

況を検索した。

2. 積極的疫学調査

(1)九州・山口地区での積極的疫学調査

昨年に引き続き、赤痢を中心にコレラ、腸チフス・パラチフスの国内事例について九州・山口県の19自治体で積極的疫学調査を行った。標準喫食調査票等の見直しを行った。感染研と九州・山口感染症対策プロジェクト事務局で前日に打合せをおこない、それを受けて九州・山口県内の全19自治体の感染症担当者と第1回目の会議で標準調査票を使用した調査の方法を練り、9月25日から調査を開始した。12月にまとめの会議を行ったが、この期間中には同地区で国内発生例がなかったため、今後の対応について参考にするため、標準調査票やパンフレットの意見と2類感染症が発生した時の対応状況、腸管出血性大腸菌が発生した時の対応状況についてアンケートをとった(資料6)。平成20年2月に患者1名で標準調査票による調査が行われた。

(2)国内発生例の積極的疫学調査

発生動向調査システムで国内発生と確認された事例について、簡易標準調査票による調査を依頼した(資料7)。また、分離菌株を感染症研究所細菌第一部に送付するように依頼した。フレキシネル赤痢菌の血清型および細菌第一部で調べた PFGE 型とともに週別の発生状況を解析した。

3. 2類感染症情報

検索エンジンの PubMed(アメリカ国立医学図書館の医療文献データベース)で Shigella, cholera, enteric fever, typhi, paratyphi A と food 等をキーワードに論文を検索した。

4. 食品検査

昨年に続きパイロット試験として食材を検査した。検査項目としては、一般生菌数、大腸菌群、腸管出血性大腸菌 O157、黄色ブド

ウ球菌(コアグラゼ陽性)・サルモネラ属菌・カンピロバクター・クロストリジウム属菌を対象として、食品検査指針に従って行った。

試験品 25g に、mEC ブロス 225mL を加え 1 分間ストマック処理をし、 $42.0 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ で 18 時間培養した。培養後 mEC ブロスから一白金耳を CT-SMAC 培地及びクロモアガー O157 培地に接種、 $35.0 \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、18～24 時間培養した。平板上に発育した大腸菌群、腸管出血性大腸菌 O157 及びその他の大腸菌について釣菌し、IMVC 試験を実施した。

C 結果と考察

1. 2類感染症の発生状況

(1)感染症発生動向調査

わが国で2007年に報告された腸チフス患者は47名(推定国内感染7名)、パラチフス患者22名(同4名)、コレラ患者13名(同4名)、赤痢患者は1桁多く454名(同163名)であった(推定感染地が不明の腸チフス患者1名、赤痢患者11名を含む、表1-表3)。この3年間の比較ではコレラが減少しているのが目立つ。21世紀に入ってから最も少ない件数だが、2001年から2003年にかけて35～15件と少ない年もあり減少傾向にあるということではない。他の3疾患は海外及び国内事例とも昨年までとほぼ同様な傾向であった。原因食品が明らかになった事例はなかった。また、2008年1月～3月11日までの報告数は、腸チフス7名、パラチフス6名、コレラ2名及び赤痢60名(推定国内感染19名)で、赤痢以外はすべて海外事例であった。

なお、感染症法改正により本疾患は2類感染症から3類感染症に変更になり、それに伴う擬似症例はなくなった。また、感染症サーベイランスシステムは2006年4月から新システムに移行したため、旧システムの

2006年1月～3月はまとめて別欄に載せた。

(2) 腸チフス・パラチフス

表1に示すように、2007年1月から2008年3月の間に報告された腸チフス国内発生例は7例で、男性が2例と女性が5例と女性が多く2006年とは逆になった。年齢は3歳から86歳まで分布したが60歳以上が4人と大半を占めた。86歳の男性は無症状病原体保持者であった。発症月に偏りはみられなかった。家族内感染例はなかった。感染源は特定できなかった。

パラチフスは4例で、男性が1例と女性が3例であった。年齢は56歳から85歳に分布した。すべて患者が無症状病原体保持者はいなかった。散发例で家族内感染例はなく、感染源は特定されなかった。

(3) 赤痢

表2に示すように、2007年1月から2008年3月の間に報告された赤痢国内発生例は、182例(発生数の3分の1)で、男性105例と女性77例と男性が多かった。表7に赤痢国内発生例一覧を示した(3月6日現在)。集団事例は、2件の保育園、障害者施設、学生実習と4件あり、このうち埼玉の施設の事例では、4月の初発患者発見から8月に最後の患者と10月に最後の無症状病原体保有者を経てと解決するまで長期にわたった。保育所と学生実習の集団事例は7月に発生しているが、一方、散发例は1年を通じて発生していた。年齢は2歳から88歳まで分布した。24例が無症状病原体保有者だが、これは集団事例に由来するものがほとんどで、散发事例では4名であった。いずれも、患者家族の検査によって見つけられたケースである。感染源特定はなかったが、備考欄には、白子、カキ、輸入牛肉、家庭で作った弁当、カレーの煮付け・カレーライス・トンカツ、刺身、寿司店での食事、角切りステーキ、井戸水、生ホタテなどが記載されている。

菌種別では全体、国内例、海外事例ともソネ菌が7割～8割を、フレキシネル菌が2割弱を占めていて例年と同様であった(表5)。表4は食中毒事例状況をまとめたものだが、赤痢は毎年1から3件が食中毒事件として届けられていたが、最新の2006年では1件となっている。

備考欄の記述から、家族や友人との接触による2次感染は10件あった。2001年18件、2002年31件、2003年12件、2004年14件、2005年10件、2006年8件と推移しているが、本年度も相変わらず多く注意が必要である。年齢分布は、海外例では20代にピークがあり、一方国内例では全年齢層になだらかに分布(表6)していた。これも例年と同じ傾向である。

(4) コレラ

表3に示すように、2007年1月から2008年3月の間に報告されたコレラ国内事例は4例で、男性3例と女性1例であった。年齢は35歳、56歳、65歳とコレラ患者が高年齢者に多い傾向は変わらなかった。発症月は夏場に3件と1月に1件であった。2次感染を疑わせる事例はなかった。いずれも感染源は特定できなかった。

2. 積極的疫学調査

(1) 九州・山口地区

赤痢を中心にコレラ、腸チフス・パラチフスの国内事例について九州・山口県の19自治体で積極的疫学調査を行った。標準喫食調査票(資料1、2)について項目が多くて記載しにくいとの指摘があり改善した。主な改善点は特定食品質問票の「食べたかもしれない」及び「加熱」欄の削除とその他食品に「調理パン・サンドイッチ」を追加したことである。さらに、食品担当者は原因食品の調査に経験が深いことなどから行動・喫食調査では共同で調査に当たるのが望ましいので、原因調査実施要領(資料3)に付け加えた。

埼玉県で行った「O157 等感染症発生原因調査事業」で使用した喫食・行動調査票を参考にして作成した。9月から調査を開始した。

九州・山口地区の赤痢国内事例は調査開始から1件で標準調査票による調査が行われた(表8)。腸チフスは1件あったが、発生动向調査票の備考欄にインドネシアでカットフルーツを食べている由記載があり、海外事例と判断し標準調査票による調査は行わなかった。

資料として、(1)改定赤痢・コレラ感染症発生原因調査票、(2)改定腸チフス・パラチフス感染症発生原因調査票、(3)改定細菌性赤痢・コレラ・腸チフス・パラチフス国内発生事における原因調査実施要領、(4)パンフレット、(5)細菌性赤痢・コレラ・腸チフス・パラチフス国内発生事における原因調査についての依頼文を載せた。

昨年度の調査と併せ4件の調査票が回収されたので、喫食調査欄について表9にまとめた。それぞれの事例は県(熊本2件、福岡、長崎)や時期(2006年7月、8月、12月と2008年2月)が異なっているので、行動関係は割愛した。なお、熊本の2件については、患者 KM はステロイド剤服用と腎不全、患者 KW は胃切除と病歴を有していた。患者 F と N については同様の記載はなかった。福岡の事例は家族内感染と思われた。n数が少なく解析はできなかったが、共通した食材はほとんどなく、わずかにニンジンだけであった。同県で、ほぼ同時期に起きた熊本の事例では刺身・エビ・ニンジン・他の卵料理・他の牛肉料理が一致した。

