

図3：2001-2005年に報告があった加盟国のテーブル卵中の *Salmonella* (EFSA The Community Summary Report 2005, *The EFSA Journal* (2006), 94、p38 から引用)

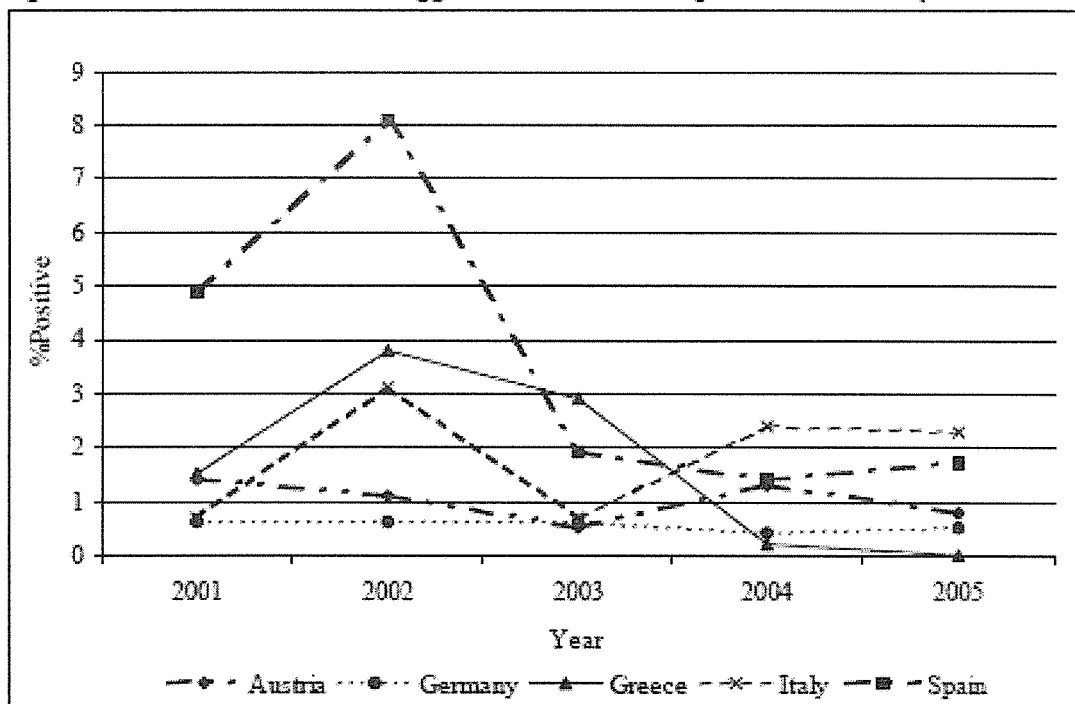


図4：市販ブロイラー肉中の *Campylobacter* 汚染率；2001-2005年

(EFSA The Community Summary Report 2005, *The EFSA Journal* (2006), 94、p89 から引用)

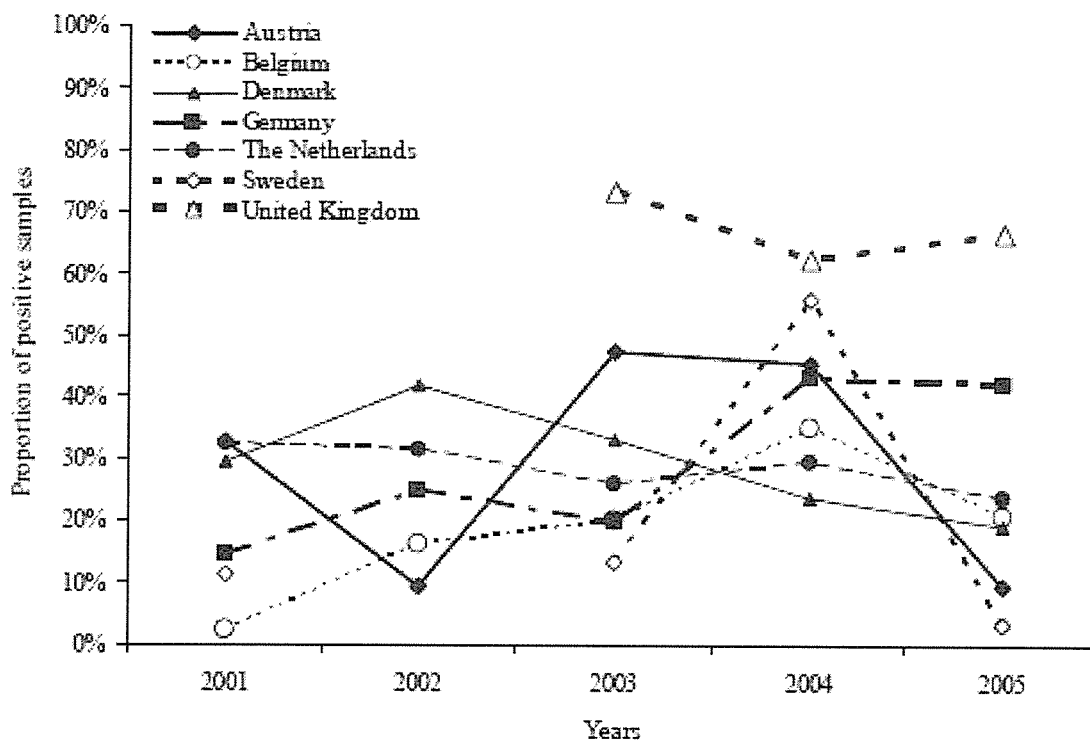


図 5 : 食品カテゴリー毎の *Listeria monocytogenes* の検体数及び陽性検体数、2005 年
 (EFSA The Community Summary Report 2005, *The EFSA Journal* (2006), 94、
 p110 から引用)

