

アサマ
NEWS

パートナー

1989- 3 No. 9

食 品 衛 生 講 座

9. ナグビブリオとその食中毒

ヒトに病原性のあるビブリオ (*Vibrio*) は、今までコレラ菌と腸炎ビブリオの2菌種と考えられていたが、近年、研究の進むにつれ、このほかの数種類のビブリオの病原性が明らかにされてきた。ナグ (NAG) ビブリオは、伝染病菌として有名なコレラ菌 (*Vibrio cholerae*) の仲間である。コレラを引き起こすコレラ菌はO抗原 (菌体抗原) 群1に該当し (O1と呼ばれる)、その他の血清型群はナグビブリオとして区別されている。厚生省では昭和57年3月に、ナグビブリオなど7菌種を新たに食中毒細菌として指定したが、この際食中毒細菌とされたナグビブリオは、*V. cholerae non O1*、および *V. mimicus* の2菌種であった。

ナグビブリオによる下痢症は、わが国においては、インド、バングラデシュや東南アジアなどへの海外渡航者に散発的に認められていたが、昭和53年7月に長野県軽井沢町でマグロを推定原因食品とする食中毒が発生し、さらに昭和59年9月、高知県南国市の学校給食で132名 (摂食者395名、発病率33.4%) の患者を伴う集団食中毒が発生した。ナグビブリオのすべてが食中毒を起こすかどうかについては、現在のところ明確ではないが、本菌は海産魚介類に広く分布し、冷凍や冷蔵でも死滅しないので、生鮮魚介類の取り扱いには注意しなければならない。今回はナグビブリオとその食中毒について解説する。

ナグビブリオのプロフィール

コレラ菌の仲間は、ヒトの伝染病菌として有名なコレラ菌を中心とする一群の細菌で、多数の血清型に分けられ、コレラ菌はそれらの血清型1 (O1) に該当する。コレラ菌以外の血清型の菌はナグ (NAG) ビブリオと呼ばれる。NAGは“non-agglutinable” すなわち“凝集しない”の意味で、ナグビブリオはコレラ菌の抗血清 (O1) に凝集しないという通俗名である。しかし、ナグビブリオは分類上 *Vibrio cholerae* に含まれる一連の細菌で、ヒトの伝染病菌であるコレラ菌とは形態学的にも生化学的

にも区別ができない。現在コレラ菌の仲間は血清学的に83に分けられていて、すべてのナグビブリオがヒトに腸炎を引き起こすかどうかは明らかではないが、コレラ菌の作る一種の外毒素 (コレラエンテロトキシンまたはコレラ毒素といわれる) とよく似た激しい下痢を起こさせるものがあって、この毒素を産生する菌がヒトに食中毒を起こさせるものと考えられている。細かい菌の性状や分類上の問題は、専門的に過ぎるのでここでは省略する。



ナグビブリオの電顕写真

ナグビブリオの分布

ナグビブリオの生態はコレラ菌のそれと全く同じで、コレラ菌の存在するところには、必ずナグビブリオも居るといわれていて、コレラ菌を含め、*V. cholerae* は本来水生菌と見なされていて、コレラの流行地ではヒトのみでなくその生活環境、特に河川に常在している。これまで本菌はインドをはじめアジアのコレラの常在地の水や動物などの環境に広く分布することが知られていたが、最近ではアメリカやヨーロッパ諸国の環境にも広く分布していることが明らかになった。コレラ菌の分類学の権威である坂崎博士 (国立予研) によると、わが国では昭和40年頃までは全く検出されなかったが、最近日本各地の河川から容易に検出されるようになったという。そして、ナグビブリオは水だけでなく、カモ、カラスなどの鳥類の糞便、および魚介類からもしばしば分離されている。また東南アジアからの輸入冷凍魚介類 (イカ、タイ、アワビ、アカガイ、タコ、イイダコ、イセエビ、エビ類) におけるナグビブリオの汚染も高頻度に見られ、また市販の冷凍エビからの分離も稀でないといわれる。

このようにナグビブリオが、今までに居なかった場所や生物から検出されるようになったのは、近年の自然環境の汚濁の著しい進行と関係があるようで、このような環境下では、たとえコレラの発生はなくとも、ナグビブリオによる下痢症発生の恐れは十分に考えられよう。

表 1 生魚、海水、河川水におけるナグビブリオの分布

調査対象	Kodama ら ¹⁾ (1984)	平田 ら ²⁾ (1985)	中村 ら ³⁾ (1985)
生 魚	33.7 (%)	5.5* (%)	8.6 (%)
海 水	59.5		47.0**
河川水	24.0		

