

# 黄色ブドウ球菌を原因とする食中毒事件の概要および 市販ソフトクリーム of 細菌汚染状況調査

## A Case of Food Poisoning caused by *Staphylococcus aureus* and Study on Contamination of Soft Serve ice cream

有田 富和 中居 真代  
宮崎 麻由 那須 務  
渡邊 節 沖村 容子  
Tomikazu ARITA, Masayo NAKAI  
Mayu MIYAZAKI, Tsutomu NASU  
Setsu WATANABE, Yoko OKIMURA

県内飲食店で発生した食中毒事件の原因を調査した結果、ソフトクリームから多量の黄色ブドウ球菌が検出された。この事件を受けて県内の飲食店で提供されているソフトクリームについて細菌学的調査を行ったところ、一般細菌数はいずれも基準値内であったが、大腸菌群は 26 検体中 5 件で陽性となり、黄色ブドウ球菌は増菌培養で 1 件が陽性となった。

キーワード：ソフトクリーム；黄色ブドウ球菌；大腸菌群；食中毒

Key words : soft serve ice cream ; *Staphylococcus aureus* ; coli form group bacteria ; food poisoning

### 1 はじめに

県内飲食店で食中毒事件が発生し、喫食した 6 グループ 13 名が嘔吐などの症状を呈し、一部は救急搬送される事態となった。調査の結果、原因は黄色ブドウ球菌に汚染されたソフトクリームであることが判明した。宮城県では大量に製造、販売されているアイスクリーム類については定期的に収去検査を実施しているが、黄色ブドウ球菌に関しては基準が定められておらず、検査を行っていない。また、飲食店等で提供されるソフトクリームについてはあまり収去検査の対象としてこなかった。

そこで今回の食中毒事件の検査結果について概説するとともに、県内飲食店で提供されているソフトクリームについて、保健所の協力のもと黄色ブドウ球菌を含めた細菌学的汚染の実態を調査したので報告する。

### 2 対象および検査方法

#### 2.1 対象

##### 2.1.1 食中毒検体

食中毒患者便、患者吐物、ソフトクリームを含む食品残品および従事者便を材料とした。

##### 2.1.2 汚染実態調査

県内の飲食店で提供されているソフトクリーム 26 件を今回の調査で検出された黄色ブドウ球菌 1 株、当該食中試料とした。

##### 2.1.3 薬剤感受性試験

毒事件で検出された黄色ブドウ球菌 1 株、過去の食中毒事件由来 8 株および食品収去検査で検出された 6 株、合

計 16 株の黄色ブドウ球菌を材料とした。

#### 2.2 方法

##### 2.2.1 食中毒原因菌検査

当センターの「食中毒検査業務管理要領」<sup>1)</sup>に従い食中毒検査を実施した。さらに食品残品については一般細菌数は標準寒天培地（栄研化学）、黄色ブドウ球菌は酵素基質培地 X-SA 培地（日水製薬）を用いた混積平板培養法で定量し、市販のキット（エンテロトックス F「生研」：デンカ生研）を用いてエンテロトキシン量の定量を行った。

##### 2.2.2 飲食店提供のソフトクリーム検査

一般細菌数の測定および大腸菌群の検出は、当センターで実施している食品収去検査の標準作業書記載の方法<sup>2)</sup>で実施した。概略を以下に示す。

検体を滅菌生理食塩水で段階希釈し、一般細菌数は標準寒天培地（栄研化学）を用いた混積平板培養法で出現集落数を計測した。大腸菌群の検出は 10 倍希釈液をデソキシコーレイト培地（栄研化学）に混積培養し、大腸菌群陽性となった検体は簡易同定キット（BBL クリスタル：日本 BD）を用いて菌種を同定した。

黄色ブドウ球菌の検査は 10 倍希釈液を卵黄加マンニット食塩培地（栄研化学）および X-SA 培地に直接塗抹すると同時に、5%NaCl 加 1%マンニットトリプトソイブイオン（自家調製以下 5ST）で増菌し上記 2 種の培地に塗抹した。陽性となった検体は簡易同定キットで菌種を再確認し、市販キット（SET-RPLA デンカ生研）を用いて毒素型別試験を実施した。