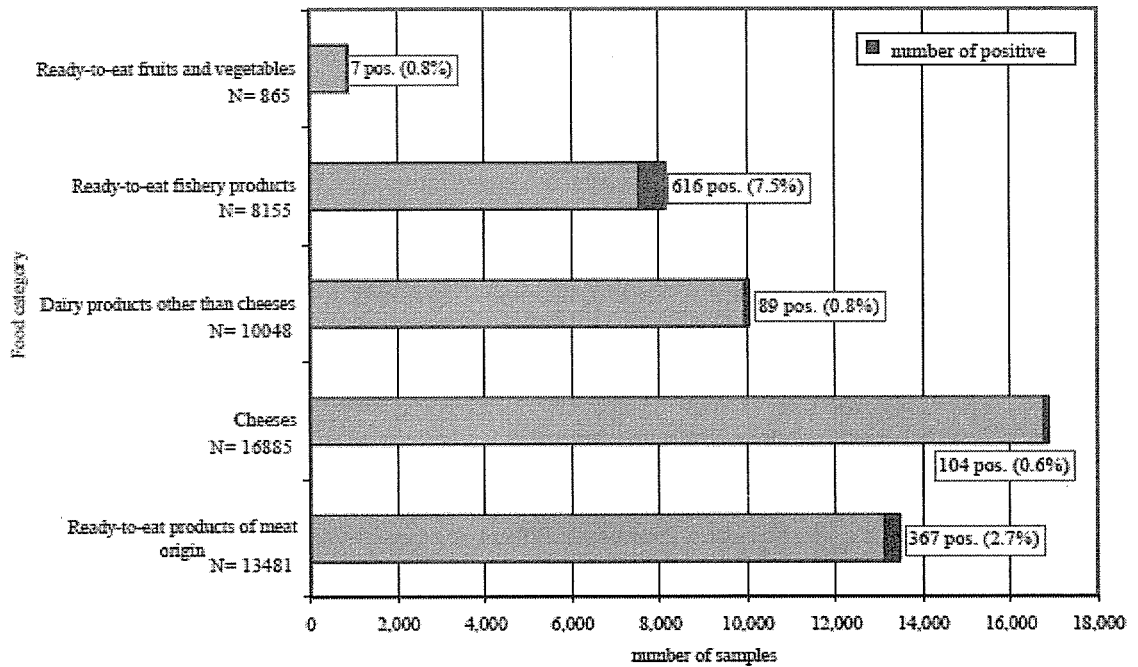


図6：食品カテゴリー毎のVTECの検体数及び陽性検体数、2005年
 (EFSA The Community Summary Report 2005, *The EFSA Journal* (2006), 94, p125 から引用)

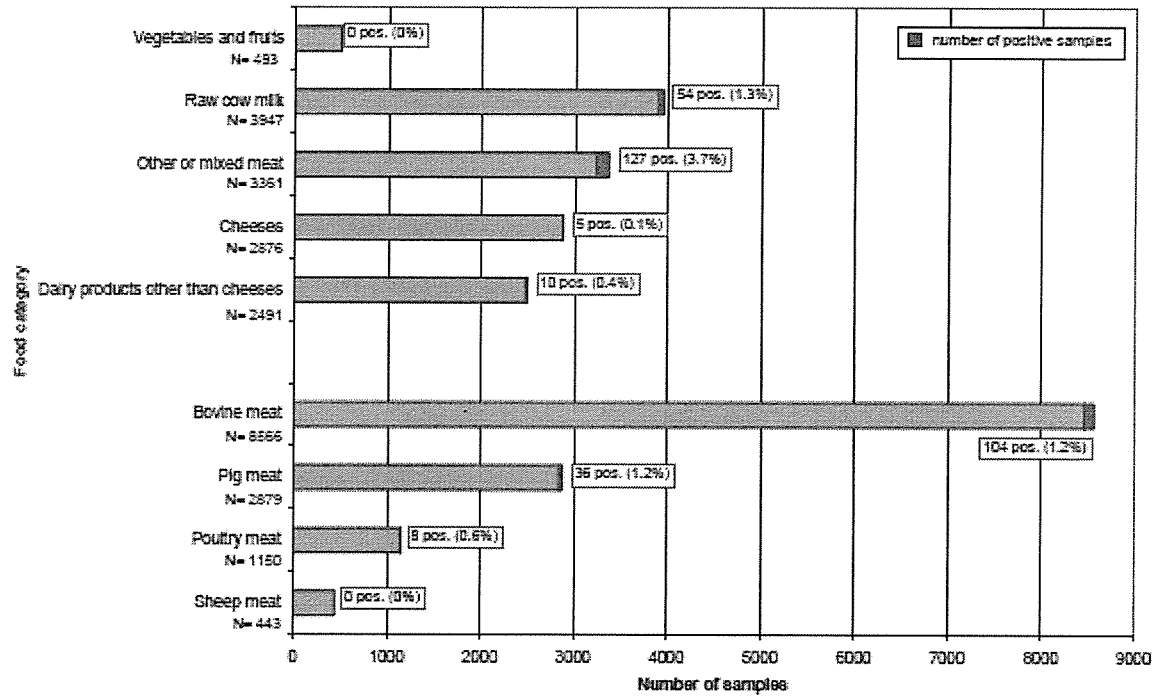


図7：加盟国毎の産卵鶏における *Salmonella* spp.の罹患率とその95%信頼区間、EU加盟国及びノルウェー、2004-5

Figure 2. *Salmonella* spp. holding observed prevalence 95% confidence intervals, for EU Member States, for the E and for Norway, 2004 – 2005 (clean dataset)

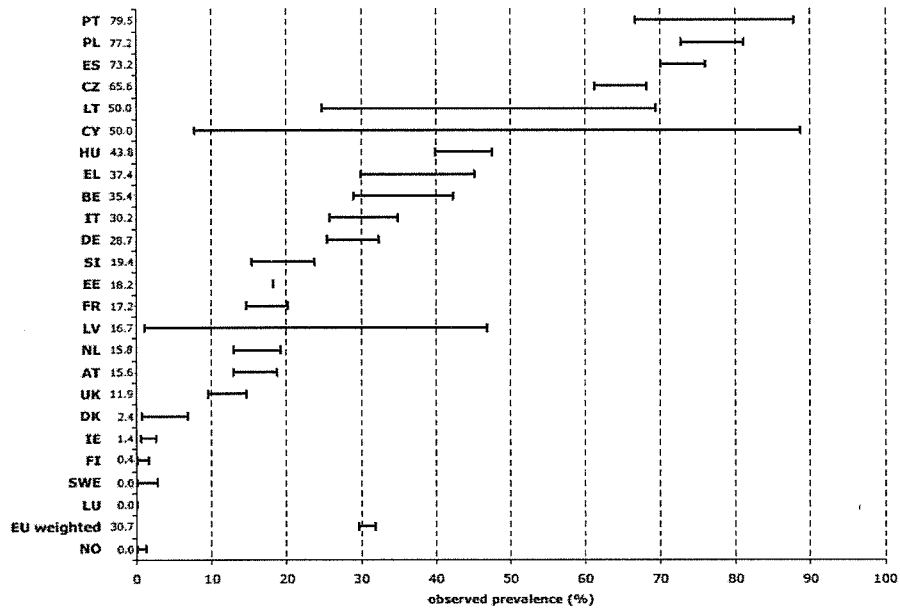
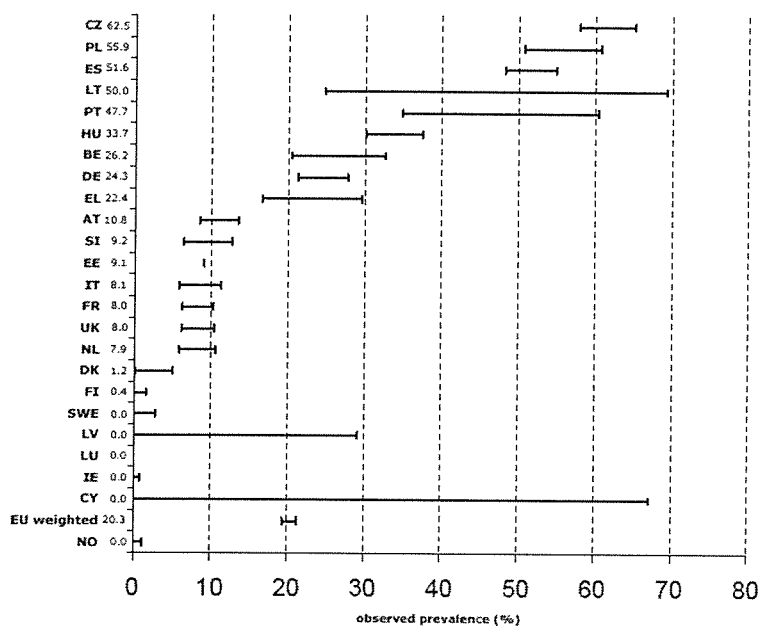


