

表 3. 輸入非加熱食肉製品から分離されたリステリアの性状

菌株番号	検体番号	原産国	血清型	リボタイプ	lineage
1-1	1	スペイン	1/2 a	DUP1047	不明
1-2	1		1/2 a	DUP1047	不明
2-1	2	スペイン	1/2b	DUP1042	I
2-2	2		1/2b	DUP1042	I
3-1	3	スペイン	3b	DUP1042	I
3-2	3		3b	DUP1041	不明
4-1	4	スペイン	1/2c	DUP1039	II
4-2	4		1/2c	DUP1039	II

平成19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

5. 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、ラオスの水牛および牛の *Campylobacter* 保菌状況ならびにネパールにおける搾乳水牛・昨乳牛の牛結核菌分離状況

分担研究者 森田 幸雄

研究協力者 Sumalee Boonmar, Khanchana Merkvichitr

Sujate Chaunchom

Pawin Padungtod

Chantha Chanda

Atty. Jane C. Bacayo, Minca S. Manantan

Vijay Chandra JHA

Subir Shingh

佐藤輝夫

Pham Ngoc Thach

藤田雅弘 塩野雅孝 鈴木智之 加藤正彦 小沢邦壽

壁谷英則 丸山総一

木村博一

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

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、ラオスの水牛および牛の *Campylobacter* 保菌状況ならびにネパールにおける搾乳水牛・搾乳牛の牛結核菌分離状況等

研究協力者 Sumalee BOONMAR Khanchana MERKVICHITR

Sujate CHAUNCHOM

タイランド: 国立カセサート大学

Pawin PADUNGTOD

タイランド: 国立チェンマイ大学

Chantha CHANDA

ラオス: 国立ラオス大学

Atty. Jane C. BACAYO Minda S. MANANTAN

フィリピン: 国立食肉検査局

Vijay Chandra JHA

ネパール: 国立家畜研究所

Subir SHINGH

ネパール: 国立トリブパーン大学

佐藤輝夫

ネパール: J.I.C.A.

Pham Ngoc THACH

ベトナム: 国立ハノイ農業大学

藤田雅弘 塩野雅孝 鈴木智之 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。アジア諸国のうち欧州、米国、日本に加工食品を輸出しているタイや中国では食品や家畜の食中毒菌に関する報告はアジア諸国のなかでは比較的多く、年々その報告数も増加しているが、それでも十分とはいえない。他の国々(インドネシア、フィリピン、マレーシア等)では公表されている食中毒に関する論文は極めて少ないか無い状況である。東南アジアの国々に共通していることは、健康人の食中毒菌保菌率が高いということである。また、ネパールでは水牛や牛の牛結核も制御されておらず、アジア諸国では食中毒菌による危害のみならず、動物由来感染症による危害についても考慮に入れなければならないと思われる。アジア諸国は食品輸出産業に力をいれており、欧州、米国、そして日本に食品や食肉(加工食肉)を輸出するため食品工場では ISO や HACCP の導入が進んでいる。しかしながら、従業員の食中毒菌の保菌検査、食肉中の食中毒菌の汚染検査、食肉中の薬剤残留物質検査等の健康危害にかかわる検査実施状況および検査技術はかならずしも十分であるとはいえない。食品を輸入する際には、その国の衛生状態を把握し、原材料の管理、従業員の健康管理等幅広い衛生管理が必要と思われる。

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 19 年度は平成 18 年度に引き続き、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。また、フィリピン(国立食肉検査局)およびネパール(国立トリブバン大学)を訪問し、これらの機関と共同して家畜や食肉からの *Salmonella* と *Campylobacter* 分離状況調査を実施した。

さらに、タイおよびラオスとの共同研究(タイ国立カセサート大学、国立チェンマイ大学、ラオス国立ラオス大学)として、ラオスの牛および水牛の糞便からの *Campylobacter* 属菌の分離、ネパールとの共同研究(ネパール国立家畜研究所、国立トリブバン大学、ネパール J.I.C.A.)として、ネパールの搾乳水牛および牛からの牛結核菌の分離を実施した。