同地区の国内赤痢事例は例年10件くらい報告されてきた。調査期間中の発生数は予想をかなり下回ることが事前にわかり、緊急にアンケートをとった(資料6)。表11に示すように6自治体計32保険所から回答があ

った。旧2類感染症発生の場合は多くの保健所で感染症担当が対面で調査を行っている。調査時間は1時間が最も多かった。腸管出血性大腸菌が発生した場合も、各保健所の対応はほとんど同様であった。集団でも、ほとんど同様であった。シチュエーションがはっきりしていないため回答に困難があったように感じられる。対応が異なると答えた保健所の主な変更点は、感染症担当から感染症担当と食品担当の共同、施設の調査や説明が入る、そのためもあって調査時間が長くなる。

調査票等の改善点について、①被調査者の負担を考えシンプルにするか優先順位をつける、②わかりにくい点があり、変更するか記入要領を添付などが挙げられた。これらを参考にして調査票を見直す。調査票等の変更した法がいいという点は表10にまとめた。

2) 全国

感染症発生动向調査システムに報告が載った国内事例を疑わせる事例につて、電話により担当者に簡略化した標準調査票により調査を依頼した。当然のことながら、あらかじめ各自治体の担当者に説明会を開いた九州・山口地区よりも食品に関する情報は少なかった。後述のソネ赤痢菌の PFGE 型やフレキシネル赤痢菌の血清型が同じものについて、さらに詳細に検討したが共通の行動や食材は抽出できなかった。

(3) 赤痢散发事例の報告週と血清型・PFGE 型の解析

赤痢の国内散发事例について、発生報告があった自治体に、感染症研究所細菌第一部への菌株送付と簡易型の発生原因調査票(資料7)を依頼した。回答のあった菌株情報(菌種、フレキシネル菌の血清型)と細菌第一部で行ったソネ菌の PFGE 型について、週ごとの発生状況についてグラフを

作成した。

海外渡航例及び国内発生例(図1)ともに1年を通じて発生している。海外事例が増えると国内発生例が増えるなどの相関は見られなかった。国内発生例で夏場にピーク用のものが見えるのは、前述のように4件の集団発生が重なったためである。

さらに、フレキシネル赤痢菌は型抗原で6種類、さらに群抗原で細分される。これにより細かく分類できる。わが国では菌株が地方衛生研究所に送られれば型別され報告が発生動向調査に反映される。菌株送付が少なくなっているため貴重な情報が得られていないことになる。週別発生状況に血清型情報を入れると、同時期に異なる地域で同じ血清型のフレキシネル赤痢菌による患者が出ていのが見える(図2)。n数が少ないため偶然か汚染された食品が全国に流通したかは結論できない。

ソネ赤痢菌はフレキシネル赤痢菌と異なり血清型が1種類しかないため、血清型は疫学マーカーに使用できない。そこで、コリン型別など他の方法が開発されている。現在では分子疫学的手法の一つであるパルスフィールド(PFGE)電気泳動法がよく使われている。ソネ菌のPFGE型は大きく分けて、東南アジア大・東南アジア小・南アジア・南米・国内?型に分けられている(詳細は感染研細菌第一部の報告書を参照されたい)。2007年の国内例では南米型を除くPFGE型が出た。埼玉の障害者施設の集団事例は南アジア型で、静岡県は国内型?であった。この情報を同様に組み込んで週別の発生状況を解析してみたのが図3である。やはり、n数が少ないため、偶然か汚染された食品が全国に流通したかは結論できない。なお、埼玉県が多いように見えるのは菌株の送付数が多いこともある。

3. 原因食品情報

医学情報検索エンジン PubMed で2類感染症特に赤痢と食品や環境の汚染状況について調査した。概要から食品やについて記述がありそうな論文を選び出した。これらをまとめて推定を含む原因食品について表を作成した(表11)。

昨年報告したように我が国で食品から原因菌として赤痢菌が検出されたのは、2000年から2001年にかけて、全国で150名以上の感染者を出した韓国産牡蠣による1例だけと食品から分離された事例は稀である。先進国の調査でも疫学的な解析によって原因食品を推定している報告が多い。今回の調査では発展途上国の2類感染症が蔓延している地域の street food(路地で販売している食品)が多く検索された。ガーナやエジプト、エジプト、メキシコの路地商が販売している多くのそのまま食べられる食品から菌が検出された。サラダとして生で食べるレタスや野菜などの他揚げ物やマカロニなど加熱した料理からも分離されている。また、インドでは家庭の離乳食を集めて調べたところ菌が検出された。素手で調理済みの食品を提供するなど衛生的に問題があるものが多い。冷凍庫の底にたまった水から大量のチフス菌などが分離されている。菌が大量に付着して、死滅または環境に耐える形態(VBNC や飢餓状態)に変わる前に検査しているために検出されるのであろう。タイ産のベビーコーン、米国の輸入トマト、韓国のトマトなどは菌は分離されていないが、疫学的に原因食品と推定された。菌が分離された食品は、輸入鶏、インドの家庭の離乳食、路地商のココナッツスライス・サラダ・コリアンダーソース、メキシコのオレンジジュースとその材料のオレンジ、エジプトの Tamae(豆とパセリの揚げ物)、インドの家庭の離乳食、ガーナのレタスとト

マトがある。

4. 食品の検査

平成19年度は19種類の市販生鮮野菜について合計56検体について行った。内訳は、キャベツ(検体数 11、以下同様)、セロリ(2)、カイワレ大根(1)、ニンジン(1)、きゅうり(3)、長ネギ(2)、もやし(10)、みょうが(1)、にら(4)、枝豆(1)、アスパラガス(2)、さやえんどう(1)、トマト(1)、にんにく(1)、小松菜(5)、ブロッコリー(1)、かぶ(1)、しめじ(1)、エノキ(7)の計56検体である。

Klebsiella-Enterobacter 群は、ニンジン、えだまめ及びさやえんどうを除く他の検体から検出された。*Citrobacter freundii* がニンジン及びえだまめから検出された。*Escherichia coli* がキャベツ、こまつな、アスパラガス及びさやえんどうから検出された。腸管出血性大腸菌 O157 は56検体すべて陰性であった。

D 結論

1. 2類感染症発生状況を2007年1月から2008年3月11日までの報告分について感染症サーベイランスシステムをもとに解析した。昨年度の報告書にも記述したが、2類感染症はほとんどが海外感染であるが、いまだに国内感染が発生し減少傾向にない。本年度分の赤痢に関しては、昨年より比率は上がり35%となった。大きな集団事例があったのも原因の一つである。

2. 昨年度から行っている、標準調査票を使用した積極的疫学調査を九州・山口地区において継続した。

事例数は少ないが、将来、我が国における疫学調査の標準調査票を作成するための検討を行っている。実際に調査を行う方への疫学調査の重要性を訴える必要がうかがえた。食品と特定するためにはn数を大きくする必要があり、全国規模での調査が必要となる。そのためには調査と菌株の収集について必要性を訴えかつ法的な根拠を与える必要がある。

3. 原因食品情報を、病原微生物検出情報月報と厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課の食中毒発生状況、PubMed から検索した。発展途上で旧2類感染症が蔓延している地域では、路次で売られている調理品など、多くの食品から菌が検出されている。

4. パイロット試験として食材を検査した。2類感染症の原因物質(細菌)と性状がよく似ている菌が頻繁に分離されている。2類感染症が常在している地域からの輸入食品に関しての監視体制を構築する必要があると思われる。

E. 発表業績

1. 発表論文 なし

2. 学会発表 なし

F. 知的所有権取得状況 なし

H17-新興-13

「食品由来の2類感染症のリスクアセスメントモデル構築に関する研究」
細菌性赤痢，コレラにおける食品一人感染，人一人感染の疫学調査
分担研究者 相楽裕子 横浜市立市民病院（感染性腸炎研究会）