図8：加盟国毎の産卵鶏における *Salmonella* Enteritidis/Typhimurium の罹患率とその95%信頼区間、EU加盟国及びノルウェー、2004-5

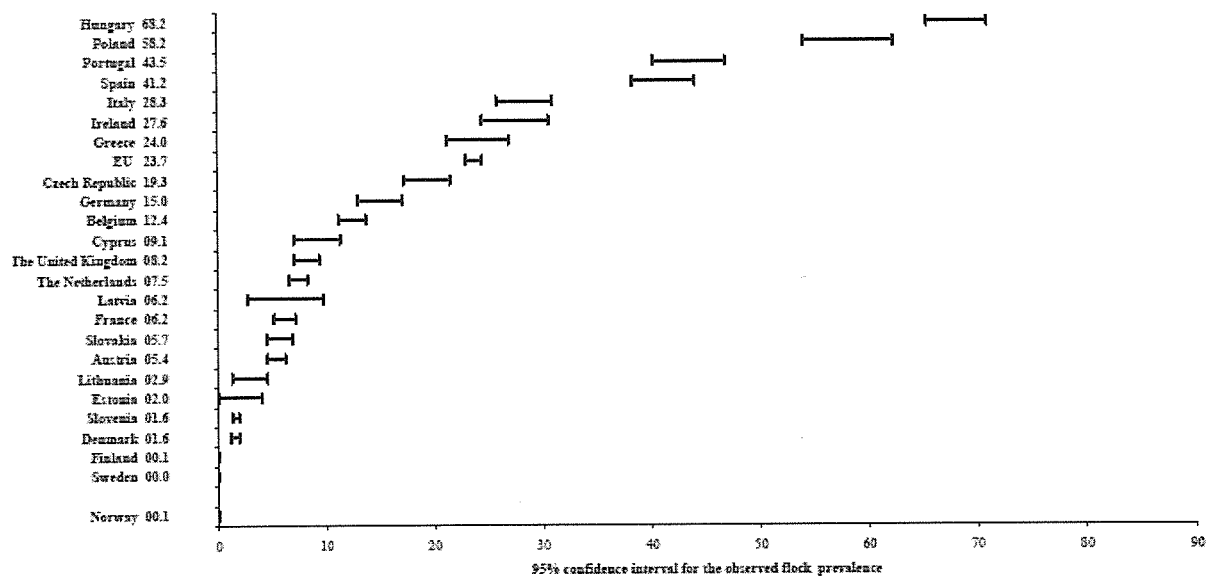
Figure 3. *Salmonella* Enteritidis / Typhimurium holding observed prevalence 95% confidence intervals, for EU Member States, for the EU and for Norway, 2004 - 2005 (clean dataset)



http://www.efsa.eu.int/science/monitoring_zoonoses/reports/1541/zdc_salmonella_noteto_premreport2.pdf

http://www.efsa.eu.int/science/monitoring_zoonoses/reports/1541/zdc_salmonella_report_ej81_layinghens_en1.pdf から引用

図9：加盟国毎のブロイラー鶏における *Salmonella* spp. の罹患率とその95%信頼区間、EU加盟国及びノルウェー、2005-6、 Report of the Task Force on Zoonoses Data Collection on the Analysis of the baseline survey on the prevalence of *Salmonella* in broiler flocks of *Gallus gallus*, Part A, *The EFSA Journal* (2007) 98, 1-85. p16から引用



平成18年度厚生労働科学研究費補助金
食品の安心・安全確保推進研究事業

分担研究報告書

2. 食品における赤痢菌検出法の標準化と感度の向上

分担研究者 武士甲一
研究協力者 牧野壮一、南 敦嘉、川本恵子、
Manus Chongsa-nguan、Wanpen Chaicumpa

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心安全確保推進研究事業）

輸入食品における食中毒菌サーベイランス及び
モニタリングシステム構築に関する研究（H18-食品-一般-015）

畜水産食品におけるサルモネラ属菌、
腸管出血性大腸菌、腸炎ビブリオの汚染実態調査について

分担研究者 武士甲一

国立大学法人帯広畜産大学・畜産学部・教授

研究協力者；

牧野壮一（国立大学法人帯広畜産大学・大動物特殊疾病研究センター・教授）

南 敦嘉（国立大学法人帯広畜産大学・大動物特殊疾病研究センター・研究員）

川本恵子（国立大学法人帯広畜産大学・大動物特殊疾病研究センター・助教授）

Dr. Manus Chongsa-nguan（タイ国 Mahidol 大学 Faculty of Tropical Medicine）

Dr. Wanpen Chaicumpa（タイ国 Thammasat 大学 Faculty of Allied Health Sciences）

研究要旨：食品の国際的流通が進展する現在、わが国は東南アジアから多種・多様の食品や食材を輸入している。そのため、輸入食品の汚染実態を詳細に検討し、輸入食品を介した食中毒の発生を未然に防止することは、急務の課題であると考えられる。しかし、国内で流通する輸入食品の食中毒菌による汚染実態を総合的にモニタリングするシステムが確立されておらず、その汚染実態は正確に把握されていないのが実情である。輸入食品については、輸出国での汚染実態を把握すると共に、わが国に輸入された後においても、その汚染実態をモニタリングすることは、輸入食品を介した食中毒を未然に防止する上で重要である。

本課題では、①海外で生産される食品の食中毒菌による汚染実態を把握するモニタリングシステムの確立、②輸入畜水産食品における食中毒菌による汚染実態を調査し、分離菌株の血清型及び遺伝子型ならびに病原因子の解析などを通じて、輸入食品を介した食中毒の発生防止対策を構築することを目的とした。

初年度においては、輸入食品の汚染実態の把握及び海外渡航者への的確な情報提供を行うことを目的として、タイ国内で流通する食品の汚染実態調査を現地で行った。その結果、サルモネラ属菌による汚染率が極めて高く、特に鶏肉で高率であることが判明した。また、牛肉、豚肉、エビなどの畜水産食品についても、わが国で生産される畜水産食品よりも汚染率が高い傾向にあったので、当該食品の製造、流通、販売においては、より厳しい衛生管理体制を構築することが必要である。

A. 研究目的

現在、わが国は東南アジア諸国から多種・多様の食品や食材を輸入している。これら東南アジア諸国においては、食中毒菌及びトリインフルエンザなどの新興再興感

染症の原因となる病原体、そして農薬の残留など、種々の病因物質によって食品が汚染されることが多く、輸入食品を介してこれらの病因物質がわが国に持ち込まれる可能性がますます高くなってきている。さ

らに、海外渡航者の増加に伴って、いわゆる輸入感染症の国内への持ち込みも増加傾向にある。そのため、食品汚染の実態や輸入感染症の発生状況を詳細に検討し、輸入食品を介した感染症や食中毒の発生を未然に防止する対策が必要である。

しかし、現状ではわが国で生産される食品の国内流通において、食中毒菌による汚染を総合的に把握するためのモニタリングシステムは系統立てて行われておらず、その汚染実態は正確に把握されていないのが実情である。輸入食品においても同様に、輸出国での食品の汚染実態把握に加え、輸入された後の食品における汚染実態をモニタリングすることは、食中毒予防対策を構築する上で重要である。今回の研究においては、輸入食品及び国産食品における食中毒菌のモニタリングシステムを構築し、このシステムを用いて統一したデータ解析を行うことを目的とした。

