*ではパターンが一致し、*XbaI*ではスポーツ大会2株(No. 1, No. 2)が1バンドのみ異なっていたが残りのバンドは全てパターンが一致した。

IV 考察

Tenover ら²⁾によると、異なるバンド数が3本以内である場合、疫学的な評価は「分離株はほぼ確実に流行株の一部」とし、集団感染の一部である可能性を強く示唆するものとしている。3本以内のバンドの差異は、繰り返して培養したり、あるいは患者の体内や環境の違いによりわずかに変異することに起因するともいわれている。

保育所由来7株のパターンが2つの制限酵素において全て一致したことから同一起源であることが示唆されたが、食品から*Salmonella* Enteritidis が検出されず原因の特定には至らなかった。

図1, 2から保育所由来7株とスポーツ大会8株と発生動向8株中4株は、ほぼパターンが一致したので同一起源の可能性が示唆された。しかし、全て便から分離した株であり、すべての事例において食品から同菌が検出されておらず、また発生動向は散発事例のため原因の特定には至っていない。

また、ケース1, ケー2のパターンがそれぞれ一致しており*Salmonella* Enteritidis で汚染された液卵が感染源である可能性が考えられるが、流通経路や他の有症者の有無が把握できておらず、断定しがたい。

なお、液卵由来の3株(殺菌10%加糖卵黄, 未殺菌凍結全卵, 未殺菌凍結卵白)は、同じ液卵製造施設から

Salmonella Enteritidis が検出されたものであるが収去日は異なる。

また、スポーツ大会で発生した食中毒事例8株は喫食調査から弁当が共通食であったが、食中毒菌は検出されず、検便の結果8名から*Salmonella* Enteritidis が検出された事例である。

今回、制限酵素*XbaI*, *BlnI*の2種類を用いてPFGE法による比較検討を行った結果、同じパターンを示したものもあったが、原因追究には至らなかった。

今後*Salmonella* Enteritidis による感染事例が発生した場合、今回調査したPFGE法のデータと比較し解析に役立てたい。

V まとめ

2011年7月香川県内の保育所で発生した集団感染事例7株とサルモネラ食中毒防止対策事業(2010年度, 2011年度)の液卵由来3株と感染症発生動向調査事業(2011年)からの分離株8株とスポーツ大会(2010年)8株の計26株の*Salmonella* Enteritidis について、制限酵素*XbaI*, *BlnI*を用いたPFGE法を実施し分子疫学解析を実施した。

保育所由来7株とスポーツ大会8株と発生動向4株から分離された菌株のPFGE法によるパターンはほぼ一致し、同一起源であることが示唆されたが原因の特定には至らなかった。

液卵由来3株と発生動向3株のPFGE法によるパターンがほぼ一致し、同一起源であることが示唆されたが原因の特定には至らなかった。

今後、*Salmonella* Enteritidis が発生した場合、今回のデータとともに解析し原因追究に努め、長期間にわたりデータを構築し相互間の関連性を解析し感染予防に役立てたい。

文献

- 1) 寺嶋 淳: 広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究 平成20年度 総括・分担研究報告書
- 2) Tenover FC, Arbeit RD, Goering RV, Mickelsen PA, Murray BE, Persing DH, *et al.* Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis. Criteria for bacterial strain typing. J Clin Microbiol 1995; 33: 2233-9.