1 目的

2類感染症（2007年4月以降3類感染症）として類型化されている疾患のうち，食品媒介性に発生するものとして，細菌性赤痢，コレラ，腸チフス，パラチフスが挙げられる。いずれも国外由来事例が多いが，食品由来と推定される国内事例も発生している。細菌性赤痢に関しては，生カキの摂食による国内事例。機内食が原因となった食中毒事例等が発生している。コレラに関しては毎年のように国内事例が報告されている。腸チフス，パラチフスについては潜伏期間が2週間前後と長いため，散發事例での原因検索は不可能に近い。

細菌性赤痢やコレラが国内で発生する要因の一つに食品や水が原因として挙げられる。それらの食品の汚染が海外由来なのか国内由来なのか実態は不明である。本研究では，感染性腸炎研究会において取り扱った細菌性赤痢とコレラの国内事例を対象に行った調査を通して食品由来2類感染症のリスクアセスメントを行い防御対策への貢献を試みた。

2 対象と方法

2000年1月から2006年12月までの7年間に感染性腸炎研究会に属する東京都及び13政令指定都市の感染症指定医療機関に入院または通院した細菌性赤痢とコレラの国内事例について発生状況を調査した。

3 結果

1) 患者背景

細菌性赤痢の患者数は358，うち国内例は44（12.3%），国内例の判明した血清型は*S.flexneri* 10，*S.sonnei* 29であった。コレラの患者数は35，うち国内例は6（17.1%），すべて血清型O1でコレラ毒素産生性であり，生物型Eltor Ogawa, Eltor Inaba 各3であった。

2) 年齢・性別（表1）

細菌性赤痢患者358例では20代が圧倒的に多く，その多くは国外由来例であった。国内例44（12.3%）は全年齢層に分布し，20歳未満の41.9%，60歳以上の34.6%が国内例であった。コレラ患者は35例で，20代と50代以降（8，17例）に多く，国外由来例が多数を占めていた。国内例は若年層にはみられず，40代以上であった。患者総数では細菌性赤痢では女性が，コレラでは男性が多かったが，国内例でも同様の傾向であった。

3) 原因が推定された国内事例（表2）

国内例のうち，原因が推定された細菌性赤痢39例，コレラ6例についてまとめた。食品媒介性と推定された事例は細菌性赤痢12例，コレラ4例であった。赤痢菌の血清型は*S.sonnei*が圧倒的に多かった。コレラ菌はEltor Ogawa, Eltor Inabaが各2であった。推定原因とされた飲食物は細菌性赤痢では海鮮丼，すし，刺し身，イクラ醤油漬け等，コレラでは3例が路上生活者で食品・水媒介性と推定された。いずれも保健所の調査では原因は特定されなかった。その他，細菌性赤痢では学生寮やキャンプでの集団発生5例と家族内発生4例がみられた。集団事例は食品媒介性と推定された。

4 考察

細菌性赤痢，コレラともに国外由来例が圧倒的に多く，国内例は15%前後であった。細菌性赤痢の場合には家庭内の二次感染があるため，国内例のどこまでが食品・水媒介性なのか分からないが，コレラの場合は二次感染がほとんどないため，国内例はほぼ飲食物由来と推定される。今回原因が推測された事例では細菌性赤痢もコレラも生鮮魚介類の関与が疑われた。

両疾患とも2007年4月から3類感染症に移行したため，今後は食中毒としての届け出がなければ原因調査はさらに困難になるであろう。発生数が減少し

たとはいえ、食料自給率の低い我が国では輸入食品を通して国内に持ち込まれる可能性は高い。日常のサーベイランスとともに侵入した場合の早期発見システムを確立しておく必要があると思われる。

研究協力者：山下和予（国立感染症研究所感染症情報センター）、大西健児（東京都立墨東病院）、角田隆文（東京都保健医療公社荏原病院）、今村顕史（東京都立駒込病院）、滝沢慶彦（札幌市立札幌病院）、山陰敬（仙台市立病院）、深山牧子・濁川博子（東京

都立豊島病院）、寺野隆（千葉市立青葉病院）、小花光夫・小井戸則彦（川崎市立川崎病院）、水野芳樹（名古屋市立東市民病院）、清水恒広（京都市立病院）、阪上賀洋（大阪市立総合医療センター・感染症センター）、春田恒和（神戸市立中央市民病院）、藤井肇（広島市立舟入病院）、青木知信（福岡市立こども病院・感染症センター）、岡田薫（北九州市立医療センター）

表1 細菌性赤痢とコレラの患者背景

年齢層	0～	10～	20～	30～	40～	50～	60～	70～	計	男	女
細菌性赤痢 総数	11	20	188	82	18	13	17	9	358	170	187
国内例	5	8	10	7	2	3	6	3	44	21	23
コレラ 総数	1	0	8	5	4	10	1	6	35	23	12
国内例	0	0	0	0	1	2	1	2	6	4	2

表2 原因が推測された国内事例（細菌性赤痢とコレラ）

	年齢	性	発病年月日	分離菌	情報
食品媒介疑い	37	女	2000/8/26	<i>S. sonnei</i>	8/25 回転すし、夫も発病（菌陰性）
	29	女	2001/11/16	<i>S. sonnei</i>	11/15 ベトナム料理
	28	男	2001/12/11	<i>S. flexneri</i> 2a	12/9 法事で刺し身
	85	男	2001/12/12	不明	発症前に生ガキ
	76	男	2002/9/30	<i>S. flexneri</i> 1b	9/29 スーパー銭湯でみそカツ、おでん、枝豆
	31	女	2002/9/29	<i>S. sonnei</i>	9/27 海鮮丼
	31	男	2003/6/21	<i>S. sonnei</i>	6/15 寿司
	28	女	2004/6/19	<i>S. sonnei</i>	6/17 海鮮丼
	66	男	2004/9/5	<i>S. sonnei</i>	9/4 しめ鯖、イクラ醤油漬け
	49	男	2005/1/9	<i>S. sonnei</i>	1/8 しゃぶしゃぶ、キムチ
	34	男	2005/5/15	<i>S. sonnei</i>	5/14 バーベキュー
	38	女	2006/11/10	<i>S. sonnei</i>	11/4 上海ガニ
	45	男	2001/6/29	<i>V. cholerae</i> O1 Eltor Inaba	路上生活者。公園のトイレの水で調理、隅田川で採れたカメを食べた。
	59	男	2001/7/9	<i>V. cholerae</i> O1 Eltor Inaba	上記の同僚。公園のトイレの水で調理、隅田川で採れたカメを食べた。
	54	男	2005/4/30	<i>V. cholerae</i> O1 Eltor Ogawa	4/27 居酒屋で刺し身

	72	男	2006/6/6 (?)	<i>V.cholerae</i> O1 Eltor Ogawa	路上生活者。ショック状態で発見
集団感染	19	女	2001/5/11	<i>S.sonnei</i>	食事付き学生寮集団例
	19	女	2001/5/11	<i>S.sonnei</i>	食事付き学生寮集団例
	18	女	2001/5/11	<i>S.sonnei</i>	食事付き学生寮集団例
	19	女	2001/5/11	<i>S.sonnei</i>	食事付き学生寮集団例
	7	男	2005/8/1	<i>S.sonnei</i>	7月下旬集団キャンプ（他に2名発病）
家族内感染疑い	30	男	2000/4/13	<i>S.sonnei</i>	妻が2月にベトナム旅行
	37	女	2002/2/19	<i>S.sonnei</i>	児（7歳）が2日前に発病（国内感染感染源不明）、家族内感染
	8	男	2004/8/9	<i>S.sonnei</i>	中国から帰国直後の祖母宅に滞在（8/6-8/8）。 8/7、8/8 焼き肉
	54	女	2006/8/27	<i>S.sonnei</i>	8/11-8/17 夫が中国出張、8/18 より下痢（検便2回陰性）、8/26、8/27 刺身