本課題においては、①海外における食品中の食中毒菌のモニタリング調査、および②輸入畜産・水産食品におけるサルモネラ属菌、腸管出血性大腸菌O157、腸炎ビブリオなどの食中毒菌による汚染実態を調査し、分離菌株の血清型と遺伝子型及び病原因子の解析などを通じて分離株相互の異同を検討し、輸入食品を介した食中毒の発生防止対策を構築する基礎とする。

初年度においては、輸入食品の汚染実態を把握すると共に、海外渡航者への的確な情報提供を行うことを目的として、タイ国内で流通する畜水産食品の食中毒菌による汚染実態を現地調査した。

B. 研究方法

1. 試料の採取方法および試料数

タイ国バンコク市周辺の Thalad Thai, Thalad Bangkan, Eam Sombat, Pattanakhan の一般市場および Big C Future Park supermarket, Carrefour, JUSCO タイプのスーパーマーケットから鶏肉、牛肉、豚肉、エビ、カキを購入して調査試料とした。調査期間は、2006年6月より2007年1月までの7ヶ月間とした。試料の総数は226検

体で、その内訳は鶏肉34検体、牛肉71検体、豚肉30検体、エビ43検体、カキ48検体であった。サルモネラ属菌については、鶏肉、豚肉、エビの全検体と牛肉29検体の計136検体を用いた。腸管出血性大腸菌O157については、鶏肉、豚肉、牛肉の全検体、計135検体を用いた。腸炎ビブリオについては、カキの全検体とエビの3検体の計51検体を用いた。エビについては主に腸炎ビブリオの検出を目的としたが、淡水で養殖されている種類であったので、試料数を減らした(表1)。

2. 食中毒菌検出方法

① サルモネラ属菌

厚生労働省の通知(衛乳第54号)にしたがって試料量を25gとし、一次及び二次増菌後、DHL寒天培地およびクロモアガー・サルモネラで菌分離を試みた。確認培地により分離株をスクリーニングした後、サルモネラと推定された株についてはサルモネラ免疫血清(デンカ生研)を用い、スライド凝集反応によりO群を推定した。なお、二次増菌液については、エンテロトキシン遺伝子を標的とする遺伝子増幅法(PCR)により、サルモネラのスクリーニング試験を行った。

② 腸管出血性大腸菌(EHEC)O157

厚生労働省の通知(食安監発第1102006号)にしたがって試料量を25gとし、mTSB培地で増菌後、直接あるいは免疫磁気ビーズ処理後にCT-SMAC寒天培地およびクロモアガー・O157 TAMに培養して菌分離を試みた。分離株については、確認培地によりスクリーニング試験を行い、EHEC O157を疑う株については病原大腸菌免疫血清(デンカ生研)を用い、スライド凝集反応によりO群を推定した。なお、増菌液については、志賀毒素遺伝子を標的とするPCR法により、EHEC O157のスクリーニング試験を行った。

③ 腸炎ビブリオ

厚生労働省からの通知(食基発第22号)に準じて試料量を25gとし、滅菌リン酸緩衝液を加えて10倍乳剤とした。乳剤10mlを90mlのアルカリペプトン水

(3%NaCl 加) に接種して増菌培養を行い、次いで TCBS 寒天培地およびクロモアガー・ビブリオを用いて菌分離を試みた。確認培地により分離株をスクリーニングした後、腸炎ビブリオを疑う分離株については腸炎ビブリオ型別用免疫血清（デンカ生研）を用い、スライド凝集反応により K 混合血清のいずれに凝集するかを確認した。なお、増菌液については、耐熱性溶血毒遺伝子を標的とする PCR 法により、腸炎ビブリオのスクリーニング試験を行った。

3. PCR 法

上記 3 菌種に対する特異的プライマーセットを表 2 に示した。PCR の条件は 94°C 4 分の後、94°C 30 秒（デネーチャー）、52°C 30 秒（アニーリング）、72°C 30 秒（伸長）の反応を 30 サイクル繰り返し、最終的に 72°C 10 分間加熱した。増幅反応終了後、反応液の一部を採取してアガロースゲル電気泳動を行い、バンドの有無とそのサイズを確認した。

C. 研究結果

1. 菌株の分離

サルモネラ属菌、EHEC O157、腸炎ビブリオの検出結果を表 1 に示す。

① サルモネラ属菌

サルモネラ属菌は 133 検体中 32 検体 (24.0%) から分離された。また、オープンマーケット及びスーパーマーケット（図 1 参照）における分離率の違いについては、オープンマーケットにおいて分離率がより高いことが明らかになった（表 3）。試料の違いによる分離率については、鶏肉が最も高く、次いで豚肉、エビ、牛肉の順であった（表 4）。これらの分離株の O 抗原を調べた結果、32 株中 31 株が O 多価血清に陽性で、O4 群、O7 群及び O8 群が多く検出され（表 3）、特に鶏肉においては O7 群が多く検出された。

② EHEC O157

EHEC O157 については 134 検体中、牛肉の 1 検体から分離され（表 1）、牛肉全体では 1.4% の検出率であった。

③ 腸炎ビブリオ

腸炎ビブリオは 51 検体中 14 検体（検出率 27.6%）から分離された（表 1）。しかし、今回は耐熱性溶血毒遺伝子の存在は確認していないので、その病原性については判定は行っていない。

2. 分離頻度の比較

本研究で分離された細菌について、海外の文献に基づく分離成績と比較した。その結果、サルモネラ属菌及び EHEC O157 については、文献による検出率とほぼ同程度であった（表 4）。

D. 考察

本研究においてサルモネラの分離頻度は非常に高く、現地で流通する食肉にサルモネラ属菌による高度な汚染が広がっていることを確認した。サルモネラ属菌の食肉汚染については、世界各地で増加傾向にあることが確認されている。今回の調査でマーケットの様式の違いにより、分離頻度には差が認められた。食品衛生管理が良好であるといわれているオープンマーケット（図 4）においては、通常のスーパーマーケットに比べ、サルモネラ属菌による汚染率がより高いことが明らかになった。分離株の血清型については、O 群についてのみ実施したが、H 抗原を含めより詳細に血清型を検討し、わが国で分離される血清型との状況を比較する必要がある。同時に遺伝子型及び病原性因子についても詳細に検討し、タイ国とわが国で分離される株の特性をさらに検討する必要がある。また、エビからもサルモネラ属菌が高頻度に分離されており、これはバックヤードにおける二次汚染の可能性も高く、マーケットにおける衛生管理について検討する必要があると考えられた。

EHEC O157 の分離頻度は低く、わが国における状況と大きな差異は認められなかった。分離された 1 株の志賀毒素の産生能についてはまだ調べていないが、血清型 O

