

平成28～29年度に茨城県内で発生したウエルシュ菌による食中毒事例について

○相原 義之, 海野 友梨, 中本 有美, 鯉淵 祐子, 永田 美樹, 山城 彩花, 小川 郁夫,
山本 和則, 深谷 節子, 岩間 貞樹

要旨

平成 28 年度から平成 29 年度にかけて、茨城県内において 2 件のウエルシュ菌による食中毒事例が発生した。1 件目は県内ラーメン店で発生し、喫食者 422 名中 31 名が下痢・腹痛の症状を呈した。2 件目は県内レストランで発生し、喫食者 29 名中 11 名が下痢・腹痛の症状を呈した。いずれの事例においても原因施設は加熱調理品を中心に提供していたが、調理後の温度管理や衛生管理が不十分であったために食中毒に至ったと考えられた。

キーワード：ウエルシュ菌，集団食中毒事例，疫学調査，PFGE，温度管理，

はじめに

ウエルシュ菌 (*Clostridium perfringens*) は偏性嫌気性のグラム陽性大桿菌であり、ヒトを含む動物の腸管や土壌中に広く分布している。ウエルシュ菌のヒトに対する病原性としては下痢原性とガス壊疽が主に知られているが、このうち食中毒に関与しているのは前者であり、エンテロトキシンを産生する一部の A 型ウエルシュ菌を原因とする大規模食中毒事例がしばしば報告されている。

茨城県においてウエルシュ菌による食中毒は過去 5 年以上にわたり発生していない状況が続いていたが、平成 28 年度～29 年度にかけて食中毒事例が 2 件立て続けに発生した。本報では各々の事例について概要や検査状況等について報告する。

1. 検査方法 (2 事例共通)

いずれの検体においても検査は食品衛生検査指針微生物編 2004¹⁾を参照し、食中毒起因菌 11 項目 (病原性大腸菌, サルモネラ属菌, 黄色ブドウ球菌, カンピロバクター属菌, セレウス菌, ウエルシュ菌, 腸炎ビブリオ, ビブリオ

類縁菌, エルシニア・エンテロコリチカ, エロモナス属菌, プレジオモナス属菌) を検査対象とした。

1-1. 便検体からのウエルシュ菌分離・同定

直接培養は便検体をカナマイシン含有卵黄加 CW 寒天培地 (日水製薬) に塗抹した後、37℃, 1 晩嫌気培養することで行った。増菌培養は便検体を変法 TGC (日水製薬) 培地に接種し、75℃, 10 分の加熱処理を行い、1 晩嫌気培養した後、直接培養と同様に分離培養を行った。分離培養後、定型的コロニー (乳糖分解, レチシナーゼ反応陽性) について、PCR によるウエルシュ菌 α トキシン遺伝子 (ホスホリパーゼ C, *plc*) およびウエルシュ菌エンテロトキシン遺伝子 (*cpe*) の検出を行った。

1-2. 便検体からのウエルシュ菌エンテロトキシンの検出

便検体を生理食塩水に懸濁後、その遠心上清を試料とし、PET-RPLA (デンカ生研) を用いてウエルシュ菌エンテロトキシン (CPE) の検出を行った。

1-3. 食品検体からのウエルシュ菌分離・同定

チオグリコレート (TGC) 培地 (日水製薬)