2.2.3 黄色ブドウ球菌の薬剤感受性試験

ドライプレート'栄研'(栄研化学)の記載の方法に従って薬剤感受性試験を実施した。

3 結果

3.1 食中毒菌検査

標準的な食中毒細菌検査を実施したところ、発症者の吐物とソフトクリームの残品より大量の黄色ブドウ球菌が検出された。ソフトクリームでは  $8.1 \times 10^8$  cfu/g の黄色ブドウ球菌が確認された。

検出された黄色ブドウ球菌はすべてがエンテロトキシンA・Bともに陽性でソフトクリーム残品から検出されたエンテロトキシン量はエンテロトキシンA型が 3.2ng/g, B型が 0.4ng/g であった。

黄色ブドウ球菌による食中毒は、菌によって産生される食品中に蓄積された耐熱性の毒素であるエンテロトキシンを摂取することによって引き起こされる。黄色ブドウ球菌食中毒は、以前は主要な食中毒原因菌であったが、近年では全細菌性食中毒に占める割合は数%と少なくなっていた<sup>3)</sup>。しかしながら、適切な温度管理や衛生管理がなされない場合は毒素が容易に蓄積し、戦後最大の食中毒事件である雪印事件のような大規模な事件に発展するケースもあることから、依然として重要な食中毒原因菌である<sup>4)</sup>。黄色ブドウ球菌食中毒の原因となる食品は、おにぎりや弁当などの穀類加工品や生クリームなど様々であるが、アイスクリームなどの低温で製造され冷凍保存される食品の場合、原料が既に多量の毒素によって汚染されている場合を除き、少量の菌混入があったとしても菌が増殖して嘔吐症状を示す程度まで毒素が産生、蓄積される可能性はきわめて低いと考えられる。

実際にこれまで報告されているアイスクリーム類を原因とする食中毒の大半は、汚染された鶏卵や生乳などを介した腸管出血性大腸菌やサルモネラ菌によるものであり<sup>5)6)</sup>、今回のように黄色ブドウ球菌が原因となった事例はきわめて稀である。

保健所の調査の結果<sup>7)</sup>によると、今回の事件はソフトクリーム製造装置の自動殺菌機能が故障したまま14日間運転を続けたことにより、黄色ブドウ球菌が増殖して毒素を産生したことが原因と推定された。当初はソフトクリーム提供数が多かったため、汚染ソフトクリームに新しいソフトクリームミックスが継ぎ足され、黄色ブドウ球菌が発症菌量に達することはなかったが、徐々に菌が増殖し、上記のようにソフトクリーム残品1gあたり8億個を超える黄色ブドウ球菌量となり、産生されたエンテロトキシン量も当該食品を数g~数十g摂食することで嘔吐を発症しうる濃度になったと推察される。

3.2 飲食店提供のソフトクリーム検査

黄色ブドウ球菌食中毒の潜在的リスクを明らかにする

ために県下で販売されているソフトクリームを対象とした調査を実施した結果(表1)、一般細菌数は全26件中22件が300cfu/g以下、4件が630~2,100cfu/gで、すべての検体が成分規格に定める基準(10万cfu/g以下)を大きく下回っており、温度管理は適切であることが推定された。

一方、大腸菌群は5件で陽性(違反)となり、分離された菌について簡易キットによる菌種同定を行ったところ、*Kluyvera ascorbata*, *Enterobacter sakazaki*, *E. cloacae*, *E. gergoviae*, *Aeromonas hydrophila*, *Klebsiella oxytoca*, *K. pneumoniae*, *Pantoea agglomerans*と同定された。約20%の製品で大腸菌群が陽性となったことから、原料由来あるいは製造工程で外界から大腸菌群が高い頻度で混入していることが示唆された。

表1 ソフトクリーム検査結果

No	大腸菌群	細菌数 (cfu/g)	黄色ブドウ球菌	
			直接塗抹	増菌培養
1	陰性	10	陰性	陰性
2	陰性	10	陰性	陰性
3	陰性	150	陰性	陰性
4	陰性	150	陰性	陰性
5	陰性	0	陰性	陰性
6	陽性	1,810	陰性	陰性
7	陰性	0	陰性	陰性
8	陽性	2,060	陰性	陰性
9	陽性	1,310	陰性	陰性
10	陰性	0	陰性	陰性
11	陰性	30	陰性	陰性
12	陰性	0	陰性	陰性
13	陽性	10	陰性	陰性
14	陽性	630	陰性	陰性
15	陰性	10	陰性	陰性
16	陰性	10	陰性	陰性
17	陰性	0	陰性	陰性
18	陰性	290	陰性	陰性
19	陰性	120	陰性	陰性
20	陰性	30	陰性	陽性
21	陰性	10	陰性	陰性
22	陰性	10	陰性	陰性
23	陰性	0	陰性	陰性
24	陰性	0	陰性	陰性
25	陰性	40	陰性	陰性
26	陰性	0	陰性	陰性