157に限定せず、志賀毒素産生性大腸菌のカテゴリーで調査すると、さらに高頻度で分離できる可能性がある。

腸炎ビブリオの分離頻度は、カキにおいて高率であった。このうち数株調べた結果、TDH 遺伝子を保有しなかったことから、ヒトへの直接の毒性は低いと考えられた。しかし、タイ国内で流通している食材は汚染の頻度が高いため、渡航者に対するリスクは、わが国において国産のカキを摂食する場合のリスクよりも高いと推察される。タイ国における水産食品の腸炎ビブリオによる汚染頻度が、わが国への輸入食品の汚染の状況を反映するならば、輸入水産食品のモニタリング試験を行って、わが国における輸入水産食品を介した腸炎ビブリオ食中毒の発生を未然に防止する必要があると考える。

E. 結論

本研究では、輸入食品の汚染実態を把握すると共に、海外渡航者への的確な情報提供を行うことを目的として、タイ国内で流通する畜水産食品の食中毒菌による汚染実態を現地で調査した。その結果、タイ国内で流通する畜水産食品のサルモネラ属菌による汚染率が高く、特に鶏肉で高率であること、しかもその汚染率は牛肉、豚肉、淡水産エビを含め、わが国における汚染率よりも著しく高いことが判明した。このためタイ国内においては、食品の製造、流通、販売においてより厳しい衛生管理体制を整える必要があると考えられた。

今回の調査結果は、次年度以降に実施する輸入食品の種類及び検出対象となる病原体の種類等を考察する上で、有益な情報となると考えられた。

F. 健康危険情報

特に無い。

G. 研究発表

1) 小熊恵二，武士甲一，中野宏幸，2006

第5章 病原細菌 「ボツリヌス菌—毒素と 食中毒」，熊谷 進ら監修，科学は食のリスクをどこまで減らせるか—食の安全科学—，(株)エヌ・ティー・エス，東京， 19:143-153.

2) 武士甲一，木村浩一，小熊恵二，2006. ボツリヌス 症，山口恵三ら監修，日本臨床臨時増刊号15巻3 号—新感染症下巻—，(株)日本臨床，東京

in press

3) Y. Sassa, D. Fukui, K. Takeshi, T. Miyazawa. 2006. Neutralization Antibodies against feline Parvoviruses in nondomestic felids Inoculated with commercial Inactivated Polyvalent Vaccines. J.Vet.Med.Sci.,68(11): 1195-1198.

H. 特許出願状況

特にない

表 1. 調査に供した試料と食中毒菌の検出状況 (2006. 6～2007. 1)

食品の種類	陽性試料数／調査試料数 (%)			
	サルモネラ属菌	EHEC O157	腸炎ビブリオ	合計
鶏肉	16/34 (47.1%)	0/34 (0.0%)	—	34
牛肉	8/29 (27.6%)	1/71 (1.4%)	—	71
豚肉	2/30 (6.7%)	0/30 (0.0%)	—	30
エビ	8/40 (20.0%)	—	0/3 (0.0%)	43
カキ	—	—	14/48 (29.2%)	48
合計	32/133 (24.0%)	1/135 (0.7%)	14/51 (29.2%)	226

表 2. PCR反応に用いたプライマーオリゴヌクレオチド

病原体	プライマーセット	産物のサイズ	標的遺伝子
サルモネラ属菌	Stn-101, Stn-111	260 bp	エンテロトキシン
EHEC O157	stx common (up/down)	518 bp	志賀毒素
腸炎ビブリオ	tdh-1, tdh-2	251 bp	耐熱性溶血毒

表 3. マーケットの販売様式の違いによる病原体の分離率

病原体	オープンマーケット (%)				平均 (%)	スーパーマーケット (%)			平均 (%)
	BK	TT	ES	PT		BC	JS	CR	
サルモネラ属菌	100 n=4	26.6 n=60	—	—	31.3 n=64	66.7 n=9	20.0 n=40	0.0 n=20	28.9 n=69
EHEC O157	0.0 n=4	0.0 n=40	8.3 n=12	0.0 n=12	1.4 n=68	0.0 n=9	0.0 n=58	—	0.0 n=57
腸炎ビブリオ	—	32.6 n=43	—	—	32.6 n=43	0.0 n=5	—	—	0.0 n=5

表 4. 本調査における分離率の比較

病原体	分離率	
	タイ国	文献 ¹⁾
サルモネラ属菌	25.5%	0.4-45.6
EHEC O157	0.7%	0.3 ²⁾

¹⁾USDA 2005, Australia 2000, Denmark 2000

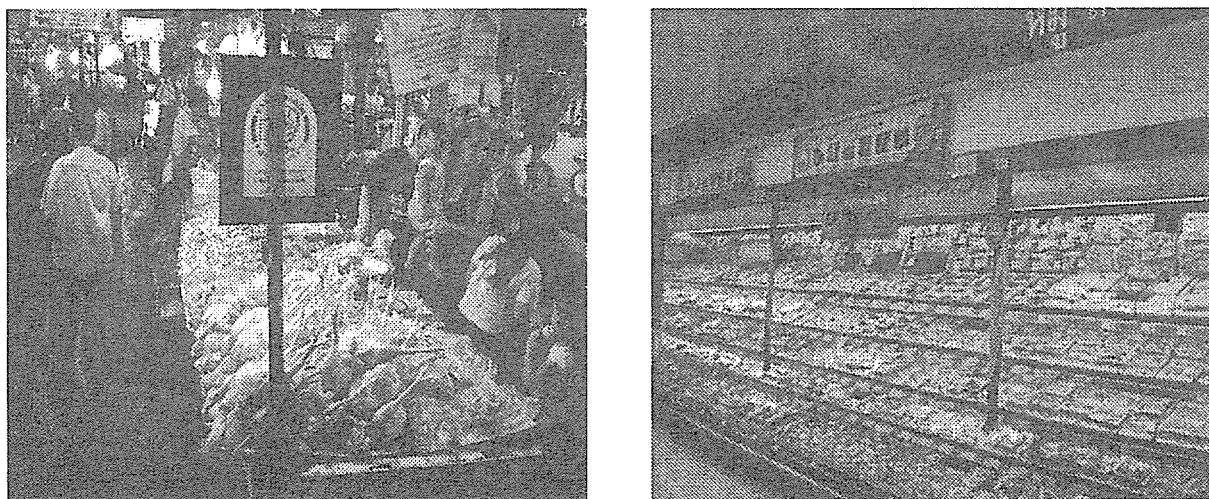


図1. タイ国スーパーマーケットでの販売形態
(左側：オープンマーケット、右側：一般のスーパーマーケット)