を用いて10倍乳剤を作製し、1晩嫌気培養後、便検体と同様の方法にて分離を行った。

1-4. 拭き取り検体からのウエルシュ菌分離・同定

ふきふきチェックII(栄研化学)で拭き取った検体について、便検体と同様の方法にて分離を行った。

1-5. パルスフィールドゲル電気泳動法(PFGE)²⁾

分離された *cpe* 陽性ウエルシュ菌株をトリプトソイブイオン(日水製薬)に接種し、37°Cで1晩培養後、1mLを12000rpmで5分間遠心し、上清除去後、滅菌リン酸緩衝液で2回洗浄した後、200 μ Lの超純水に懸濁した。等量の1%Sea Kem Gold agarose(ロンザジャパン)を加えてプラグを作製し、10mg/mL Lysozyme 添加0.5M EDTA溶液で37°C、4時間処理後、1mg/mL Proteinase K、1%N-lauroylsarcosine 添加0.5M EDTA溶液で37°Cにて、1晩処理を行った。4mM Pefabloc SC溶液で酵素失活後、制限酵素 *Sma*I を用い、25°Cで1晩処理した。マーカーには *Salmonella* Braenderup H9812株(*Xba*I処理)を用いた。PFGEはCHEF DR-IIIを用い、6V/cm、Switch time 0.5s~40s、Included angle 120°、バッファー温度14°C、19.4時間の条件で行った。データ解析についてはBioNumerics(Ver. 6.6)を利用し、解析はDice法(最適化:0.5%、トレランス:0.5%)、系統樹作成は平均距離法(UPGMA)により行った。結果の解釈は0~3バンド違いを同一タイプとした。

2. 事例概要および検査結果

2-1 事例概要① ラーメン店Aの事例

平成28年12月1日に茨城県竜ヶ崎保健所管内の高校から、「ラーメン店Aを利用した生徒2グループ11名のうち9名が下痢・嘔吐など

の体調不良を訴えている」旨の連絡が竜ヶ崎保健所にあった。保健所が調査を行ったところ、11月27日から12月1日にかけてラーメン店Aを利用した客422人中、28名が当該高校の在学学生であり、そのうち26名が腹痛・下痢等の食中毒症状を呈していること、高校生以外の客においても5名の有症者がいること、ラーメン店Aでの喫食から発症までの平均潜伏時間は10.6時間(1~24時間)であることが判明した(表1)。当所に搬入された施設拭き取り8検体、食材5検体、調理従事者便7検体、有症者便18検体について食中毒起因菌検査を行ったところ、施設拭き取りおよび食材からはウエルシュ菌を含む食中毒起因菌11項目すべてが不検出であった。一方、従業員便3検体および有症者便9検体から *cpe* 陽性ウエルシュ菌が検出された。また、ウエルシュ菌が分離されなかった便検体のうち7検体(従業員便2検体および有症者便5検体)においても、PET-RPLAによりCPEが検出された。

保健所は「有症者は同学校の生徒であるが、学年・クラスにばらつきがあり、共通する飲食物がラーメン店Aで提供された食事のみであること」、「複数の有症者および従業員からウエルシュ菌が検出されたこと」、「有症者の主症状が下痢・腹痛であり、潜伏時間もウエルシュ菌食中毒と矛盾しないこと」を理由に本事例をウエルシュ菌による食中毒と断定し、当該施設を4日間の営業禁止処分とした。

2-2 事例概要② レストランBの事例

平成29年4月6日、茨城県鉾田保健所管内のレストランBから、「4月4日の夜にレストランBを利用した客9名のうち7名が腹痛や下痢等の症状を呈している」旨の連絡が同保健所にあった。保健所が調査を行ったところ、4月4日には連絡のあった9名の他にも3グループ20名の利用者がおり、同様の症状を呈して

いる有症者は4グループにわたり合計11名確認され、レストランBでの喫食から発症までの平均潜伏時間は13.3時間であった(表1)。当所に搬入された施設拭き取り10検体、施設スタッフ便15検体(うち調理従事者便9検体)、有症者便6検体について食中毒起因菌検査を行ったところ、施設拭き取り検体および従業員便からはウエルシュ菌を含む食中毒起因菌11項目のいずれも検出されなかったが、有症者5名の便からは*cpe*陽性ウエルシュ菌が検出された。また、そのうち1名の便からは併せて*C. jejuni*も検出された。また、ウエルシュ菌が分離されなかった便検体のうち7検体(従業員便2検体および有症者便5検体)においても、PET-RPLAによりCPEが検出された。一方でウエルシュ菌が分離されなかった便検体のうち従業員便3検体において、PET-RPLAによりCPEが検出された。

保健所は「発症した4グループ11名の共通食が当該施設での食事のみであること」、「発症者における発症時間や症状が類似した傾向を示していること」を理由に本事例をウエルシュ菌による食中毒と断定し、当該施設を3日間の営業禁止処分とした。