*生食用アジ
**河川水を含む

調査地域：Kodama らは富山県内、平田らは東京都内、中村らは川崎市

ナグビブリオによる食中毒事例

＜事例 1＞長野県軽井沢町で発生した事件

（１）事件の概要

昭和53年 7 月31日、長野県軽井沢町のある病院から所轄保健所に、国民宿舎の宿泊客12名を食中毒の疑いとして診断、治療中であるとの届け出があった。疫学調査から 7 月30日の夕食に原因があると疑いが持たれた。喫食者135名中18名が発病（発病率13.3%）、潜伏期は 4 時間30分～13時間（平均 8 時間30分）であった。患者の主な症状は、腹痛が全員に見られ、1～6 回の水様性下痢17名、37.1～37.8℃の発熱12名、1～5 回の嘔吐 9 名、悪寒 7 名で、12名が臥床したという。

（２）原因食品と病因物質（中毒原因菌）

135名の 7 月30日夕食の献立は、マグロの刺し身、中華風酢の物、マスのムニエル、ゆでそば、ローストチキン、カニコロッケ、スパゲティ、漬物などであったが、マスターテーブルといわれる原因食品の解析手段（ワンポイント・レッスン参照）では原因食品を推定することができなかった。いずれの検査材料からも腸炎ビブリオやサルモネラなど既知の食中毒細菌は検出されなかったが、患者 9 名中 8 名の糞便と、7 月30日夕食の刺し身およびローストチキンから、ナグビブリオ（血清型 O 6）が検出された。各種検査材料からのナグビブリオの検出状況をまとめたものを表 2 に示した。

表 2 軽井沢の事例における各種検査材料からのナグビブリオの検出状況

検 査 材 料	検体数	ナグビブリオ陽性数	既 知 食中毒原因菌
患 者 糞 便	9	8	陰 性
食品(7月30日夕食)	7	2	陰 性
調 理 器 具	2	0	陰 性
従 業 員 糞 便	32	0	陰 性
河 川 水・底 泥	26	0	陰 性

(昭和53年、厚生省食品衛生課編、食中毒事件録より引用)

刺し身は、7 月29日に K 商店から購入したマグロを冷凍室に保管し、30日午前中に解凍、午後に調理、盛り付けを行い、調理から喫食まで約 3 時間室温（調理室内平均気温32℃）に放置されていたという。

施設従業員についての調査では、全員健康状態に異常はなく、海外渡航経験者もいなかった。以上のことから本事例の汚染源は刺し身であると推定された。分離菌の生化学的性状は同一で、生物型はすべてⅡ型であり、血清型は V. *cholerae* の O 6 であった。

（３）事件発生の原因と事後措置

本事件は、わが国で初めてのナグビブリオによる集団下痢症となったものである。本事件の発生原因は、大量調理時の食品衛生管理の欠如によるものであることは言うまでもないが、この事件で教訓となったのは、ナグビブリオが冷凍および冷蔵条件下でも生存可能なことが明らかにされたことで、生鮮魚介類の取り扱いにおける衛生対策に対し、1 つの問題を提起したことになる。これらの点について、施設の営業停止処分、および保健所から従業員への教育・指導が行われた。

＜事例 2＞高知県南国市の学校給食で発生した事件

（１）事件の概要

昭和59年 9 月 3 日から 5 日にかけて、高知県南国市 H 小学校の給食を受けた395名（うち教職員21名）のうち132名の児童および 4 名の教職員が、腹痛、下痢を主症状とする食中毒にかかった。患者は、表 3 に示したように 1 年から 6 年まですべての学年で発生したが、高学年ほど発病率が高くなる傾向が見られた。

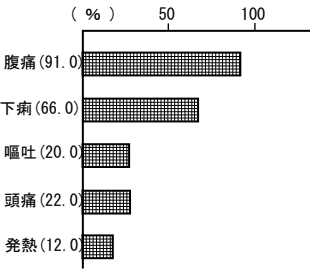
日別の患者の発生状況および潜伏期について見ると、第 1 日目の調査時には123名の有症者がいたが、第 2 日目には77名が回復している。第 3 日目には、有症者20名（15%）であり、第 5 日目まで有症者が認められた。平均潜伏期は11時間であったが、8 時間（3 日午後 7～8 時）のところに第 1 のピークがあり、その後18時間（4 日午後 6 時）に第 2 のピークが見られた。患者の症状をまとめたのが図 1 であって、これから分かるように、腹痛、下痢が主症状であるが、嘔吐、頭痛、および発熱も認められた。患者は比較的軽い経過で 2～3 日で回復している。