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、平成 18 年度の検索結果に追加して考察した。

2. ラオスとの共同研究によるラオスの牛および水牛の *Campylobacter* 保菌状況調査

2006 年 5 月から 9 月の間に、ラオス、ビエンチャンのと畜場搬入牛(糞便 80 頭)と水牛(糞便 184 頭、胆汁 100 頭)のカンピロバクター保菌状況を調査した。糞便は Cary-Blair 培地に入れたものを、胆汁はシリンジで採取したものを 4°C 保存し、30 時間以内に検査に供した。増菌培地は Preston 液体培地を、分離培地は mCCDA 培地を用いた。分離培地上で *Campylobacter* と疑われる集落については生化学的性状試験を実施し、同定した。

3. ネパールとの共同研究によるネパールの搾乳水牛および牛の牛結核菌保有状況調査

ネパールのツベルクリン反応陽性を示した水牛 36 頭、牛 32 頭の直腸便および乳(農家にて搾乳した生乳)を検体とした。直腸便はアクリフラビン処理の後、4%NaOH 処理したものを、乳は遠心分離後の上清を 7H9 液体培地で増菌培養したものを、Tween 卵培地に接種し、37°C で 30-60 日間分離培養を実施した。発育した集落については Tween 卵培地で純培養を行った後、Ziehl-Neelsen 染色陽性を確認した。本集落については蒸留水に浮遊させ煮沸(100°C、10 分間)し、DNA 抽出を実施した。抽出した DNA は農林水産省および厚生労働省の許可のもとに日本に持ち込み、Kim ら(1999)の *rpoB* 遺伝子解析および Bakshi ら(2005)の PCR 法を実施し、菌種の同定を行った。

4. フィリピンおよびネパールとの家畜および食肉中の *Salmonella* ならびに *Campylobacter* 保有状況調査

フィリピンでは(National Meat Inspection Service:国立食肉検査局)、ネパールでは国立トリブバン大学と共同して家畜および食肉中の *Salmonella* および *Campylobacter* 保有状況調査を実施した。

Salmonella はハーナテトラチオン酸塩培地で増菌後、BGM 培地で分離培養を、*Campylobacter* はプレストン培地で増菌後、mCCDA 培地で分離培養を実施した。

C. 研究結果

1. アジア諸国の衛生状態情報

Pub-Med(H20年3月1日現在と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おり、食中毒のみの問題ではなく、感染症対策が必要な国々であると思われた。

タイ: 比較的調査論文が多く、また、継続的に調査が実施されていた。*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。Treebupachatsakul P ら(2006)により、*Listeria* による脳膿瘍が初報告された。

ベトナム: 平成18年から平成19年の一年間に新たに報告された調査報告は少ない。

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高く、*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。豚肉や家畜の保菌率調査報告を検索することはできなかった。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提唱している。

フィリピン: 平成18年から平成19年の一年間に新たに報告された調査報告は少ない。また、動物・食肉からの分離報告はきわめて少ない。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。下痢症患者の8-12%から *Salmonella* が、3-4%から *Campylobacter* が検出されている。一方、下痢症状を呈していないヒトにおいても *Salmonella* は5-8%、*Campylobacter* は1-2%の検出率であり、下痢の有無における検出率の有意差は無かった($p>0.01$)。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)。腸管出血性大腸菌に関する調査報告は確認できなかった。

我々らの現地基礎調査では、10頭中1頭

の牛の糞便から *S. Saintpoul* が分離された。また、*Campylobacter* は 10 頭中 2 頭の牛の糞便、10 頭中 2 頭の豚の糞便、20 検体中 1 検体の鶏肉から分離された。

中国:平成 18 年から平成 19 年の一年間に新たに報告された調査報告は少ない。また、今までの *Salmonella* や *Campylobacter* の動物や食肉からの報告は少ない。*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)により報告されてから、O157 は患者のみならず、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:平成 18 年から平成 19 年の一年間に新たに報告された調査報告は少ない。また、*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:平成 18 年から平成 19 年の一年間に新たに報告された調査報告は少ない。また、*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:平成 18 年から平成 19 年の一年間に新たに報告された調査報告は少ない。また、動物や食肉に関する調査はほとんど実施されていない。入院患者についての原因物質調査が実施されており、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繁に検出されている。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。

我々の現地基礎調査では、50 頭中 4 頭(8%)の水牛の糞便および 49 頭中 37 頭(76%)の豚の糞便から *Salmonella* が分離された。また、*Campylobacter* は 184 頭中 3 頭の水牛の糞便から分離されたが、82 頭の牛の糞便からは分離することはできなかった。