3. 各事例における考察

3-1 ラーメン店Aの事例

今回検出された従業員便及び有症者便由来の*cpe*陽性ウエルシュ菌株12株についてPFGEを実施したところ、従業員1名を除く11名に由来する菌株のバンドパターンの類似性が高いことが確認され、本事例が同一菌株による集団食中毒事例である可能性が高いことが示唆された(図1)。

保健所の喫食調査によると、発症者31名は主に3種類のラーメンA~Cのいずれかを喫食していたことが確認された。ラーメンの構成は

表2に示したとおりであり、ラーメンAおよびCは卵以外の食材が共通していること、発症者の約8割がラーメンAまたはCを喫食していた。なお、チャーシューは喫食残品の検査を行ったが、ウエルシュ菌が検出されなかった。ラーメンに使用されているスープ(①~③)および麺(①~③)は別施設で製造したものを使用しており、ラーメンAおよびC用のスープ①は、店舗内でかえし(たれ)を加えたものを使用していた。従業員によると、このかえしは寸胴を用いて1回あたり20L単位で作製し、使用時は5Lポットに入れて使用、冷蔵保管しながら約3日で使いきるとのことであった。また、小分けにしたものを客席に配置、継ぎ足し補充しており、いつでも客が自由に使用できるように状態にあった。そのような状況から、本事例においては原因食品が断定されなかったものの、店舗内におけるかえし(たれ)の管理が不衛生であったことが原因となって発生した可能性が示唆された。

3-2 レストランBの事例

行政検査によって分離された有症者便由来*cpe*陽性ウエルシュ菌5株についてPFGEを実施したところ、うち4名由来株のバンドパターンの類似性が高いことが確認された(図1)。

レストランBはビュッフェ形式のレストランであり、メインメニューを注文した客はビュッフェメニュー(当日は17種類)を自由に喫食出来る形式であった。保健所の調査によると、有症者11名の共通喫食は17種のビュッフェメニューに偏っており、惣菜3品とスープ1品が高率で喫食されたメニュー(11人中8人以上が喫食)であったことが判明した。この惣菜3種は当日の朝に調理したものをそれぞれ別の大皿に盛りつけてビュッフェコーナーに並べており、足りなくなった際には都度調理して補充していた。一方で、スープは食缶に入れられ

た状態で並べられており、足りなくなった際は予備の食缶と入れ替えて補充対応していた。この予備の食缶は調理場のディッシュウォーマー内で 45°C前後に保温された状態で保存されていた。これらの状況から、本事例がウエルシュ菌による食中毒であることを考慮すると、嫌気的環境になりやすく、また 45°Cという増殖に適した温度で保管されていたスープが原因食品である可能性が示唆された。

4. 結論

今般、茨城県において半年以内に2件のウエルシュ菌食中毒事例が発生した。いずれの事例においても、原因施設の営業者はウエルシュ菌による食中毒やその対策についての知識が不十分であり、調理後の食品の保管状況が不衛生であったことや温度管理の方法に問題があったことを原因としてウエルシュ菌の増殖を引き起こし、食中毒に至ってしまった可能性が強く示唆された。今後、ウエルシュ菌食中毒や加熱調理後の衛生管理について、注意喚起をしていく必要があると考えられる。

一方で、行政検査においては、有症者の潜伏期間が半日程度と比較的短時間であったこと、有症者の主要症状が腹痛・下痢であり、嘔吐や発熱がほとんど見られなかったことが検査初期に判明しており、ウエルシュ菌食中毒を検査初期に疑うことができた。そのため、増菌培養を実施することにより、対応した便検体の半数からウエルシュ菌を分離することができ、原因の特定に繋げることができた。また、ウエルシュ菌が分離されなかった便検体についても、PET-RPLA を用いた CPE 検査を実施し、一部の検体から CPE を検出することで食中毒原因究明の一助とした。このように、ウエルシュ菌食中毒においてはいかに早くウエルシュ菌を原因菌と疑えるかが検査のカギとなり、そのた

めには有症者の疫学情報をしっかりと収集し、正確に分析・判断できる資質が重要であると考えられた。

謝辞

本報告をまとめるにあたり、食中毒事例についての情報をご提供下さいました茨城県竜ヶ崎保健所および茨城県銚田保健所の食品衛生担当者に深謝いたします。

文献

- 1) 植村興，食品衛生検査指針微生物編 2004, 297-306.
- 2) 高良武俊ら，沖縄県衛生環境研究所報 2015, 38-42.