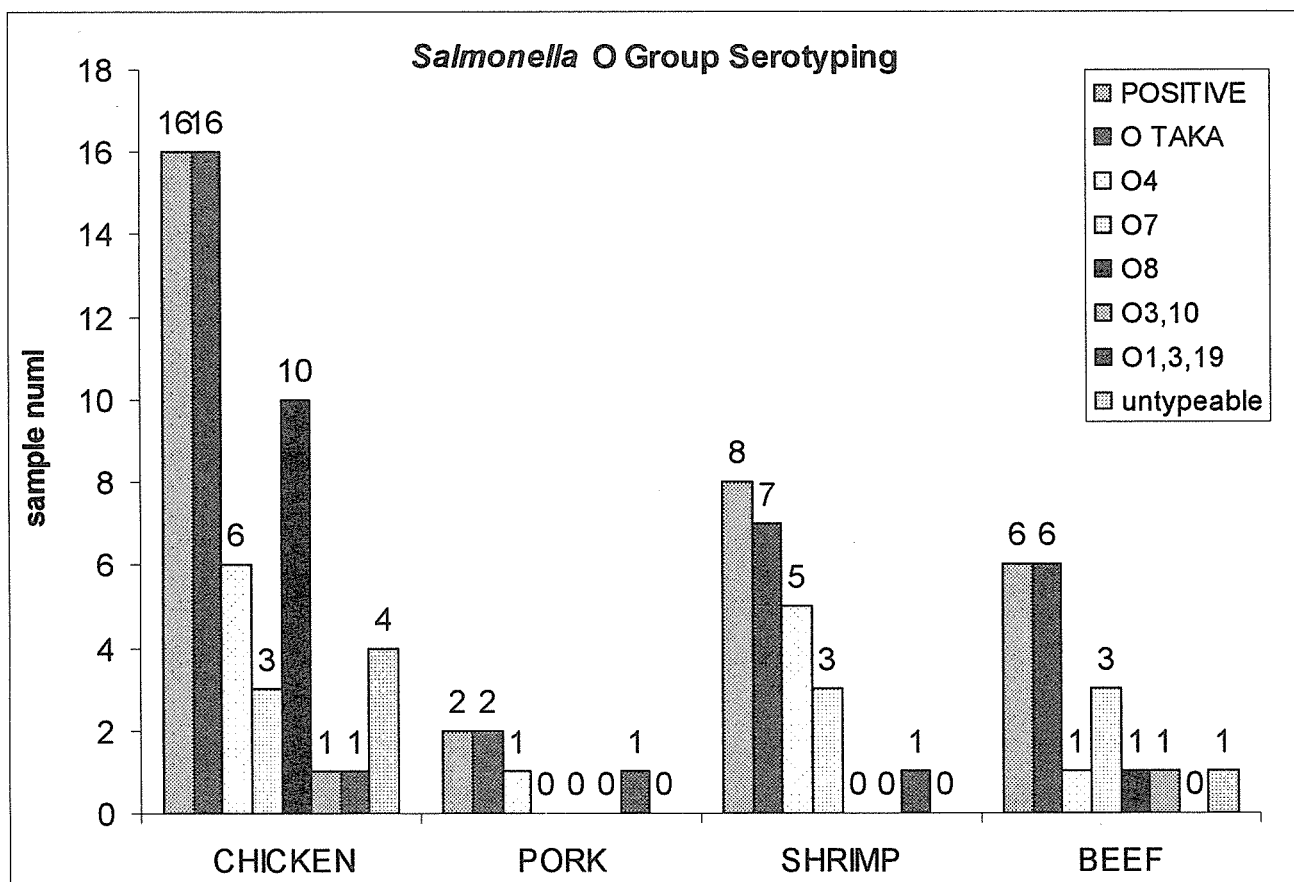


図2. タイ国の畜水産食品からのサルモネラ属菌の分離状況

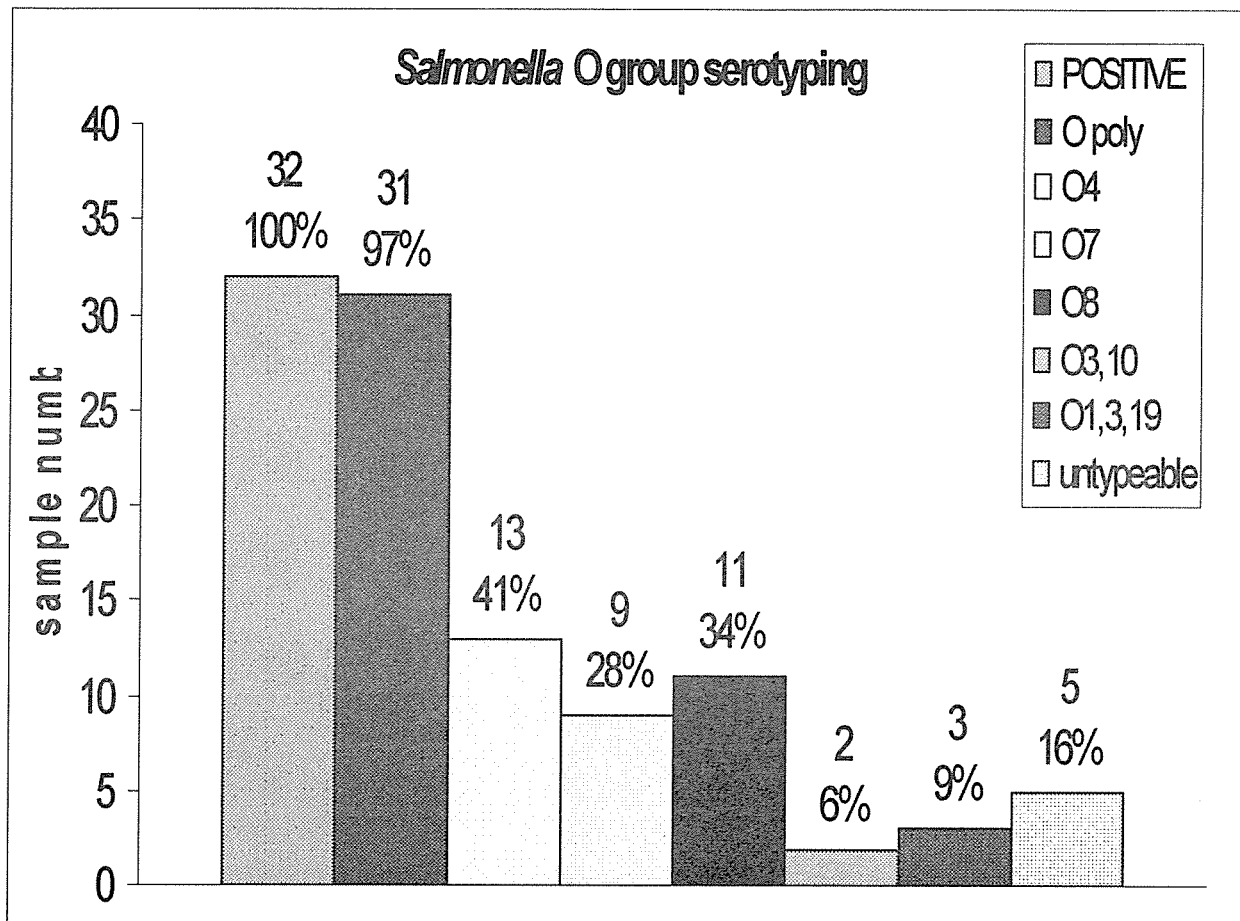


図 3. 畜水産食品から分離されたサルモネラ属菌の血清型の分布

平成18年度厚生労働科学研究費補助金
食品の安心・安全確保推進研究事業

分担研究報告書

3. 東南アジアにおける *Salmonella*、*Campylobacter*、腸管出血性大腸菌、*Listeria* 等の発生・分布状況およびタイのヒトおよび家禽から分離される *Campylobacter* の特徴

分担研究者 森田幸雄

研究協力者 Sumalee Boonmar、Pawin Padungtod、
Leelaowadee Snagsuk、Karun Suthivarakom

藤田雅弘、加藤正彦、小澤邦壽、壁谷英則、丸山総一、木村博一

分担研究報告書

輸入食品における食中毒菌サーベイランス及びモニタリングシステム構築に関する研究
分担研究項目: 東南アジアにおける *Salmonella*、*Campylobacter*、腸管出血性大腸菌、*Listeria* 等の発生・分布状況およびタイのヒトおよび家禽から分離される *Campylobacter* の特徴