2. タイとの共同研究によるラオスの牛および水牛の *Campylobacter* 保菌状況調査

水牛では、1.6%(3/184)の盲腸内容と 1%(1/100)の胆汁から分離され、2 頭の盲腸

内容と1頭の胆汁分離株は *C. jejuni*、1頭の盲腸内容分離株は *C. fetus* であった。乳牛(82頭)は本菌を保菌していなかった(表2)。雨期と乾期の保菌率の有意差はなかった。

3. ネパールとの共同研究によるネパールの搾乳水牛および牛の牛結核菌保有状況調査

39%(14/36)の水牛ならびに34%(11/32)の牛から36株の *Mycobacterium* 属菌が分離された。36株中28株は8菌種に同定され、13株は *M. bovis*、6株は *M. thermoresistibile*、2株は *M. xenopi*、2株は *M. fortuitum*、2株は *M. chelonae*、1株は *M. gordonae*、1株は *M. ulcerans*、1株は *M. kansasii* であり、残りの8株は同定不能であった。牛結核菌は17%(6/36)の水牛、16%(5/32)の牛が保有し、2頭は糞便と乳から、6頭は乳のみから、3頭は糞便のみから分離された(表3)。

4. フィリピンおよびネパールとの家畜および食肉中の *Salmonella* ならびに *Campylobacter* 保有状況調査

フィリピン:10頭中1頭の牛の糞便から *S. Saintpaul* が分離された。また、*Campylobacter* は10頭中2頭の牛の糞便、10頭中2頭の豚の糞便、20検体中1検体の鶏肉から分離された。分離菌の薬剤感受性試験および *Campylobacter* の同定試験は現在実施中である。

ネパール:牛の糞便21検体、鶏の糞便10検体についてサルモネラとカンピロバクターの分離を試みたところ、*Salmonella* は検出されなかったが、6検体の牛および3検体の鶏から *Campylobacter* が検出された。

Campylobacter の薬剤感受性試験および同定試験は現在実施中である。

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調査報告は少ない。また、平成18年から平成19年の一年間に、新たに研究・報告された調査報告も少ないことが判明した。アジア諸国では *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的に重要な課題であることが確認された。特に、熱帯地域ではチフスの発生が深刻であり、ベトナム・バングラディッシュでは *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。

タイやベトナムにおける動物や食肉からの食中毒菌検出に関する研究は、他のアジア諸国と比較すると数多く実施され、報告されている。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年より報告されている。腸管出血性大腸菌症に関する疫学報告も頻繁に行われており、調査したアジア諸国の中では唯一多くの報告が存在した。また、ラオスでは赤痢、バングラディッシュではコレラが下痢症患者から分離されるという特徴を有していた。さらに、中国やマレーシアでは食品中の *Listeria* モニタリングも実施しているが、調査した他の国々では食品中の *Listeria* に関する報告はみあたらなかった。

S. Typhi を含めた *Salmonella* や *Campylobacter* では、患者分離株や動物分離株にかかわらず、キノロン系抗生物質耐性菌の出現に関する調査報告が多数認められていることから、これらの国々からの輸入食品についてはキノロン系抗生物質耐性菌についてモニタリングする必要があると思われる。

アジア諸国では非下痢症患者や健康な人も食中毒菌を保菌していることがある。よって、アジア諸国の食品製造施設から食品を輸入する際には、その国で流行、または日常的に存在する食中毒や感染症について把握するとともに、製造施設での従業員の衛生管理、すなわち就労前の検便や定期的な検便を実施しているか否かについても確認することが重要と思われた。

2. タイとの共同研究によるラオスの牛および水牛の *Campylobacter* 保菌状況調査

ラオスでは牛と水牛のカンピロバクター保菌率が低いため、牛と水牛は人の *Campylobacter* 感染症の主要な疫学的要因ではないと思われた。本年度は高病原性鳥インフルエンザの流行から、鳥の検査ができなかった。今後は、鳥を含め食肉の検査を実施したい。

3. ネパールとの共同研究によるネパールの搾乳水牛および牛の牛結核菌保有状況調査

本研究により、ネパールには多くの牛結核に罹患した搾乳水牛および牛が存在することが判明した。WHO では牛結核の撲滅には罹患動物の test-and-slaughter policy が必要であるとしている。しかしながら、ネパールはヒンズー教を国教としており、牛について test-and-slaughter policy を実施することは不可能である。ツベルクリン反応陽性牛の隔離や生乳の確実な牛乳殺菌の実施等が緊急に必要であるとともに、ネパール国民に適切な感染症の情報や教育を実施することが必要であると思われた。