厚生労働科学研究費補助金（新興・再興感染症研究事業）

食品由来の2類感染症のリスクアセスメントモデル構築
に関する研究（H17-新興-13）

食品における赤痢菌検出法の標準化と感度の向上

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

研究協力者；

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）

門田修子（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・大学院生）

武士甲一（国立大学法人帯広畜産大学・畜産学部・教授）

研究要旨 赤痢菌は、グラム陰性桿菌で細菌性赤痢の原因菌であり二類感染症の1つに指定されている。細菌性赤痢は海外で感染した後、国内に持ち込まれるいわゆる輸入感染症による事例が多かったが、近年では国内感染例が増加傾向にある。その原因は汚染食品の摂食による食品媒介感染であると考えられており、発症菌数が10個以下と極めて少ないことから、食品からの迅速かつ正確な赤痢菌の検出法を確立することは、食品食の安全確保上非常に重要である。

本研究では、食品からの赤痢菌検出法の標準化を図り、感度の向上を目指した。食品中の赤痢菌の検出法については、2001年に西日本で韓国産輸入カキが原因で細菌性赤痢が発生したとき、厚生労働省により参考試験法が示された。初年度においては、この参考法に変更を加え、検出感度に優れかつ迅速に結果が得られる試験法を考案し、1個以上の赤痢菌が試料中に存在すれば、24時間以内に検出を可能とするシステムを構築した。今年度においては、海外産のカキについて本試験法の有用性を国内産を含めて確認したが、すべて陰性であった。しかし、赤痢菌のヒトに対する発症菌数は著しく低いという観点から、本菌が食品中でVBNCのように培養不可能な状態になる可能性について検討し、赤痢菌もある条件下でVBNCに移行することが確認された。

A. 研究目的

現在、食中毒発生時において汚染食品が特定された事例は、全体の約3割と非常に低い。それには様々な理由が挙げられるが、疫学調査の困難さに加え、簡便で正確な検出法がないこと及び生きているが培養できない細菌の存在が検出を困難にしている場合も考えられる。このため、従来の微生物学的検出法に加え、より検出感度と簡易・迅速性に優れた新たな検出法の開発が求められている。

これまで細菌性赤痢感染症は、海外で食品や飲料水を介して感染するいわゆる輸入感染症がほとんどであったが、近年では発展途上国などへの渡航歴のないにもかかわらず、国内での感染例が増加傾向にある。その感染源として汚染食品が考えられており、実際に2001年には西日本で韓国産輸入カキが原因となって細菌性赤痢が発生した。

本菌は、腸内細菌科に属するグラム陰性桿菌で、細菌性赤痢の原因菌である。「感

感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」で二類感染症に指定されている。大腸菌との DNA 間の相同性は 85%以上と非常に高く、同一菌種内に含まれる値であるが、医学細菌上の重要な病原体として位置付けられているため、大腸菌属から独立している。ヒトにおける発症菌数が 10 個以下と少ないため、食品からの迅速かつ正確な赤痢菌の検出法の確立は、食品の安全確保の上で非常に重要である。本研究では、食品から赤痢菌を検出する方法を確立し、その標準化と感度の向上を図ることを目的とした。

初年度においては、輸入カキを原因とする細菌性赤痢が発生した際、2001 年に厚生労働省が各都道府県に配布した参考試験法を基本とし、これに変更を加えた方法を新規検出法として食品からの赤痢菌検出法を考案した。本年度においては、この方法を実際の検体に応用し、その有用性について確認を行った。

また、サルモネラ属菌や EHEC O157 は食品中で容易に“生きていないが培養できない状態(VBNC)”に変化することが知られており、このような状態は見かけ上菌数が少なく検出されるが、実際は病気を起こす能力を保持している。VBNC 状態に入った細菌は、現在の検査法では検出が困難であり、食品衛生上大きな問題になると考えられており、特に発症菌数が少ないと考えられている赤痢菌の場合はさらに深刻であると推察される。そこで、本年度は赤痢菌が VBNC 状態に入り込む可能性の有無について検討し、その蘇生法の基礎資料を得ることを目的として実験を行った。

B. 研究方法

1. 使用菌株および培地

当研究室の保管株である *Shigella flexneri* YSH6000 を Trypticase-Soy Broth (TSB, Becton Dickinson)にて一晩培養し、滅菌生理食塩水で希釈して使用した。分離用の固形培地については Trypticase-Soy Agar (TSA)を使用した。

2. 赤痢菌検出法

図 1 に本研究で用いた検出法と厚生労働省配布の参考試験法の相違点を示す。試料として市販のカキを用い、25 g を試料量とした。滅菌済みのストマッカー用袋に試料とシゲラブロス[OXOID 社、0.5 µg/ml ノボビオシン (DIFCO) と Tween 80 (関東化学) を 0.75 ml 添加] 225 ml を入れ、ストマッカー (AES Labotoire) により 30 秒間ストマッキングした。本乳剤を 5 袋用意し、 10^3 、 10^5 、 10^7 、 10^8 倍に希釈した菌液を各々乳剤に接種し、袋にガス抜き用の穴を数箇所開けた後、シールして 44°C で一晩培養した。なお、赤痢菌非接種の乳剤を陰性対照として用いた。

各培養液 2 ml ずつを採取し、添付のマニュアルに従ってキット (MORA-EXTRACT DNA 抽出キット、極東製薬) を用いてゲノム DNA を抽出した。プライマーについては、赤痢菌および腸管侵入性大腸菌病原因子遺伝子の検出用プライマーである *invG*、*ipaH*、16S rDNA (タカラバイオ) を使用し、ライトサイクラー (Roche) にてリアルタイム PCR を行った。PCR の条件を Table 1 に示す。増幅反応終了後は 1% アガロースゲルにて電気泳動を行い、PCR 産物の有無とそのサイズを確認した。

3. 一般細菌数

試験品と 9 倍量の滅菌済み phosphate-buffered saline (PBS) をストマッカーバッグに入れ 30 秒間ストマッキングした。原液および 10^2 、 10^3 倍に希釈した物を desoxycholate hydrogen sulfide lactose agar (DHL, 栄研) と Trypticase soy agar (TSA), 各 3 枚に 100 µl 塗抹後、好気条件下にて 37°C で一晩培養し、コロニー数を計測した。

4. VBNC への誘導実験

保存株を TSB にて一晩培養後、遠心し、洗浄して得られたペレットを滅菌済みの 3%、7%、13% NaCl 溶液に各々懸濁し、37°C にて静置培養した。培養後、各菌液を TSA にプレーティングして培養能を試みる一方、BacLight 染色を行ってその生存率を観察した。

5. VBNC への誘導実験と蘇生因子のクローニング

保存株を TSB にて一晚培養後、遠心し、洗浄して得られたペレットを滅菌済みの 3%、7%、13% NaCl 溶液に各々懸濁し、37°C にて静置培養した。培養後、各菌液を TSA にプレーティングして培養能を試みる一方、BacLight 染色を行ってその生存率を観察した。また、*Salmonella* の *rpf* 遺伝子の配列を基に赤痢菌のゲノムデータベースを利用して PCR 法により *rpf* 遺伝子をクローニングした。上記でクローニングした配列から組換えタンパクを作成、精製した。さらに、濃度別(0.001~10 μ g/ml)の rRpf を含んだ培地(5% BHI プロス)に VBNC 状態の赤痢菌を接種後、7 日間培養しコロニー形成の有無を確認する事により赤痢菌由来の組換え Rpf タンパクによる VBNC 状態からの蘇生が成立するか観察した。

6. 培養上清の増殖促進能試験

赤痢菌を通常の培養後、滅菌生理食塩水で洗浄後、赤痢菌の培養上清(ろ過滅菌済み)を適当に TSB 培地により希釈し、適当な菌数を接種し、37°C で 24 時間まで培養し濁度を測定することにより増殖を調べた。