黄色ブドウ球菌は直接塗抹検査ではすべての検体で陰性であったが、5ST液体培地による増菌培養を試みたところ、1件から検出された。この他に5件からは*S. epidermidis*(表皮ブドウ球菌), *S. saprophyticus*, *S. haemolyticus*, *S. sciuri*が検出された。

これらの結果は、ソフトクリーム製造過程で微量の黄

色ブドウ球菌や表皮ブドウ球菌などの混入が生じていることを示すものである。

これらの製品は低温で適切に保管されれば健康被害に結びつく可能性は低いと思われるが、製造者に対しては原料の殺菌と製造装置の洗浄、冷凍状態の維持を徹底するよう啓発する必要があるものと思われた。

### 3.3 黄色ブドウ球菌の薬剤感受性試験

黄色ブドウ球菌は臨床的には院内感染の重要な原因菌でもあることから、今回の調査で検出された1株および過去の食中毒事件由来9株（食品由来7株、患者由来2株）、食品収去検査で分離された黄色ブドウ球菌6株についてドライプレートを用いた薬剤感受性試験を実施した。その結果、ABPC（アンピシリン）に耐性を示すものが4株（うち1株はEM（エリスロマイシン）にも耐性）が見つかったが、MPIPC（オキサシリン）に耐性を示す株はなく、MRSAのような临床上重要な薬剤耐性菌は認められなかった（表2）。

表2 黄色ブドウ球菌の薬剤感受性試験結果

由来	株数	耐性株数		
		MPIPC	ABPC	EM
飲食店のソフトクリーム	食品	1	0	0
食中毒	食品	7	0	2
食中毒	患者	2	0	1
収去検査	食品	6	0	1
計		16	0	4

## 4 まとめ

県内飲食店で発生した嘔吐を主訴とする食中毒事件の原因を調査した結果、飲食店で提供されたソフトクリームから8億個/gを超えるきわめて多量の黄色ブドウ球菌と同じく3.2ng/gのエンテロトキシンA、0.4ng/gのエンテロトキシンBを検出した。

この事件を受けて県内の飲食店で提供されているソフトクリームについて細菌学的調査を行ったところ、一般細菌数はいずれも基準値内であったが、大腸菌群は26検体中5件で陽性、黄色ブドウ球菌は増菌培養で1件が陽性となり、原料あるいは製造工程で汚染が生じていることが明らかとなり、原料の殺菌や製造工程での衛生・温度管理が重要であることが再認識された。

当センターで分離された黄色ブドウ球菌のうち16株について試験的に薬剤感受性試験を実施したところ、ABPC耐性3株、ABPC・EM耐性株1株を確認したが、临床上重要な薬剤耐性菌であるメチシリン耐性株（MRSA）は確認されなかった。

## 5 参考文献

- 1) 宮城県保健環境センター“宮城県保健環境センターにおける食中毒業務管理要領”平成18年7月4日(2006)
- 2) 宮城県保健環境センター“宮城県保健環境センターにおける食品等試験検査業務管理要領”平成17年2月24日(2005)
- 3) 病原微生物検出情報：22, 185-186(2001)
- 4) 病原微生物検出情報：22, 188-190(2001)
- 5) Seo K.H., Valentin-Bon I.E. and Brackett R.E : J Food Prot, 69, 639-643(2006)
- 6) De shrijver K., Buvens G., Posse B., Van den Branden D., Oosterlynck O., De Zutter L., Eilers K., Pierard D., Dierick K., Van Damme-Lombaerts R., Auwers C. and Jacobs R., Euro Surveill : 13, 8041(2008)
- 7) 宮城県環境生活部食と暮らしの安全推進課：平成22年宮城県食中毒事件録, 10-12(2010)