表 1. 各事例における概要と検査状況

| | | ラーメン店A | レストランB |
|--------|-------------------|------------------|-----------------|
| 喫食者 | | 422名 | 29名 |
| 有症者 | | 31名 (7.3%) | 11名 (37.9%) |
| 有症者の症状 | 下痢 | 31名 (100%) | 11名 (100%) |
| | 腹痛 | 31名 (100%) | 10名 (90.9%) |
| | 倦怠感 | 10名 (32.3%) | 0名 (0%) |
| | 頭痛 | 7名 (22.6%) | 0名 (0%) |
| | 悪寒 | 5名 (16.1%) | 0名 (0%) |
| | 発熱 | 3名 (9.7%) | 0名 (0%) |
| | 吐気・嘔吐 | 1名 (3.2%) | 0名 (0%) |
| 潜伏期間 | | 10.6時間 | 13.3時間 |
| 検査状況 | ウェルシュ菌陽性検体数(拭き取り) | 0検体/8検体 (0%) | 0検体/10検体 (0%) |
| | ウェルシュ菌陽性検体数(食品) | 0検体/5検体 (0%) | 実施せず |
| | ウェルシュ菌陽性検体数(有症者便) | 9検体/18検体 (50.0%) | 5検体/6検体 (83.3%) |
| | ウェルシュ菌陽性検体数(従業員便) | 3検体/7検体 (42.9%) | 0検体/15検体 (0%) |

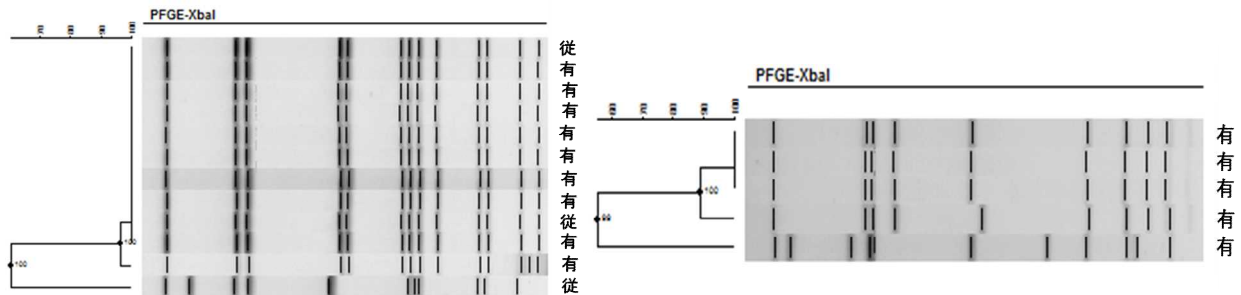


図 1. *cpe* 陽性ウエルシュ菌分離株の PFGE 画像 (左：ラーメン店 A, 右：レストラン B)

表 2. ラーメン店 A の事例における有症者の喫食メニュー

| | 使用具材・トッピング | | | | | | | | 有症者 (31名) 喫食率 | 非発症者 (6名) 喫食率 | 従業員 (ウェルシュ菌 検出者2名) 喫食率 |
|-------|------------|-----|---|----|-----|------|-----|---|---------------------|---------------------|---------------------------------|
| | チャーシュー | スープ | 麺 | ネギ | もやし | キャベツ | メンマ | 卵 | | | |
| ラーメンA | | ① | ① | | ○ | ○ | | | 21/31 (68%) | 0 | 0 |
| ラーメンB | ○ | ② | ② | ○ | | | ○ | | 6/31 (19%) | 4/6 (67%) | 1/2(50%) |
| ラーメンC | | ① | ① | | ○ | ○ | | ○ | 4/31 (13%) | 2/6 (33%) | 0 |
| その他 | ○ | ③ | ③ | ○ | | | ○ | | 0 | 0 | 1/2(50%) |