C. 研究結果

1. 新規検出法による赤痢菌検出

新規検出法(図 1-1)により、10⁸ 倍希釈した菌液を接種したサンプルで PCR 後の電気泳動から、*invG*、*ipaH*、16S rDNA 3 つのプライマーが検出された(図 1-2)。即ち、理論上 1 個以下の菌数が存在していれば、検出が可能であると考えられる。又、冷凍カキから *Shigella sonnei* を検出した例を参考に、二段階培養法を生カキと冷凍カキで実施したところ、二段階培養法は冷凍カキに使用したほうが検出感度は良好であった。

国内で赤痢菌の検出は困難であると考え、タイ国バンコク市内で市販されているエビ 45 検体およびカキ 40 検体の合計 85 検体を用い、新規に考案した方法にしたがって検査を行った。その結果、培養法にお

いては赤痢菌陽集落は検出できなかった。そこで、図 1 に示した方法により PCR による検出を試みたが、全て陰性であった。

2. 一般細菌数

本研究に使用したカキの一般細菌数は 2.0 \times 10³/g であり、大腸菌数は 1.5 \times 10³/g であった。無菌のヤングコーンに大腸菌を接種し検出感度を調査した例では、1.2 \times 10⁵ CFU/g 接種サンプルから PCR 法にてバンドが検出されているが、カキは消化管に細菌叢があるとされ、無菌状態とは考え辛い。又、食材中の高いタンパク質濃度などにより検出感度が低いと考えられており、食材からの DNA 抽出に検討が求められていたが、新規検出法でジルコニアビーズ破砕法キットを使用した事により問題解決に至ったと思われる。よって、本検出法はこの一般細菌や大腸菌存在下においても殆ど検出に影響を受けず、高感度であると考えられる。

3. 赤痢菌の VBNC への移行について

赤痢菌を 3%、7%、13% NaCl 溶液に浮遊し、37°C で静置培養を行った結果、7% および 13% NaCl 溶液中では 5 日後に TSA 上での集落形成が確認できなかった(図 2)。一方、3% 溶液中では 6 日後に集落が確認できなかった。また、顕微鏡にて観察すると、6 日後において約 40~50% の生存率であり、赤痢菌も VBNC に移行することが示された。

4. 蘇生因子について

Salmonella の *rpf* 遺伝子の配列を基に赤痢菌のゲノムデータベースを利用して PCR 法により *rpf* 遺伝子をクローニングした。PCR の結果得られた PCR 断片の TA クローニングにより塩基配列を決定し(図 3)、更に PCR 断片を GST 融合タンパク発現用ベクター pGEX-6P-1 にクローニングし、大腸菌 BL21 をトランスフォーメーションした。IPTG 1 mM 添加後 8 時間で発現誘導し、GST カラムとタグ切断酵素による精製後、SDS-PAGE を行った結果アミノ酸配列から推定される 25KDa 付近にバンドが見られた事から、赤痢菌の組換えタンパクの作成と精製に成功したと考えられ

た(図4)。rRpfによるVBNCからの蘇生は、培養期間中のサンプルからコロニー形成が見られず、今回の条件では蘇生を誘導できなかった。

5. 増殖因子の存在について

赤痢菌の培養上清を赤痢菌に加え培養すると、12時間後には増殖促進効果のあることが明らかになった(図5)。この効果は培養上清の濃度に依存していた。接種した赤痢菌の菌数は1mlあたり2.6個であり、菌数が高くなるが、その原因は明らかにならなかった(結果示さず)。

D. 考察

本研究では、食品からの赤痢菌の検出法を確立する事・赤痢菌のVBNCについて知見を得る事を目的とした。細菌性赤痢感染症の原因食材と考えられるが、検出が困難とされてきたカキを試験品とし、厚生労働省配布の参考試験法を変法した物を新規検出法とした。本試験法で*S. flexneri*を植菌し、菌検出を確認したところ 1.7×10^{-1} CFU/mlの菌数で検出が確認できた。

*S. sonnei*をカキに植菌し、厚生労働省配布の参考試験法にて検出感度を調査した他の研究結果によると、PCR法で検出できた菌数は 3.4×10^2 CFU/gであった。このことから、新規検出法は計算上1個以上の菌数が存在していれば検出が可能であり、高感度であると考えられる。

今回、われわれはカキを試験品とし、厚生労働省から示された参考試験法を改良した試験法により、実際に汚染の可能性のある水産物を検査対象として実用試験を行った。本年度においては、タイ国産のカキとエビについて現地で検査を行い、その結果、カキからは腸炎ビブリオが、また、エビからはサルモネラ菌属の汚染が検出されたが、赤痢菌については従来からの検査法および今回考案された改良法のいずれの試験法においても検出されなかった。このことから、タイ国産のこれら水産物には赤痢菌による汚染はなかったものと推察された。日本国内で流通する食品から赤痢菌が分離される可能性は極めて低い

で、今後は輸入冷凍食品について検証することが必要であると考えられ、また、さらに細菌性赤痢の発生が多い国において、本試験法を現地で検証する必要があると考えられた。

サルモネラ属菌やEHEC O157は、食品中で容易にVBNCに移行することが報告されており、今回、赤痢菌においても同様な現象が起きることが確認された。発症菌量が著しく低い赤痢菌の場合、VBNC状態で食品を汚染すると、原因食材の特定は著しく困難となる。本研究によりVBNCに赤痢菌が移行することが確認されたので、このVBNCの効率的かつ迅速な蘇生法の確立が今後の検討課題となる。サルモネラの蘇生因子としてRpf蛋白が同定されており、その蘇生法が確立されているので、サルモネラについては、Rpf蛋白による蘇生効果についてさらに検証を行い、検出感度を上げる必要があると考える。また、他の病原菌においても同様な現象が確認されているので、赤痢菌のVBNCについても同様な対応が必要であると考えられる。また、他の病原菌においても同様な現象が確認されているので、赤痢菌のVBNCについても同様な対応が必要であると考えられる。一方、赤痢菌の培養上清中には赤痢菌の増殖に関与する物質の存在が示唆された。このことは、赤痢菌の検査過程において、わずかの菌数の赤痢菌を検出する系に応用できるのではないかと考えられ、実際の現場での使用に有用になる可能性が示唆された。

E. 結論

赤痢菌は発症菌数が著しく低いので、食品からの迅速かつ正確な赤痢菌検出法の確立は、食品の安全確保の上で非常に重要である。本年度においては新規に考案された検査法により、タイ国産の水産物を検査対象として実用試験を試みた。考案された試験法の実用性を検討するためには、今後、汚染率の高い地域における現地での検査およびわが国へ輸入される冷凍食品を検査対象として幅広く検査を実施する必要がある。また、赤痢菌は容易にVBNCに

移行することが確認されたので、その蘇生法を早期に確立して検査法に応用する必要がある。

F. 健康危険情報
特に無い。

G. 研究発表

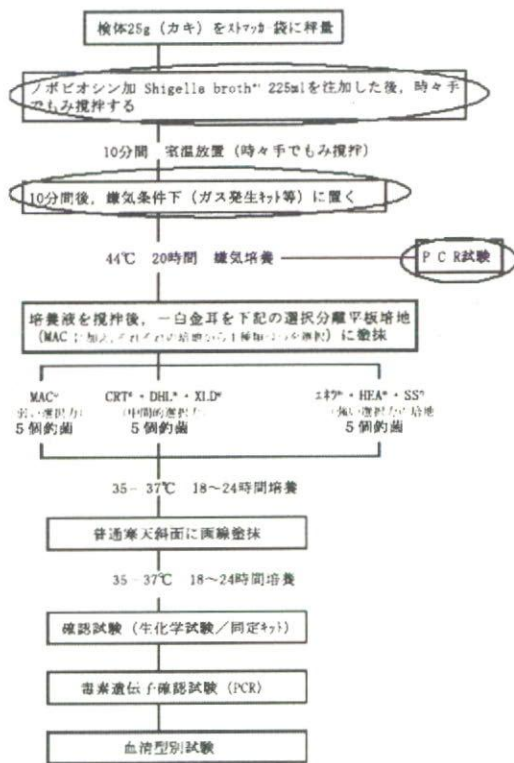
1. Sou-ichi Makino. Resuscitation of the viable but non-culturable (VBNC) state of *Salmonella enterica* serovar Oranienburg by recombinant resuscitation-promoting factor derived from *Salmonella* Typhimurium strain LT2. In 10th International

Symposium on Toxic Microorganisms- Meeting the Challenges of Toxic Microorganisms and Pathogens: Implications for Food Safety and Public Health-. Washington, DC (2006年11月7-9日)

2. Shuko Monden, Sou-ichi Makino, Keiko Kawamoto. Detection Method of *Shigella* from oyster by PCR. The Asian Conference on Diarrhoeal Diseases and Nutrition (ASCODD), March, 2006.

