

短 報

A群レンサ球菌食中毒事例由来の 分離株に関する検討

鈴木理恵子*, 新川隆康

A Food-borne epidemic of Group A Streptococcal Pharyngitis

Rieko SUZUKI and Takayasu NIKKAWA

はじめに

A群溶血レンサ球菌感染症は、*Streptococcus pyogenes*を原因菌とした呼吸器感染症で、*S. pyogenes*はA群レンサ球菌と呼ばれている。本菌感染症は通常、小学生頃までに感染することが多く、咽頭痛、発熱等の風邪様症状を呈し、続発症として急性糸球体腎炎やリウマチ熱等の重篤な疾患を引き起こすことがある。またA群レンサ球菌は、健康な人の咽頭、皮膚などにも存在する「常在菌」でもあり、その伝播経路は主に飛沫感染で感染源は急性期や回復期の患者の鼻腔、咽頭、または化膿性疾患部の分泌物である。A群レンサ球菌が関与する感染症には、呼吸器感染症だけではなく手足の筋膜・筋肉等の軟部組織に壊死性の炎症を伴い重篤な症状を呈す劇症型レンサ球菌感染症(TSLS)もある。

近年、食品を介して起こる感染症は大きな社会的問題となっているが、2005年7月、神奈川県内で我が国でもあまり例を見ないA群レンサ球菌による大規模な食中毒事例が発生した。著者らは今回の事例に関する食品および環境材料からの原因菌の分離、同定を実施すると共に、事例由来株について細菌学的検討、遺伝子検索およびパルスフィールドゲル電気泳動による分子疫学的解析を行ったので報告する。

材料および方法

県内の大学で平成17年7月30日、31日の2日間にわたり行われた催し物で、手伝いの学生および職員に配布された昼食の仕出し弁当を喫食した約489名のうち218名が咽頭痛、発熱等の症状を呈しており、患者よりA群レン

サ球菌が検出されたと病院より保健所に連絡があり、原因究明のため当所へA群レンサ球菌の検査依頼があった。

1. 検査材料

弁当提供施設の検食16検体(30日7検体, 31日9検体), 31日弁当残品(未開封)5検体(1箱を分割)および施設ふき取り5検体(計26検体)について、A群レンサ球菌の分離培養同定検査を行った。

患者および弁当製造従事者の咽頭ぬぐい液は、医療施設にてA群レンサ球菌の分離が行われ、送付された菌株11検体(患者8検体, 調理従事者3検体)について、血清型別等の同定検査を行った。

2. A群レンサ球菌の分離および血清型別

分離培養に供した検食、弁当残品および拭き取り検体は、検体量に応じて5gから10gを秤量し、等量の滅菌リン酸緩衝液で乳剤を作成した。乳剤の白金耳量を直接、5%ウマ血液加コロンビアCNA寒天培地(BD)に接種し、37℃18~24時間分離培養を行った(直接培養)。また、増菌培養として乳剤1mlをSEB培地(日水)10mlに接種し37℃18~24時間培養後、培養液の白金耳量を直接培養と同様に分離培養を行った。分離用の寒天培地上に得られたβ溶血を示す集落をA群レンサ球菌と推察し、スライデックスストレプトキットにより群別を行い、A群に凝集することを確認した。

A群レンサ球菌と同定された食品由来株および医療機関より送付されたヒト由来株について、市販のA群レンサ球菌免疫血清「生研」を用いT型別を実施した。

3. 発赤毒素遺伝子の検索

菌株の微量を精製水100μlに懸濁し、100℃10分加熱後急冷したものをDNA鋳型とし、発赤毒素*speA*, *speB*, *speC*遺伝子の検索¹⁾を行った。

4. パルスフィールドゲル電気泳動

パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)は菌株を精製水200μlに懸濁し、等量の1%Seakem Gold Agarose(Cambrex)を加え菌体包埋プラグを作製した。作製したプラグは1mg/ml Lyzostaphin, 1mg/ml Lysozyme, 0.5M EDTA(pH8.0)溶液で溶菌後、1mg/ml Proteinase K, 1%N-lauroylsarcosine 添加0.5M EDTA(pH8.0)溶液で処理し、制限酵素*Sma*Iを用いDNAを切断後、パルスフィールドゲル電気泳動(以下、PFGE)を行った。また、制限酵素に*Sfi*Iも用い、同様にPFGEパターンの比較を行った。

結 果

31日の検食3検体(炒飯, 春巻き・とうもろこし, 冷やしきしめん), 弁当残品4検体(酢豚, 炒飯, 春巻き・とうもろこし・唐揚げ, かに玉・ポテト)からA群レンサ

神奈川県衛生研究所 微生物部
〒253-0087 茅ヶ崎市下町屋1-3-1

* 現 地域調査部

suzuki.s3df@pref.kanagawa.jp

球菌が分離された。

これら分離した食品由来7株および送付されたヒト由来11株（計18株）について血清型別を行ったところ、食品由来7株はいずれもT25型であった。ヒト由来11株のうち患者由来8株および調理従事者由来2株はT25型で食品由来株と同様であったが、調理従事者由来1株はA群レンサ球菌T型別不能株であった（表1,表2）。

食品またはヒト由来株、計18株はいずれも発赤毒素speB遺伝子単独保有株であった。

またこれら18株について制限酵素Sma I およびSfi I を用いパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）を行ったところ、各々のPFGEパターンはT25型17株および型別不能1株ともに全て同一であった。