研究協力者 Sumalee BOONMAR	タイ:カセサート大学
Pawin PADUNGTOD	タイ:チェンマイ大学
Leelaowadee SANGSUK Karun SUTHIVARAKOM	タイ:国立感染症研究所
藤田雅弘 加藤政彦 小澤邦壽	群馬県衛生環境研究所
壁谷英則 丸山総一	日本大学
木村博一	国立感染症研究所
分担研究者 森田幸雄	群馬県衛生環境研究所

研究要旨

タイ・インドネシア・フィリピン・中国等のアジア諸国の研究者において論文として英語記載され国際的に公表されている食中毒発生状況や菌保有状況について情報入手したところ、アジア諸国では公表されている食中毒に関する論文は少ないとともに、健康人の食中毒菌保菌率も高いことが判明した。さらに、タイにおいてヒトおよび鶏から分離された *Campylobacter jejuni* の血清型、薬剤感受性および *gyrA* の遺伝子変異を調査したところ、タイで分離される *C. jejuni* のうち、ヒト由来株の 51% (36/70) は 10 の Penner 血清型(血清型 B、C、R、E、G、A、K、D、I および L) に、家禽由来株の 68% (47/69) は 9 の血清型(血清型 A、C、I、K、D、E、S、D および L) にそれぞれ型別された。また、ヒト由来株のナリジクス酸、シプロフロキサシン、アンピシリン、テトラサイクリン、エリスロマイシンに対する耐性株の比率は、96%、96%、29%、57% および 14%、家禽由来株のそれは 77%、77%、22%、26% および 17% だった。ヒトや家禽由来のキノロン系薬剤耐性株はすべて *gyrA* 遺伝子変異(T₈₆→I₈₆)株であり、タイではこの *gyrA* 遺伝子変異(T₈₆→I₈₆)のキノロン系薬剤耐性株が広く分布していることが判明した。東南アジアから食品を輸入する際には、輸入国の衛生状態を把握するとともに、食品加工場従業員の健康状況把握を確実に実施することが必要であると思われた。また、特に肉製品については高度キノロン系薬剤耐性菌の出現状況に注意をする必要があると思われた。

A. 研究目的

国内流通食品における食中毒菌の汚染を総合的に把握するためのモニタリングは系統立てて行われていないため、正確に把握されていない状況にある。輸入食品においても同様で輸出国での食品の汚染実態把握に加え、輸入された後の食品における食中毒菌の汚染実態をモニタ

リングすることは食中毒予防対策上重要である。

輸入食品および国内流通食品における食中毒菌のモニタリングシステムを構築するため、平成 18 年度は、タイ・インドネシア・フィリピン・中国等の大量な食品を原材料として、さらに加工食品として日本に輸出しているこれらのアジア諸国の衛生状況について、これらの国々の研究者によ

り公表している論文等から情報を入手した。

さらに、タイとの共同研究(タイ国立感染症研究所、国立カセサート大学、国立チェンマイ大学)として、タイ国内のヒト下痢症患者および鶏糞便から分離された *Campylobacter jejuni* について血清型、薬剤感受性およびニューキノロン系薬剤耐性に対して重要な要因となる *gyrA* 遺伝子変異について現地調査を実施した。

B. 研究方法

1. アジア諸国の衛生状態情報の入手

タイ、ベトナム、フィリピン、中国、インドネシア、マレーシア、バングラディッシュ、ラオス等の衛生状況調査は Pub Med (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=PubMed>) および JDream II (<http://pr.jst.go.jp/jdream2/index.html>) による文献検索ならびに現地の研究者の協力等により、論文や公的な報告会等で公表されているものを入手した。

2. タイとの共同研究による *C. jejuni* の血清型、薬剤感受性、遺伝子多形性解析および *gyrA* 遺伝子変異調査

タイの 2001~2004 年にヒト下痢症患者の糞便 224 検体、血液 15 検体および養鶏場の鶏 100 検体から分離した、ヒト由来 70 株ならびに鶏由来 69 株の *C. jejuni* について Penner 血清型、薬剤感受性、遺伝子多形性解析および *gyrA* 遺伝子変異を調査した。

Penner の血清型別：市販血清型別キット(デンカ生研)を用いて実施した。

薬剤感受性試験：National Committee on Clinical Laboratory Standards (NCCLS)法により実施し、対象薬剤はナリジクス酸(NA)、シプロフロキサシン(CPFX)、アンピシリン(ABPC)、テトラサイクリン(TC)、エリスロマイシン(EM)であり、薬剤のブレイクポイントはそれぞれ ≥ 32 mg/L、 ≥ 4

mg/L、 ≥ 32 mg/L、 ≥ 16 mg/L、 ≥ 8 mg/L とした。

遺伝子多形性解析：Random Amplified polymorphic DNA(RAPD)- PCR (Hernandez ら:1995)の方法を用いた。

gyrA 遺伝子変異分析：*gyrA* 遺伝子領域を増幅するプライマー(Cjg-F および Cjg-R)を新たに作成し、本領域を増幅の後に、Dye Terminator 法(Applied Biosystem 社製)により当該遺伝子を読み取り、遺伝子の変異を確認した。

C. 研究結果

1. アジア諸国の衛生状態情報

Pub-Med(H19年3月1日現在)における検索項目ごとの文献数を表 1-1 に、各国の患者、動物、食肉からの *Salmonella*、*Campylobacter*、腸管出血性大腸菌(STEC または O157) の分離率のまとめを表 1-2 に示した。

菌種では *Listeria*、*Campylobacter*、腸管出血性大腸菌に関する研究論文が少なく、また、調査国ではベトナム、フィリピン、インドネシア、マレーシア、バングラディッシュ、ラオスにおける調査報告が少ないことが判明した。また、ベトナム、インドネシア、バングラディッシュでは *Salmonella* の文献のうち、*S. Typhi* に関するものが約半数を占めていた。

タイ：比較的調査論文がそろっていた。

Salmonella および *Campylobacter* の市販食肉での検出率が高く、*Salmonella* は豚肉の 29-65%、鶏肉の 57-75%が、*Campylobacter* は豚肉の 23%、鶏肉の 47%が汚染されていた。STEC の牛の保菌率は 2-19%であった。また、下痢症患者のうち *Salmonella* が分離された患者は 7-18%、*Campylobacter* が分離された患者は 28%であった。健康人の 5-36%が *Salmonella* を、4%が *Campylobacter* を保菌していた。

ベトナム：*Salmonella* の論文の半数が *S.*

Typhiに関するものであった。*Salmonella* および *Campylobacter* の市販食肉での検出率が、*Salmonella* は牛肉の 49%、豚肉の 70%、鶏肉の 8-49%が、*Campylobacter* は鶏肉の 28-31%が汚染されていた。STEC の牛の保菌率は 8%であった。Isenbergar ら (2002)はタイとベトナムで分離された *Campylobacter*、*Salmonella* 等の抗生物質に対する感受性を比較したところ、タイではキノロン系およびマクロライド系抗生物質の高度耐性菌が年々増加しており、その背景を調査する必要があるとしていた。