H. 特許出願状況
特にない

図 1-1. 赤痢菌の迅速検出法



手もみ攪拌

ストマッカーで30sec

ガス発生キット等で嫌気培養

非厳密嫌気培養

PCR試験

ライトサイクラー(リアルタイムPCR)

冷凍カキの試験法

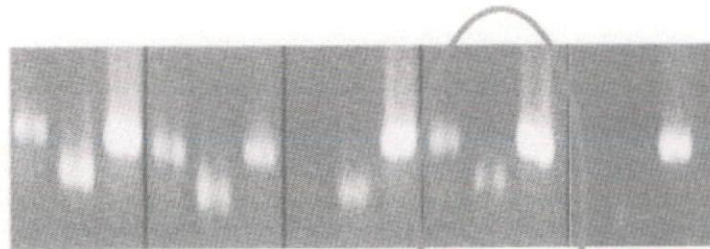
Buffered Peptone Water
での増菌培養。

図 1-2, 新規検出法の電気泳動結果

植菌数が1個以下のサンプルに3つ揃ったバンドの出現が見られた。

Shigella gDNA

M InvG ipaH 18S



dilution	10 ⁵ ×	10 ³ ×	10 ² ×	10 ¹ ×	Negative control
CFU/ 100 μl	(17000)	(170)	(1.7)	(0.17)	(0/100 μl)
コロニーの有無	+	+	-	-	-

図2. VBNC誘導条件の検討

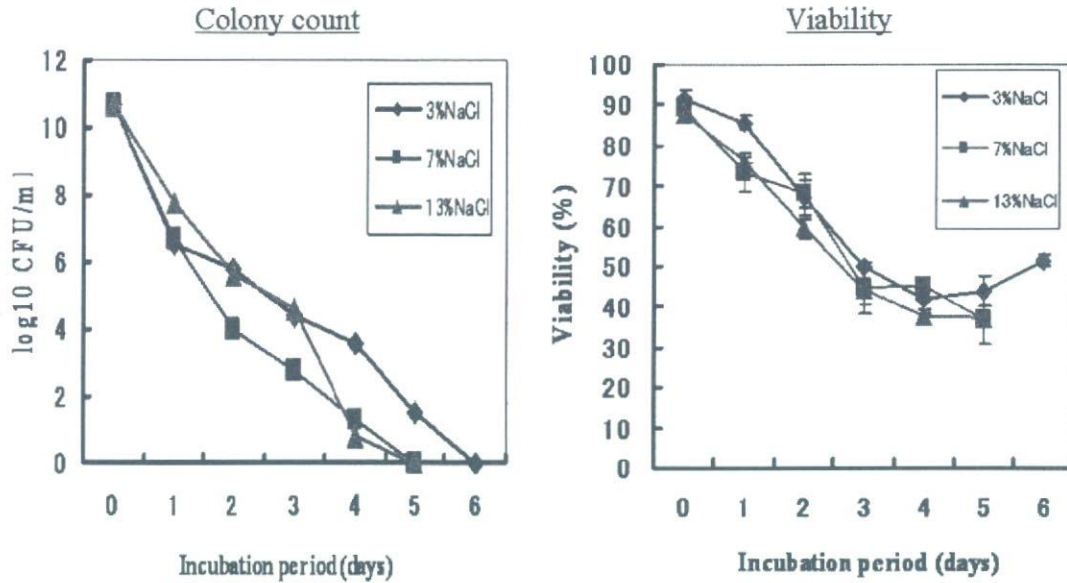


図3. 各種Rpf蛋白のアミノ配列の比較

flexineri AA.seq	1	MRI LAIDTATEACSV ALWNDGTVNAHFELCPREHTQRILPMVQDILTTSGLTDINALA	60
sonnei AA.seq	1	MRI LAIDTATEACSV ALWNDGTVNAHFELCPREHTQRILPMVQDILTTSGLTDINALA	60
Oranineburg Rpf AA.seq	1	MRI LAIDTATEACSV ALWNGTVAHFELCPREHTQRILPMVQELLAASGSLNEIDALA	60
O157 rpf AA.seq	1	MRI LAIDTATEACSV ALWNDGTVNAHFELCPREHTQRILPMVQDILTTSGLTDINALA	60
flexineri AA.seq	61	YGRGPSFTGVRI GIGIAQGLALGAELPMIGVSTLMTMAQGAWRNGATRVLSAIDARMG	120
sonnei AA.seq	61	YGRGPSFTGVRI GIGIAQGLALGAELPMIGVSTLMTMAQGAWRNGATRVLSAIDARMG	120
Oranineburg Rpf AA.seq	61	FGRGPSFTGVRI GIGIAQGLALGANPMIGVSTLMAQGAWRKFATRVLSAIDARMG	120
O157 rpf AA.seq	61	YGRGPSFTGVRI GIGIAQGLALGAELPMIGVSTLMTMAQGAWRNGATRVLSAIDARMG	120
flexineri AA.seq	121	EYVWAEYQRDENGIVHGEETEAVLKPELVHERMQQLSGEWVTVGTGWQAWPDLGKESGLV	180
sonnei AA.seq	121	EYVWAEYQRDENGIVHGEETEAVLKPELVHERMQQLSGEWVTVGTGWQAWPDLGKESGLV	180
Oranineburg Rpf AA.seq	121	EYVWAEYQRDQGVHGEETEAVLKPERVGERLKLQSGEWAIVGTGWSAWPDLAKEGLF	180
O157 rpf AA.seq	121	EYVWAEYQRDENGIVHGEETEAVLKPELVHERMQQLSGEWVTVGTGWQAWPDLGKESGLV	180
flexineri AA.seq	181	LRDGEVLLPAAEDMLPIACQMF AEGKTVAVEHAKPVYLRNNVANKKLPGKE	231
sonnei AA.seq	181	LRDGEVLLPAAEDMLPIACQMF AEGKTVAVEHAEPVYLRNNVANKKLPGKE	231
Oranineburg Rpf AA.seq	181	LRDGEVLPAAEDMLPIAEKLAEGEVAVEHAEPVYLRNEVANKKLPGKE	231
O157 rpf AA.seq	181	LRDGEVLLPAAEDMLPIACQMF AEGKTVAVEHAEPVYLRNNVANKKLPGKE	231