表 3 学年別患者発生状況

学 年	喫食者	発病者	発病率(%)
1	52	14	26.9
2	49	10	20.4
3	45	12	26.6
4	80	30	37.5
5	73	25	34.2
6	75	37	49.3
教職員	21	4	19.0
男	187	58	31.0
女	208	74	35.5
計	395	132	33.4

(昭和59年、厚生省食品保健課編、食中毒事件録より引用)

図 1 患者の症状



(昭和59年、厚生省食品保健課編、食中毒事件録)

（２）原因食品と病因物質（病因菌）

原因食品の調査の結果、共通食品は 9 月 3 日の給食だけであって、その内容別の摂取状況（マスターテーブル）を表 4 に示した。当日南国市では、患者発生があった H 校を含む10校とも同一の献立で、原材料の入手は、めん、トマト、キュウリを除き、焼き豚、ハム、錦糸卵、シイタケおよびたれは同一業者から仕入れたものである。なお、めんは H 校を含む 4 校が同一業者のものを使用し、他の 6 校は別の業者から仕入れた。

学童および教職員の有症者40名のうち35名の糞便および給食の冷めんからナグビブリオが検出された。また調

理従事者4名のうち、有症者1名からも同菌が検出された。35名から検出されたナグビブリオの血清型はO2であった。また冷めんおよび調理従事者由来の血清型もO2であった。

表4 給食の内容別摂取状況（マスターテーブル）

食 品	発 病 者				非 発 病 者			
	食べた	食 べ ない	不明	喫食率	食べた	食 べ ない	不明	喫食率
パ ン	122	0		100	246	0		100
牛 乳	121	1		99	243	3		99
梨	117	5		96	237	9		96
冷 麺	122	0		100	240	6		98

χ^2 テスト 牛乳 0.03 冷麺 1.7
(昭和59年、厚生省食品保健課編、食中毒事件録より引用)

（3）事件発生の原因と問題点

現地保健所の調査によると、H校の給食施設における調理過程では原材料の加熱、調理器具などの洗浄・消毒などは一応よく実行されていたというが、H校においては、ゆでめん、焼き豚、ハムについては加熱処理を行わずに提供しているのに対し、市内の他の小学校では、いずれも、めんは熱湯処理を施し、焼き豚やハムは蒸したり、炒めたり、熱湯処理をするなど一応加熱処理をしてから提供していた。

本給食ではナグビブリオ汚染の可能性のある魚介類は使用されておらず、またこれらに接触した器具も認められなかった。一方、冷めん業者の施設の拭き取り検査ではナグビブリオは検出されなかった。この事件で一番気にかかるのは調理従事者の検便結果で、有症者1名から菌が検出されたことである。事件から9日後の検査で、最初非検出の健康者から菌が検出されたが、16日後の検査では同菌は検出されなかったという。この事件の汚染経路は不明ということであったが、調理従事者が保菌者であった可能性は否定しきれないように思われてならない。

この事件に対し、県の衛生当局は、9月4日から8日までの5日間、給食施設の使用停止処分を行ったほか、施設の清掃、消毒の立ち会い指導および同市内学校給食従事者の食品衛生講習会の開催、納入業者に対する衛生指導を実施した。

ワンポイント・レッスン

食中毒の原因食品の究明とマスターテーブル

食中毒の発生時には、その原因食品、病因物質、汚染経路や汚染源等の調査が行われる。病因物質の検索には細菌学的あるいは化学的・毒物学的手法が駆使されるが、その前提として疫学的方法による原因食品の推定が行われるのが普通である。原因食品を調べるには、マスターテーブルと言って、発病に関連性があると思われる個々の食品について、食べたか食べなかったかを発病者・非発病者に分けて表を作り、各食品について、患者の喫食率と非発病者の喫食率の間で差のあるものに注目し、両群の発病率について統計的に有

意差があるかどうかを調べ、原因食品推定の補助とする。有意差の検定には一般に χ^2 （カイ二乗）検定法を用いる。しかし、このような推計学的な推定結果だけで原因食品を断定するわけにはいかない。患者からの材料（下痢便、吐物、血液など）や疑わしい食品や調理器具、材料、水、その他の検体についての検査成績と合わせて、原因食品の解明が行われるのである。