フィリピン:動物・食肉からの分離報告はきわめて少なく、6%の鶏・あひる肉から *Salmonella* が検出された報告があるにすぎない。下痢症患者からは *Salmonella* は 8-12%、*Campylobacter* は 3-4%検出されている。一方、下痢症状を呈していないヒトでは *Salmonella* は 5-8%、*Campylobacter* は 1-2%の検出率であり、有意差は無かった ($p>0.01$)。また、下痢症子供由来 *Salmonella* はフルオロキノロン耐性が高いとする報告もみうけられた (Olsen ら:2001)。

中国:*Salmonella* や *Campylobacter* の動物や食肉からの報告は少なく、*Salmonella* は豚枝肉の 55%から、*Campylobacter* は 3%から検出された報告があるにすぎない。下痢症患者からは *Salmonella* は 11-45%、*Campylobacter* は 5-12%、ST 産性 O157 は 3%検出されている。また、Chen ら (1995)は健康な子供の 5%が *Campylobacter* を保菌しているという報告をしていた。1988 年に STECO157 による感染症が Xu ら (1990)により報告されて以来、O157 は患者をはじめとして、牛、羊、鶏等さまざまな動物から分離されている。牛の保菌率は 2%、牛肉および豚肉の汚染率は、それぞれ 5%、1%であると報告されている。

Listeria については National Institute for Nutrition and Food Safety によりサーベイラ

ンスが実施されておりランダムにサンプリングされた食品(4,034 検体)の 1.74%から *L. monocytogenes* を分離している (Fu ら:1999)。

インドネシア:*Salmonella* や *Campylobacter* の動物や食肉からの報告はきわめて少ない。下痢症患者から *Salmonella* は 26%、*Campylobacter* は 2-10%検出されている。マレーシア:*Salmonella* や *Campylobacter* の動物や食肉からの報告は少なく、*Salmonella* は鶏の 14%から、鶏肉の 36-50%から検出された報告があるにすぎない。36%の牛肉から STEC が分離されている。また、*Listeria* 属菌および *L. monocytogenes* は Wet Market においてそれぞれ、輸入冷凍牛肉の 74%、65%、国産牛肉の 44%、30%、発酵魚の 56%、12%から分離されている。しかし、スーパーマーケットの輸入冷凍牛肉からは *Listeria* 属菌は分離できないことから、これらの汚染は Wet Market における二次汚染が原因と考えられている (Hassan ら:2001)。2%の生野菜から *Listeria* 属菌が分離され、そのうち *L. monocytogenes* はレタス、sengkuang、selom の野菜から検出されている。

バングラディッシュ:動物や食肉に関する調査はほとんど実施されていないが、入院患者についての原因物質調査が実施されている。下痢症患者から *Salmonella* は <1-17%、*Campylobacter* は 5%検出されている。バングラディッシュでは *Vibrio cholerae* O1 や O139、赤痢が下痢症患者から頻りに検出されている。腸管出血性大腸菌や *Listeria* に関する報告はない。

ラオス:動物や食肉に関する調査はほとんど実施されていない。下痢症患者から *Salmonella* は 1%、*Campylobacter* は 3-4%、EHEC は 0.1%検出されている。また、ラオスでは赤痢が下痢症患者から 7-17%検出されている。腸管出血性大腸菌や *Listeria* に関す

る報告はない。

2. タイとの共同研究による *C. jejuni* の血清型、薬剤感受性、遺伝子多型性解析および *gyrA* 遺伝子変異調査

C. jejuni はヒト下痢症患者便の 31% (69/224) から、同患者の血液の 1% (1/15) から、そして鶏のスワブの 69% (69/100) から分離された。ヒト由来株の 51% (36/70) は 10 の Penner 血清型 (血清型 B、C、R、E、G、A、K、D、I および L) に、家禽由来株の 68% (47/69) は 9 の血清型 (血清型 A、C、I、K、D、E、S、D および L) にそれぞれ型別された (表 2-1)。

ヒト由来株の NA、CPFX、ABPC、TC、EM に対する耐性株の比率は 96%、96%、29%、57%、14% で、家禽由来株のそれは 77%、77%、22%、26%、17% であった (表 2-2)。CPFX 耐性株は NA においても耐性を示していた。NA、CPFX、TC 耐性を示したヒト由来株数は、家禽由来数と比較し有意に高かった ($p < 0.01$)。

表 2-3 に分離 *C. jejuni* の抗生物質耐性パターンを示す。ヒト由来株はいずれかの供試抗生物質に耐性を示したが、家禽由来株は耐性がないものが 11 株存在した。ヒト由来株は 7 種の耐性パターンを示し、最も多かったパターンは NA-CPFX-TC (22 株) で、ついで NA-CPFX (20 株)、NA-CPFX-ABPC-TC (10 株)、NA-CPFX-ABPC (5 株)、NA-CPFX-EM (5 株)、NA-CPFX-ABPC-TC-EM (5 株)、TC のみ (3 株) であった。家禽由来株は種の耐性を示し、最も多かったパターンは NA-CPFX (26 株)、ついで NA-CPFX-EM (8 株)、NA-CPFX-ABPC-TC (7 株)、TC のみ (5 株)、NA-CPFX-ABPC (4 株)、NA-CPFX-TC (4 株)、NA-CPFX-ABPC-EM (2 株)、NA-CPFX-ABPC-TC-EM (2 株) であった。

NA-CPFX 耐性については、NA と CPFX が同じキノロン系の抗生物質であるため、多剤耐性としえない場合、多剤耐性株は家禽由来株に比べて、ヒト由来株が多く出現していた。

血清型と薬剤耐性が同じ、ヒトと家禽由来株について RAPD-PCR を実施したところ、図 2-1 に示すとおり、同じ遺伝子型を示した株は存在しなかった。

GyrA 遺伝子型は、H₈₁(CAC)-T₈₆ (ACA)、H₈₁(CAT)-T₈₆(ACA)、H₈₁ (CAC)-I₈₆ (ATA)、H₈₁(CAT)-I₈₆ (ATA) の 4 型が存在した。*gyrA* 遺伝子の Thr-86 コドンにおいて、イソロイシンに変異した株はすべて NA と CPFX 薬剤に耐性を示していた。タイの株では Ala-70 と Asp-90 コドンの変異は認められなかった。

D. 考察

1. アジア諸国の衛生状態情報

アジア地域の公衆衛生および食品衛生に関する研究報告は少なく、また、これらの国々では *Salmonella* や *Campylobacter* 等の食中毒菌の他に感染症のチフス、赤痢、コレラ等の感染症の発生が公衆衛生学的に重要な課題であることが確認された。とくに、熱帯地域ではチフスの発生が深刻であり、ベトナム・バンラディシュでは *Salmonella* に関する論文の半数近くが *S. Typhi* に関するものであった。

タイやベトナムは、他のアジア諸国と比べて動物や食肉からの食中毒菌の検索が行われている。調査報告のある国における食肉の *Salmonella* の汚染率は高く、その国の気温やコールドチェーンの普及等を考えると、食品衛生学的に極めて深刻な問題と思われる。

下痢症患者から分離される病原体は国によってやや異なり、中国では腸管出血性大腸菌感染例が 1988 年より報告され、疫学報告も頻繁に行われている。ラオスでは赤痢、バン