Shigella flexneri vs O157: 99.57%

vs *S. Oranienburg* : 84.85%

図4. 組換えRpf (rRpf) の精製

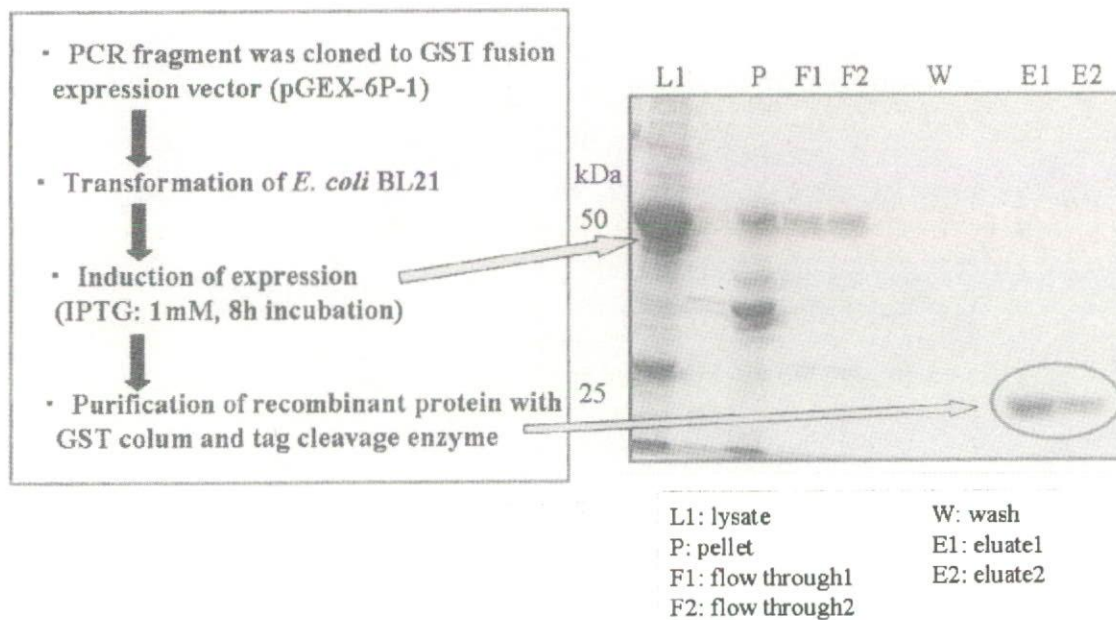
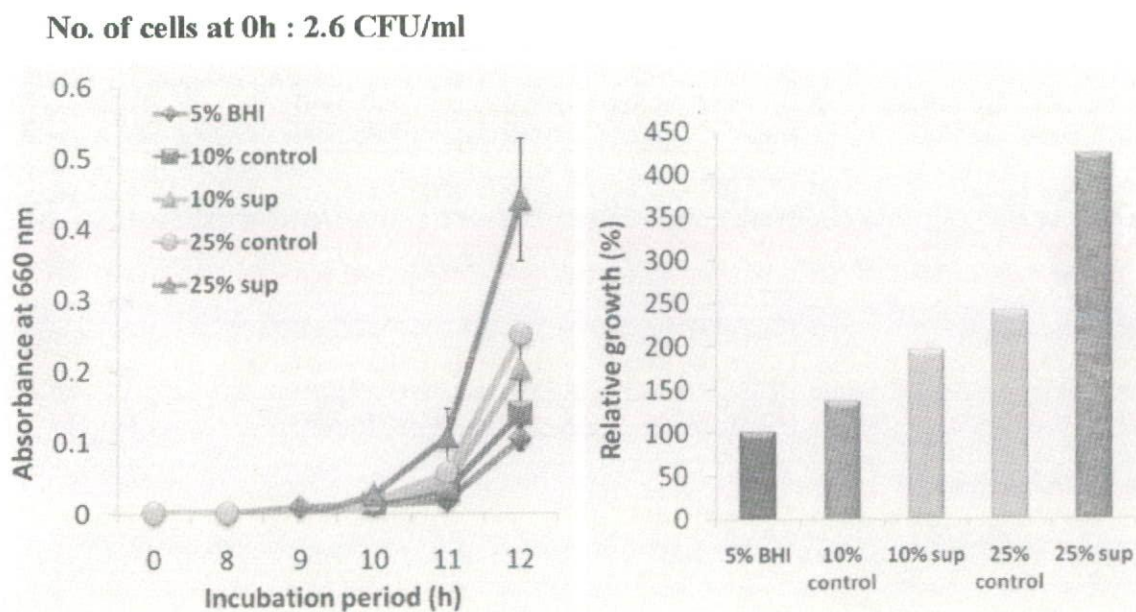


図5. 赤痢菌の増殖促進効果



研究課題名： 食品由来の2類感染症のリスクアセスメントモデル構築に関する研究

分担研究課題： 海外渡航者由来の分離株の疫学解析に関する研究

分担研究者 泉谷秀昌（国立感染症研究所 細菌第一部 第二室 室長）
研究協力者 荒川英二、森田昌知、三戸部治郎（国立感染症研究所 細菌第一部）
多田有希、伊藤健一郎（国立感染症研究所、感染症情報センター）
西村聖美、竹内真人、岡村徳子（成田空港検疫所）

研究要旨

2類感染症に含まれる細菌性感染症には、チフス、パラチフス、コレラおよび細菌性赤痢がある。平成19年の感染症法改正に伴い、これらは3類感染症に分類されるようになっていくが公衆衛生上重要な感染症として変わりはない。これらの疾患はいずれも当該起因菌による経口感染症であり、本菌に汚染された食品や水を介してヒトに感染する。また、本疾患については感染症法により、確定例および無症状保菌者等の届出が義務付けられている。感染症発生動向調査によればこれらの疾患の大半はアジアを中心とした海外渡航者による輸入例である。国内例については、その発生報告があるものの、原因究明に至ることはほとんどないのが現状である。こうした国内例の原因究明にあたり、現在の海外の流行菌株を把握することは非常に重要であると考えられる。本研究では主として海外渡航者由来のコレラ菌および赤痢菌分離株に着目しこれらの特徴づけを行うべく、国際的な統一手法となりつつあるパルスネット プロトコールによる各菌種のパルスフィールドゲル電気泳動法による解析を行ったので、これを報告する。

A. 研究目的

コレラはコレラ菌に汚染された食品や水を介して感染する。現在は1961年から始まった *V. cholerae* O1 El Tor による第7次世界流行の最中にあり、開発途上国を中心に年間数十万人のコレラ患者が発生している。

最近の我が国におけるコレラ患者については、年によって多少の変動はあるが、年間数十例で、ほぼ7-8割が海外輸入例である。輸入例のほとんどはアジアへの渡航歴を有している。残り2割程度が国内例であるが、散发例であることがほとんどのため、感染源の究明にいたることはほとんどない状態である。

細菌性赤痢は赤痢菌に汚染された食品や水を介して感染する。

最近の我が国における細菌性赤痢患者の発生

数は年間600名前後を推移している。その大半は海外輸入例である。また、近年発生した集団事例では海外からの食品の関連が示唆されることもある。一方で、国内例は散发例がほとんどであることもあつてか、原因究明にいたることはほとんどないのが現状である。

本研究では、まず、我が国を取り巻くコレラ菌赤痢菌の現状を把握することを目的とし、海外渡航者由来のコレラ菌分離株を材料に型別を行い、流行菌株を特徴づけ、そのデータベースの構築を試みる。

赤痢菌については、さらに国内例のデータを当てはめていき、データベース上での位置づけを行い、その意義を検討する。

B. 研究方法

コレラ菌に関しては、当部に保存されている海外由来株、および成田空港検疫所で分離された海外渡航者由来株を供試菌株とした。

赤痢菌に関しては、成田空港検疫所で分離された海外渡航者由来株および2007年の国内例分離株を供試菌株とした。

型別の方法として、国際的共同研究で提唱されたパルスネット プロトコールに基づいたパルスフィールドゲル電気泳動法 (PFGE) を使用した (K. L. F. Cooper, et al., *Foodborne Pathogens and Disease*, 3, 51-58, 2006)。泳動条件は、コレラ菌についてはスイッチングタイム (SW) 2-10秒で13時間、次いでSW20-25秒で6時間、14℃、6V/cmで行った。赤痢菌についてはSW2.2-54.2秒で19-20時間、14℃、6V/cmで行った。それぞれの泳動像の解析には同じくパルスネット で利用されている Bionumerics (もしくはFingerprinting II) ソフトウェアを使用して、コンピューターに取り込んだ泳動像の解析を行った。