表1 食品および環境からのA群レンサ球菌分離状況

No.	検体名	結果
1	30日弁当検食(海老チリソース)	検出せず
2	30日弁当検食(そばろご飯)	検出せず
3	30日弁当検食(焼売)	検出せず
4	30日弁当検食(ゴマ団子)	検出せず
5	30日弁当検食(茄子南蛮漬)	検出せず
6	30日弁当検食(ライチ)	検出せず
7	30日弁当検食(棒々鶏サラダ)	検出せず
8	31日弁当検食(酢豚)	検出せず
9	31日弁当検食(炒飯)	A群レンサ球菌 T25 speB
10	31日弁当検食(春巻き・とうもろこし)	A群レンサ球菌 T25 speB
11	31日弁当検食(かに玉・ポテト)	検出せず
12	31日弁当材料(かに玉)	検出せず
13	31日弁当材料(ポテト)	検出せず
14	31日検食(冷やしきしめん, のり)	A群レンサ球菌 T25 speB
15	31日検食(かきあげ)	検出せず
16	31日検食(いなり寿司)	検出せず
17	31日弁当残品(酢豚)	A群レンサ球菌 T25 speB
18	31日弁当残品(炒飯)	A群レンサ球菌 T25 speB
19	31日弁当残品(春巻き・とうもろこし・唐揚げ)	A群レンサ球菌 T25 speB
20	31日弁当残品(ぶどう)	検出せず
21	31日弁当残品(かに玉・ポテト)	A群レンサ球菌 T25 speB
22	調理施設拭き取り①	検出せず
23	調理施設拭き取り②	検出せず
24	調理施設拭き取り③	検出せず
25	調理施設拭き取り④	検出せず
26	調理施設拭き取り⑤	検出せず

表2 患者および調理従事者由来株のA群レンサ球菌型別結果

検体名	結果
患者由来株No.1	A群レンサ球菌 T25 speB
患者由来株No.2	A群レンサ球菌 T25 speB
患者由来株No.3	A群レンサ球菌 T25 speB
患者由来株No.4	A群レンサ球菌 T25 speB
患者由来株No.5	A群レンサ球菌 T25 speB
患者由来株No.6	A群レンサ球菌 T25 speB
患者由来株No.7	A群レンサ球菌 T25 speB
患者由来株No.8	A群レンサ球菌 T25 speB
調理従事者No.1	A群レンサ球菌 T25 speB
調理従事者No.2	A群レンサ球菌 T型別不能 speB
調理従事者No.3	A群レンサ球菌 T25 speB

注)PFGEパターンは全株ともに同一

考 察

今回の事例では、31日の検食および弁当残品7株、患者8株、調理従事者2株からA群レンサ球菌T25型発赤毒素speB遺伝子単独保有株が検出され、PFGEパターンも一致していた。疫学調査では患者は31日に配布された昼食の仕出し弁当を喫食しており、31日の仕出し弁当を原因とする大規模な集団感染事例であると判明した。調理従事者1名から検出された血清型別不能株についてもPFGEパターンの一致が確認されたが、T型別は菌体表面のタンパクについて型別を行うため、菌株の当該タンパク保有状況によっては型別が不能となる場合がある。今回、型別不能株とT25型は免疫学的手法である血清型別結果は異なったがPFGEパターンでは類縁または同一由来株であると推察された。しかし、A群レンサ球菌はPFGEパターンのバリエーションが比較的少ない菌種であるため今後ともデータを蓄積していくことが必要である。

A群レンサ球菌感染事例は、海外において多数報告されているが、我が国での集団感染例および食中毒事例は、本事例を含み2005年現在9例²⁾が報告されているにすぎない。A群レンサ球菌による集団感染事例において、食品、患者および調理従事者から血清型、発赤毒素型およびPFGEパターンの一致が確認できた事例は1998年の茨城の事例¹⁾に続き、本事例が2例目である。

食物を摂取することによって起こる食品媒介感染症はいわゆる食中毒と呼ばれ、急性胃腸炎等の消化器症状を主訴とするが、今回のような、胃腸炎以外の症状を呈する食中毒があることが再認識された。食品を介してA群レンサ球菌に感染した場合の臨床症状は、通常のA群溶血レンサ球菌感染症と何ら変わりがない咽頭痛、発熱、関節痛等である。消化器症状より呼吸器症状が顕著である本感染症は、小規模事例においては単なる風邪として見過ごされてしまう可能性も杞憂され、本感染症による集団発生報告が少ない要因であると推察される。

A群溶血レンサ球菌感染症は、飛沫感染を含め食品によっても媒介される感染症であることを認識し、集団風邪様症状の発生があった場合には、本菌食中毒も考慮し原因究明にあたる必要がある。

最後に、本事例解明のため検体搬入や情報提供いただきました相模原市保健所および衛生試験所の方々に深謝いたします。（平成18年7月20日受理）

文 献

- 1) 岸下雅通, 山崎伸二, 竹田美文: A群溶連菌の産生する発赤毒素遺伝子のPCRによる型別判定: 日本臨床, 50, 326-336(1992)
- 2) 溶血性レンサ球菌感染症2000~2004, 病原微生物検出情報, 25, 252-253(2004)