表4には、南国市の学校給食で発生したナグビブリオ食中毒における原因食品の究明のため作成したマスターテーブルを示した。

文 献 1) H.Kodama et al., Microbiol. Immunol.,

28 (3), 311 (1984)

2) 平田二郎ほか：都衛研年報、36、47 (1985)

3) 中村武雄ほか：厚生科学研究報告 (1985)

(河端俊治：国立予防衛生研究所食品衛生部客員研究員・農学博士)

食品添加物 ミニ講座

食品と微生物 最近の海外における研究から(その2)

食品の加熱殺菌の概要についてはアサミニュースNo. 5にすでに述べておいたところであるが、世界各国で多量に生産消費されている牛乳の加熱殺菌の具体的な例として、最近(1988年)発表された研究のうちから2つほど紹介しよう。

牛乳の加熱殺菌

牛乳の加熱殺菌法には低温殺菌[62～65℃に30分間保持する低温長時間 low temperature long time (LTLTと略記) 殺菌]、高温殺菌[70～75℃に15秒間保持後急冷する高温短時間 high temperature short time (HTSTと略記) 殺菌]、超高温殺菌[120～150℃で1～3秒間処理後急冷する超高温 ultra high temperature (UHTと略記) 殺菌]などがあるが、直接飲用に供する牛乳の品質は処理温度によって左右されるので、高温殺菌よりは低温殺菌の方が好ましいのであるが、殺菌効果から見れば高温殺菌の方がより確実であることは言うまでもない。因みにわが国の食品衛生法によれば飲用市販牛乳の微生物学的基準として、生菌数が<5万/mlで大腸菌群は陰性であることとなっている。

さて、最初に紹介する報告¹⁾では加熱温度が50～70℃であるのでどちらかと言えばLTLT殺菌タイプに近い例である。供試菌には毒素産生性の腸球菌 *Streptococcus faecium*とその変種の*S.faecium var zymogenes*ならびに無毒性の*S.faecalis var liquefaciens*を使用している。これらの供試菌を50～70℃で5～50分間加熱処理した結果、有毒性の*S.faecium*だけが70℃でも耐熱性を示し、無毒性の供試菌は耐熱性が最も低かったというLTLT型殺菌法の中では歓迎されない結果が得られた実験例である。しかし、前述したように一般に低温殺菌は有害微

生物の生残を許す可能性は高いが品質に及ぼす影響は少なく、逆に高温殺菌は殺菌効果は高いが品質に及ぼす影響が大きいなどそれぞれが利害得失を有しているため、単に菌数を少なくすることとか、製品の品質保持をより重視するなど一面的な考え方からではなく、工場環境汚染の事情や製品の所要貯蔵限界日数などを考慮した上で、より適当な殺菌方法を生産者自らが選択することが必要であるということを示唆する研究例として捉えたいものである。

次に紹介する例は牛乳の加熱方法が通常の蒸気や熱水ではなく電子レンジによる加熱方法で、その殺菌効果をHTST殺菌とLTLT殺菌にシミュレートして検討した研究例²⁾である。表1を見て戴きたい。供試菌のうちネズミ

表1 牛乳のHTST殺菌にシミュレートした電子レンジ(700W)加熱殺菌の実験条件とその結果²⁾ (抜粋)

供試菌	試験番号	供試牛乳容量(?)	加熱時間(秒)	加熱終了後の保持時間(秒)	菌の発生所要日数(日)	生菌数(CFU/ml)
ネズミチフス菌 (<i>Salmonella typhimurium</i>)	1	76	60	15	3	極めて少数
		76	60	15	10	
	3	76	60	15	0	
		76	60	15	15 (不発生)	
大腸菌 (<i>Escherichia coli</i>)	5	76	65	15	10	
	6	76	65	15	0	
	7	76	60	15	15 (不発生)	
		76	60	15	15 (不発生)	
シュードモナス フルオレッセンス (<i>Pseudomonas fluorescens</i>)	8	76	65	15	0	
	9	76	65	15	6	
		76	65	15	10	
シュードモナス フルオレッセンス30 (<i>Pseudomonas fluorescens</i> 30)	10	76	60	15	15 (不発生)	
	11	125	80	20	10	10 ¹
				20	20	
				20	15	
	12	125	80	15	11	10 ⁸

注：乳量76mlの場合の加熱時間60秒では最高温度は72.8℃、65秒では78.6℃にそれぞれ相当。125mlの場合の加熱時間80秒では最高温度は75.2℃に相当。その他の実験条件は本文参照。