C. 研究結果

1. コレラ菌

感染研細菌第一部保存株 (1992年-1997年) 30株、および成田空港検疫所保存株 (1999年-2006年) 18株について、パルスネット プロトコールによるPFGEを行った。DNA消化に使用した制限酵素は *NotI* であった。サイズマーカーとして *Salmonella* Braenderup H9812株のDNAを *XbaI* 消化したものを使用した。泳動像はスキャナーを用いてコンピューターに取り込み、Bionumerics ソフトウェアによるクラスター解析を行った。比較のため、異なる5種類の血清型からなるNAGビブリオ (non-O1, non-O139 *V. cholerae*) 分離株15株についても同様に処理を行い、クラスター解析に供した。その結果を図1に示す。*V. cholerae* O1株は1株を除き、NAGビブリオ株とは異なるクラスターを形成し、また、NAGビブリオはそれぞれの血清型でクラスターを形成した。各クラスター間を分ける類似度の閾

値は約75%であった。

V. cholerae O1株に関しては、ほとんど全てが80%以上の類似度を示した一方で、類似度100%を示したのは4組 (8株) のみであった。このうち3組はそれぞれ1992年南米、1997年フィリピン、2005-6年フィリピンで分離されたもので、年代および/もしくは地域によって異なるクラスターに分類された (図2)。こうした結果から、PFGEによる解析が今後のコレラ患者の疫学解析において有用であることが示唆された。

2. 赤痢菌

成田空港検疫所保存株 (2003年-2005年) 約200株 (渡航者由来株) および国内分離株約50株について、パルスネット プロトコールによるPFGEを行った。DNA消化に使用した制限酵素は *XbaI* であった。

コレラ菌と同様にして Bionumerics ソフトウェアによるクラスター解析を行った。供試菌株の8割以上は *S. sonnei* であった。残りの8割が *S. flexneri* で、および *S. boydii* が残りを占めた。渡航者由来株のクラスター解析の結果、ほぼ菌種ごとにクラスターが形成された。*S. sonnei* では比較的大きなクラスターが2つ、小さなクラスターが2つ形成された。これらは推定感染地域とある程度の相関が見られ、南アジア地域は大きいクラスターの一つ (1) に、東南アジア地域はもうひとつの大きいクラスターおよび小さいクラスターの一つ (2) に、中南米地域が別の小さいクラスター (3) に分布していた (図3)。

国内例の疫学調査から、何例かについては海外渡航者との接触が疑われるものがあり、それらの株のPFGEクラスター解析の結果は、疫学調査のそれと一致するものもあった (図4)。例えば、フィリピンに渡航していた人との接触があった患者からの分離株は、他のフィリピン渡航者由来株の近傍に位置づけされた。

2007年国内例の中には渡航歴があるものも含まれており、それらの分離株のPFGEパターンは、これまでの渡航歴由来株のクラスターの中で同

じ地域に関連したものに位置づけされた。

2007年8月および9月にタイ産 Babycorn によると思われる *S. sonnei* 集団事例がデンマークおよびオーストラリアで発生した。本集団事例関連株の PFGE パターンを本研究でのクラスター解析に組み入れると、やはり、東南アジアのクラスターに位置づけられた。その近傍にはインドネシアと抗歴のある国内分離株および渡航歴のない国内分離株もあったが、PFGE パターンには若干の違いが見られた。結果的には当該 Babycorn による国内事例は確認されなかった(2008年1月現在)。

2007年7月にS1県で発生した集団事例は、上記渡航歴由来株で観察された海外地域クラスターのいずれにも属さないものであることがわかり、本事例が非常にユニークな株によって発生したことが示唆された。

一方、S2県で発生した集団事例は南アジア地域のクラスター内に位置づけされた。本事例の株の PFGE パターンにはバリエーションがありそのため、クラスター内に散在する形となった。しかしながら、他の国内例のほとんどが東南アジアクラスターに含まれることを考えると、本集団事例関連株が特異であることが示唆された。

D. 結論

本研究ではチフス菌、パラチフス A 菌についての解析は含まれていないものの、腸チフス・パラチフス、コレラ、細菌性赤痢はいずれも輸入例が多い一方で、国内例の原因解明は不十分であることが多い。本研究のように、海外の動向も含めた形で原因菌の解析をしておくことで、今後新たに発生する国内例の疫学調査の一助になることが期待される。

E. 研究発表

M. Morita, K. Ito, K. Hirose, H. Takahashi, K. Shimuta, J. Terajima, M. Ohnishi, M. Harada, M. Matsuzaki, H. Watanabe, and H. Izumiya: Development of a real-time PCR assay for

detection of *gyrA* mutations associated with reduced susceptibility to ciprofloxacin in *Salmonella enterica* serovar Typhi and Paratyphi A. Microbiol. Immunol. 50, 707-711, 2006.

F. 知的所有権取得状況

- 1 特許取得
なし
- 2 実用思案
なし
- 3 その他
なし

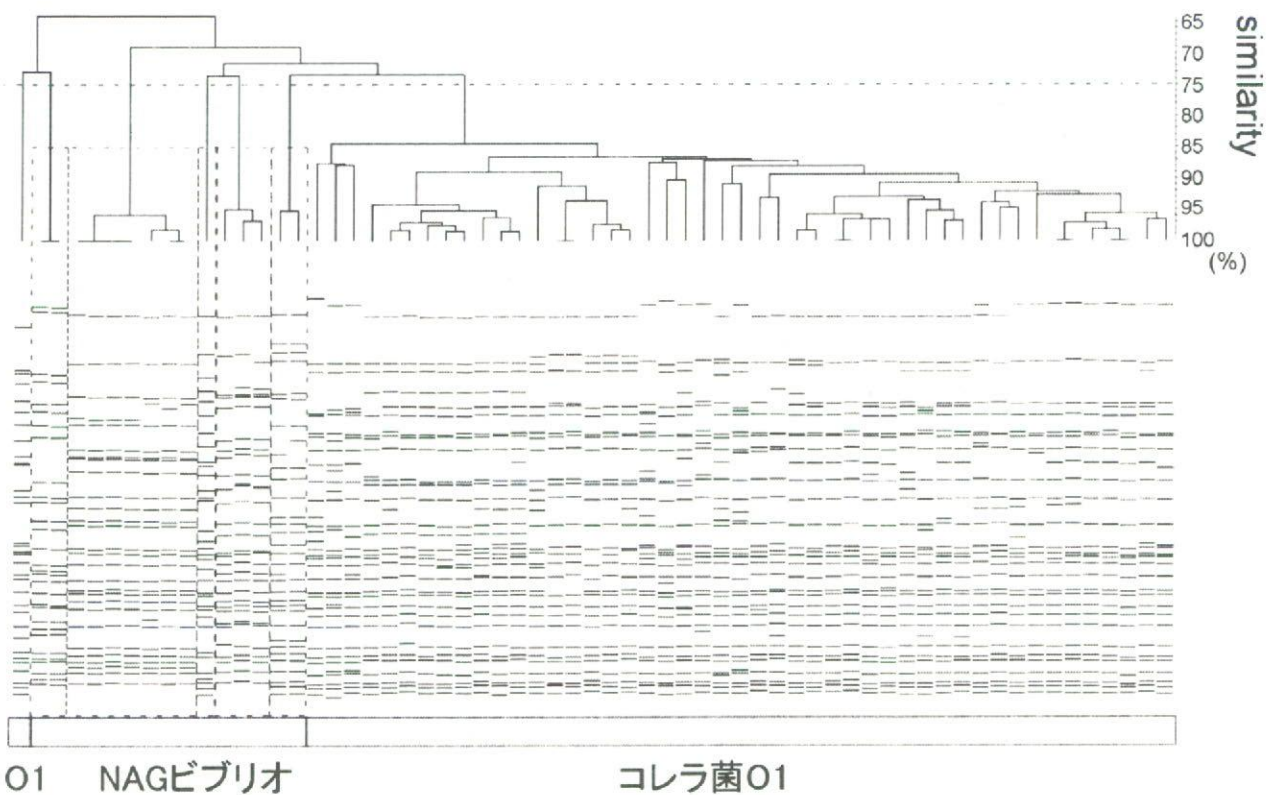


図 1. 渡航者由来コレラ菌株の PFGE クラスター解析。NAG ビブリオにおける点線は異なる血清型におけるクラスターを示す。コレラ菌 O1 は左端の 1 株を除き、全て同じクラスターに集積した。