4. フィリピンおよびネパールとの家畜および食肉中の *Salmonella* ならびに *Campylobacter* 保有状況調査

本研究により、フィリピンおよびネパールの

家畜の *Salmonella* と *Campylobacter* 保菌状況の一部が判明した。分離菌についてはさらに詳細な検査を実施し、各国に分布する菌の特徴を把握したい。*Campylobacter* はその発育条件として好気条件が必要であることが、アジア諸国で検査が実施されない理由のひとつである。本共同研究によって好気条件が簡単に作製できるガスパックや分離培地を提供するとともに、分離方法・同定方法を含めた技術指導を実施した。フィリピン、ネパールでは食中毒菌に関する情報がきわめて少ないことから、今後の共同研究の継続により、より詳細な検査成績が得られると思われる。なお、これらの成果については平成 20 年度に学会発表・論文公表を行いたい。

参考文献

- Yang CD, Wang XD, Ye S, Gu YY, Bao CD, Wang Y, Chen SL. Clinical features, prognostic and risk factors of central nervous system infections in patients with systemic lupus erythematosus. Clin Rheumatol. 2007 ;26(6):895-901.
- Treebupachatsakul P, Srifeungfung S, Chayakulkeeree M. Brain abscess due to *Listeria monocytogenes*: first case report in Thailand. J Med Assoc Thai. 2006 ;89(9):1516-1520.
- Hernandez J, Fayos A, Ferrus MA, Owen RJ. Random amplified polymorphic DNA fingerprinting of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* isolated from human faeces, seawater and poultry products. Res Microbiol. 1995;146(8):685-696.
- Isenbarger DW, Hoge CW, Srijan A, Pitarangsi C, Vithayasai N, Bodhidatta L, Hickey KW, Cam PD. Comparative antibiotic resistance of diarrheal pathogens

- from Vietnam and Thailand, 1996-1999. *Emerg Infect Dis.* 2002;8(2):175-180.
- Olsen SJ, DeBess EE, McGivern TE, Marano N, Eby T, Mauvais S, Balan VK, Zirnstein G, Cieslak PR, Angulo FJ. A nosocomial outbreak of fluoroquinolone-resistant *salmonella* infection. 1: *N Engl J Med.* 2001;344(21):1572-1579.
- Chen Z, Lu D, Wan S. Epidemiological investigation of *Campylobacter Jejuni* infection in children. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi.* 1995; 29(3):144-146.
- Xu JG, Quan TS, Xiao DL, Fan RR, Li LM, Wang CA. Isolation and characterization of *Escherichia coli* O157:H7 strains in China. *Curr Microbiol.* 1990;20:299-303
- Fu P, Ran L, Li Z, Yao J. Investigation on the contamination of *Listeria monocytogenes* in seven kinds of foods. *Wei Sheng Yan Jiu.* 1999;28(2):106-107.
- Hassan Z, Purwati E, Radu S, Rahim RA, Rusul G. Prevalence of *Listeria* spp and *Listeria monocytogenes* in meat and fermented fish in Malaysia. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2001; 32(2):402-407.
- Padungtod P, Kaneene JB, Hanson R, Morita Y, Boonmar S. Antimicrobial resistance in *Campylobacter* isolated from food animals and humans in northern Thailand. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2006;47 (2):217-225.

E. 結論

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、平成 18 年から平成 19 年の一年間に新たに報告された調査報告もきわめて少ないことが判明した。これらの国々では

Salmonella や *Campylobacter* 等の食中毒菌の他にチフス、赤痢、コレラ、そして結核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。また、食品流通過程における二次汚染や、その国に生活している人々が食中毒菌を保菌していることもあることから、食品製造を扱う上では、取扱者の衛生教育や検便等の実施状況についても監視しなければならないと思われる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- Sumalee BOONMAR, Yukio MORITA, Masahiro FUJITA, Leelaowadee SANGSUK, Karun SUTHIVARAKOM, Pawin PADUNGTOD, Soichi MARUYAMA, Hidenori KABEYA, Kunihisa KOZAWA, Hirokazu KIMURA, Serotypes, antimicrobial susceptibility, and *gyr A* gene mutation of *Campylobacter jejuni* isolates from humans and chickens in Thailand. *Microbiology and Immunology,* 51(5), 531-537.
- Sumalee BOONMAR, Chantha CHANDA, Khanchana MARKVICHITR, Sujate CHAUNCHOM, Sangchai YINGSAKMONGKON, Shigeki Yamamoto, Yukio MORITA, Prevalence of *Campylobacter* spp. in Slaughtered Cattle and Buffaloes in Vientiane, Lao People's Democratic Republic, *Journal of Veterinary Medical Science,* 69(8): 853-855.
- Vijay Chandra JHA, Yukio MORITA, Mermagya DHAKAL, Bishunu BESNET, Teruo SATO, Akira NAGAI, Masahiko KATO, Kunihisa KOZAWA, Shigeki