チフス菌は食中毒性サルモネラの代表菌種であり、大腸菌は食品汚染指標菌としてよく知られているものである。シュードモナス（プソイドモナス）はタンパク質や脂肪を低温でも分解する性質がある腐敗性の細菌として知られているものであるが、特に*Ps.fluorescens* 30は他のシュードモナス属菌種に比べて冷蔵中の食品に有害なものとして重視されている。

さて、試料番号1～10までは初温が4.4℃の少量（76ml）の牛乳に各供試菌を接種して700Wの電子レンジで60～65秒間加熱し、さらに振盪して15秒間そのまま保持した後急冷し、6℃前後の低温で貯蔵したものである。表1から明らかのように同一種の菌種、同一の加熱条件で処理した場合であっても、加熱殺菌効果にかなりのバラツキがあることが菌の発生所要日数を見ればよく理解できよう。例えばサルモネラでは菌が検出された牛乳は

加熱処理当日（0日、ただし1平板当たりの発生集落数はわずかに1個に過ぎなかったが）のものから10日間貯蔵のものまでにわたっており、さらに試験番号4では15日間の貯蔵後でも試料乳から菌が検出されなかった例もあるという具合である。このような結果は大腸菌、シュードモナスでも認められている。

ところが、試験番号11～12のようにもっと大量（125ml）の汚染牛乳を前期の処理温度付近（最高温度75.2℃相当）で加熱した場合は菌の発生所要日数は比較的安定して変動幅も小さくなるが、ここで注目したいことは加熱後の保持時間を20秒へとわずか5秒間延長しただけで菌の発生時の菌数に大きな差が認められたことである。表1の生菌数の欄に示されているように加熱後の保持時間が15秒間では10⁸ CFU/mlであるが、20秒間の場合は10¹ CFU/mlというように1ml当たりの菌集落形成数が10⁷（つまり1ml当たり1,000万個）も少なくなったというのである。その数値は別としても滅菌菌の効果そのものは信用できよう。以上の結果から、Knutsonらは電子レンジ加熱によるHTST殺菌では食品中における熱分布が不均一であるため局部的に殺菌温度に達しない部分が生じ、従って菌の生残を許すことになったものと推察している。

そこで、電子レンジによるHTST殺菌は技術上に難点があることから、もっと加熱時間の長いLTLT殺菌のシミュレーション実験を同様に電子レンジ加熱により検討したが、HTST殺菌の場合と同じく殺菌効果にバラツキが見られ、常法の熱水、湿熱加熱によるLTLT殺菌と同等の殺菌効果が得られなかったと言っている。このように電子レンジ加熱は簡易迅速な方法ではあるが、殺菌効果については極めて顕著な場合もあるが、ほとんど無効の場合もあるなど効果に不確実な点があるので、さらに研究すべき余地があると結論される。

以上の2例から分かるように、一般に加熱処理は殺菌効果が高いとされながらも適用した方法にはそれぞれ長所と短所があるので、各製造業者は生産しようとする加熱処理製品に求められる成分規格に適合した方法を、自らが検証して各製造工場の事情に合った自信のある方法で製造することが必要であるということを改めて認識してほしいものである。

文 献

- 1) V. K. Batishら：J. Food Sci., 53 (2)、665～668 (1988)
 - 2) K. M. Knutsonら：J. Food Protection, 51 (9)、715～719 (1988)
- (笹島正秋：元水産庁東海区水産研究所保蔵部長)

アサマ化成株式会社

E-mail : asm@asama-chemical.co.jp
http://www.asama-chemical.co.jp

・本社	〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町20-3	TEL (03) 3661-6282	FAX (03) 3661-6285
・大阪営業所	〒532-0011 大阪市淀川区西中島5-6-13 御幸ビル	TEL (06) 6305-2854	FAX (06) 6305-2889
・東京アサマ化成	〒103-0001 東京都中央区日本橋小伝馬町16-5	TEL (03) 3666-5841	FAX (03) 3667-6854
・中部アサマ化成	〒453-0063 名古屋市中村区東宿町2-28-1	TEL (052) 413-4020	FAX (052) 419-2830
・九州アサマ化成	〒811-1311 福岡市南区横手2-32-11	TEL (092) 582-5295	FAX (092) 582-5304
・桜陽化成	〒006-1815 札幌市手稲区前田五条9-8-18	TEL (011) 683-5052	FAX (011) 694-3061