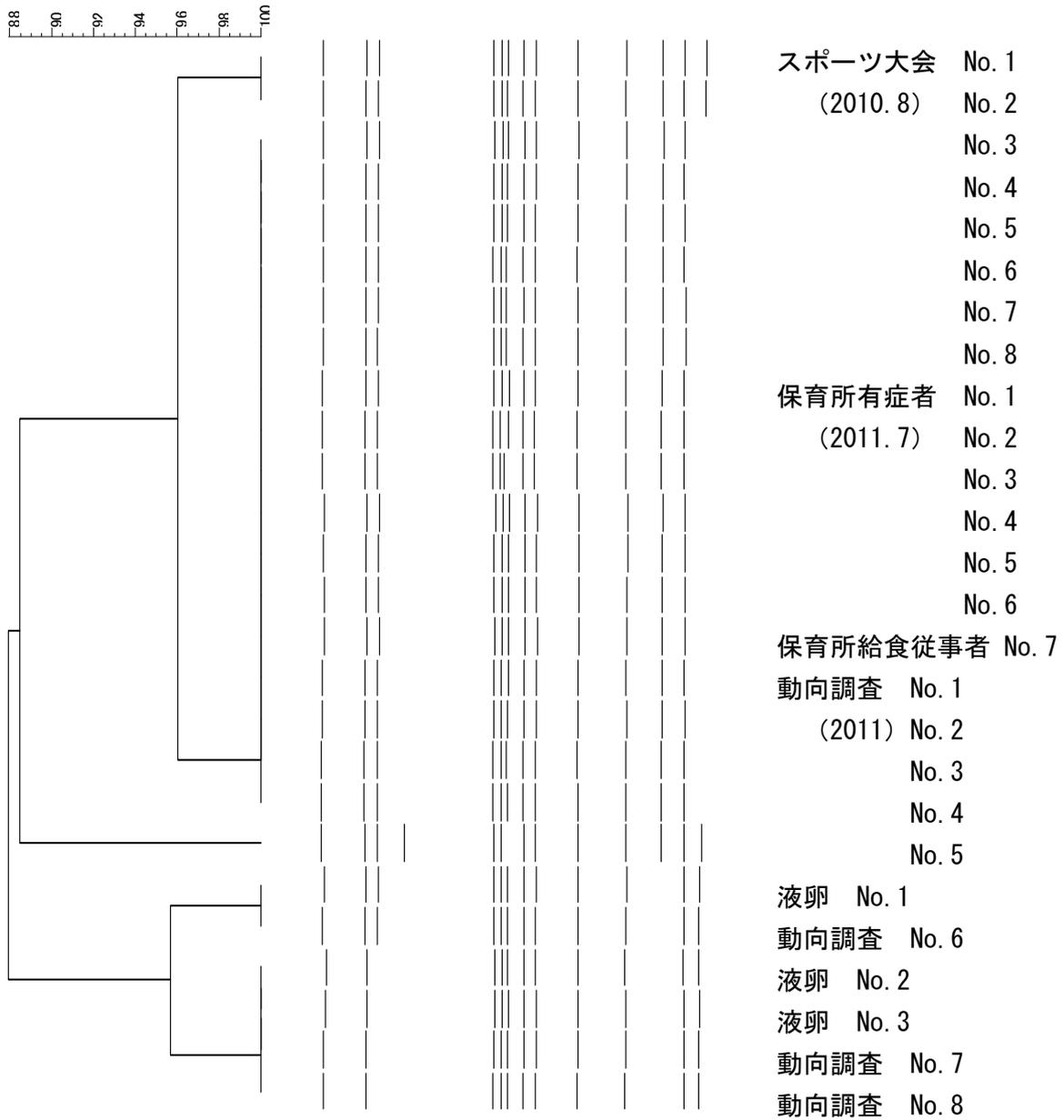


図1 制限酵素 *Xba*I による PFGE 法のデンドログラム

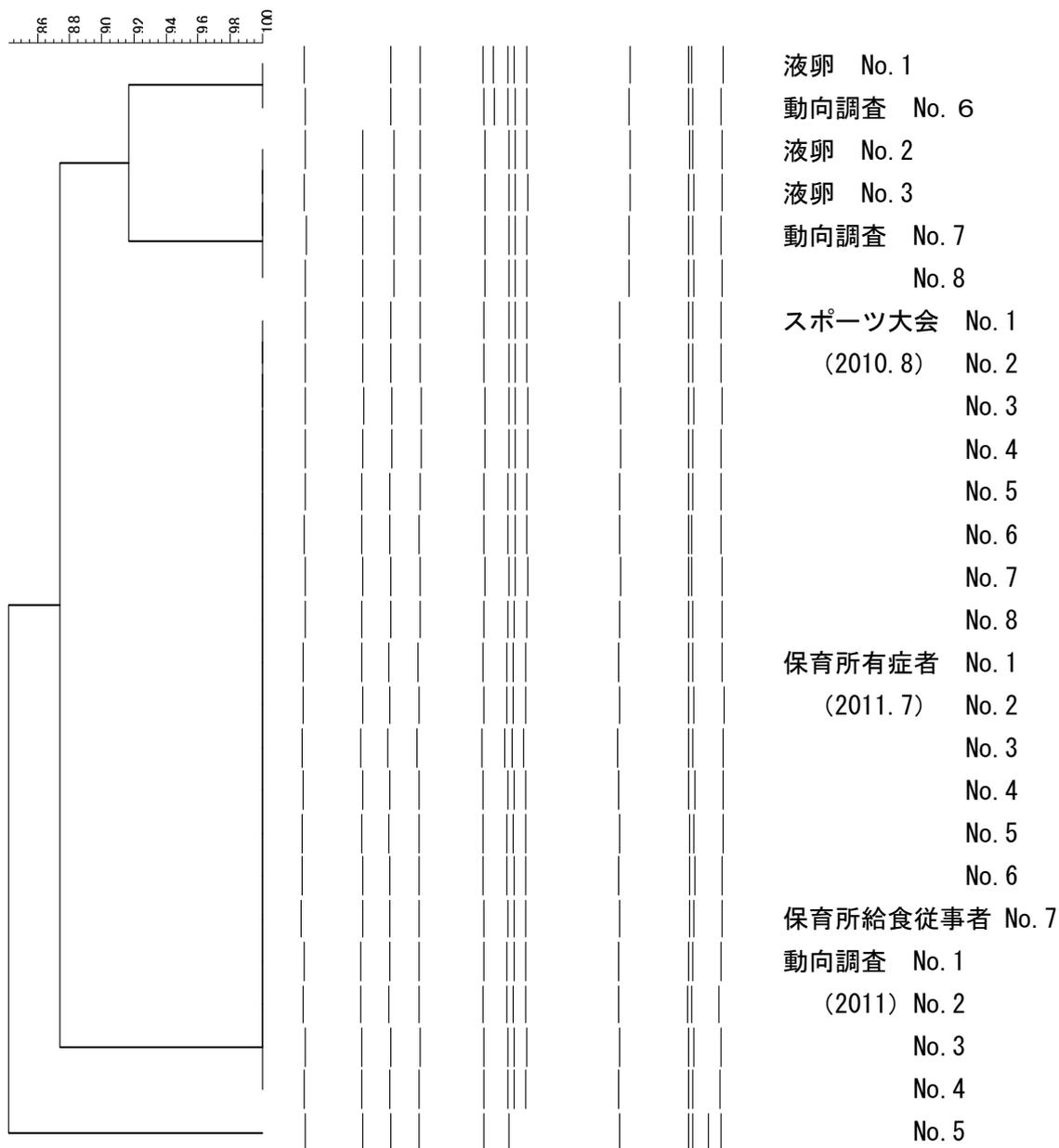


図2 制限酵素 *BlnI* によるPFGE法のデンドログラム