YAMAMOTO, Hirokazu KIMURA (2007),
Isolation of *Mycobacterium* spp. from
milking buffaloes and cattle in Nepal,
Journal of Veterinary Medical Science,
69(8): 819-825.

2.学会発表

Sumalee BOONMAR, 森田幸雄、Chantha
CHANDA, Kanchana MARKVICHITR,
Sujate CHAUNCHOM, Sangchai
YINGSAKMONGKON, 藤田雅弘、加藤政
彦、山本茂貴、丸山総一、木村博一、
Prevalence of *Campylobacter* spp. in
Slaughtered Cattle and Buffaloes in
Vientiane, Lao People's Democratic
Republic 日本食品微生物学会、東京(発表9
月26日)

森田幸雄、Vijay Chandra JHA, Mermagya
DHAKAL, Bishunu BESNET, 佐藤輝夫、長
井章、加藤政彦、丸山総一、小澤邦壽、山
本茂貴、ネパールにおける搾乳牛からのミコ
バクテリウム属菌の分離、日本食品微生物
学会、東京(発表9月26日)

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1-1 Pub-Medにおける検索項目ごとの文献数

(各国の上段は平成19年3月1日現在、下段は平成20年3月1日現在)(数字は文献数を示す)

国名	Salmonella					Campylobacter				O157(STEC)				Listeria			
	Typhi	animal	food	patients		animal	food	patients	animal	food	patients	animal	food	patients	animal	food	patients
タイランド	171	27	37	40	47	69	13	12	22	11(5)	7(2)	5(1)	3(1)	9	1	5	1 ¹⁾
	181	28	43	46	48	76	17	13	23	13(5)	8(2)	6(1)	4(1)	9	1	5	1 ¹⁾
ベトナム	99	48	14	10	25	7	0	2	2	1(0)	1(0)	0(0)	0(0)	0	0	0	0
	112	52	18	14	26	8	2	2	2	1(1)	2(1)	0(0)	0(0)	0	0	0	0
フィリピン	43	7	10	4	11	5	1	1	2	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1	0	0	0
	44	7	10	4	11	5	1	1	2	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1	1	1	0
中国	179	29	41	40	27	72	12	7	34	23(3)	10(3)	11(1)	9(1)	8	4	7	0
	194	33	43	47	29	74	12	7	35	24(4)	10(4)	12(1)	9(1)	12	4	10	1 ²⁾
インドネシア	103	51	11	9	44	12	4	0	6	1(0)	0(0)	0(0)	1(0)	2	0	0	1
	111	54	12	10	45	13	4	0	7	1(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3	0	1	1
マレーシア	84	24	13	17	19	12	3	0	3	2(0)	1(0)	1(0)	0(0)	5	1	5	0
	88	25	14	17	19	14	4	1	3	3(0)	1(0)	1(0)	1(0)	5	1	5	0
バングラディッシュ	63	35	3	3	26	29	8	3	19	2(2)	0(0)	1(0)	0(1)	1	1	1	0
	69	36	3	3	28	30	8	3	20	2(2)	0(1)	1(0)	0(1)	1	1	1	0
ラオス	10	0	1	0	3	3	0	1	1	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0	0	0	0
	12	0	2	1	3	4	1 ³⁾	1	1	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0	0	0	0

1)初報告: Treebupachatsakul P, Srifeungfung S, Chayakulkeeree M. Brain abscess due to *Listeria monocytogenes*: first case report in Thailand. J Med Assoc Thai. 2006 Sep;89(9):1516-20.

2)初報告: Yang CD, Wang XD, Ye S, Gu YY, Bao CD, Wang Y, Chen SL. Clinical features, prognostic and risk factors of central nervous system infections in patients with systemic lupus erythematosus. Clin Rheumatol. 2007 Jun;26(6):895-901.

3)初報告: Boonmar S, Chanda C, Markvichitr K, Chaunchom S, Yingsakmongkon S, Yamamoto S, Morita Y. Prevalence of *Campylobacter* spp. in slaughtered cattle and buffaloes in Vientiane, Lao People's Democratic Republic. J Vet Med Sci. 2007 Aug;69(8):853-5.

表1-2 各国の患者、動物、食肉からの *Salmonella*、*Campylobacter*、STEC(O157)

の分離率(平成20年3月1日現在)

(数字は分離率:%を示す)

国名	<i>Salmonella</i>						<i>Campylobacter</i>						STEC(O157)					
	下痢症 非下痢 患者 症患者		動物			食肉			下痢症 非下痢 患者 症患者		動物			下痢症 患者		動物		
	牛	豚	鶏	牛肉	豚肉	鶏肉	牛	豚	鶏	豚肉	鶏肉	牛	牛肉	豚肉				
タイランド	7-18	5-36 ^a	4	6-28	4-9	3	29-65	57-75	28	4	14	73	36-64	23	47	2-19	4	
ベトナム			5-50	8	49	70	8-49							28-31		8		
フィリピン	8-12	5-8	10 ^a						3-4	1-2	20 ^a	20 ^a	0*	5 ^a -6 ^b				
中国	11-45 ^c					55 ^d			5-12	5 ^e				3	3	2	5	1
インドネシア	26								2-10									
マレーシア				14			36-50											36
バングラディッシュ	1-17	12							5									
ラオス	1		8 ^a *	76 ^a *					3-4		0 ^a -2 ^a *					0.1 ^f		

a:健康人保菌者5%、牛の世話をしている農夫36%、牛の世話をしていない農夫36%

c:45%は分離病原体に対する割合

e:健康な子供の5.01%が *C. jejuni* を保菌

g:水牛

b:鶏・鴨肉

d:枝肉

f:O111(論文中にはEHECと記載)

*:我々の現地調査によって判明した分離率(未発表も含む)

表2 ラオスの水牛および牛の糞便ならびに胆汁からの*Campylobacter* 属菌分離状況

動物種	検体	検体数	陽性検体数 (%)	菌種	菌株数
牛	糞便	82	0		
水牛	糞便	184	3 (1.6)	<i>C. jejuni</i>	2
				<i>C. fetus</i>	1
	胆汁	100	1 (1.0)	<i>C. jejuni</i>	1

表3 ネパールのツベルクリン陽性搾乳水牛および牛からの*Mycobacterium*属菌の分離状況

地域	水牛			牛			合計		
	ツベルクリン陽性頭数	<i>Mycobacteria</i> 分離頭数 (%)	牛結核菌分離頭数 (%)	ツベルクリン陽性頭数	<i>Mycobacteria</i> 分離頭数 (%)	牛結核菌分離頭数 (%)	ツベルクリン陽性頭数	<i>Mycobacteria</i> 分離頭数 (%)	牛結核菌分離頭数 (%)
カトマンズ	9	3 (33)	0 (0)	14	3 (21)	0 (0)	23	6 (26)	0 (0)
カスキー地域	27	11 (41)	6 (22)	18	8 (45)	5 (28)	45	19 (42)	11 (24)
計	36	14 (39)	6 (17)	32	11 (34)	5 (16)	68	25 (37)	11 (16)

平成19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

6. 輸入畜水産食品の食中毒菌汚染実態調査

主任研究者 山本茂貴
委託事業 齋藤文一（日本分析センター）

平成19年度

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

輸入畜水産食品の食中毒菌汚染実態調査

機 関 名 財団法人 日本食品分析センター

研究者氏名 理事長 齋藤 文一
(契約者)

1 調査目的

食中毒の発生防止対策を策定するための基礎として、輸入畜水産食品における食中毒菌の汚染実態調査を実施する。

2 調査内容

1) 調査対象(検体)

国内に流通する輸入魚介類及び輸入食肉類(牛肉、豚肉及び鶏肉)のうち、国内において微生物汚染を被っていない食品(未開封品)を調査対象とした。

2) 検体の入手

国内に流通する輸入魚介類及び輸入食肉類(牛肉、豚肉及び鶏肉)のうち、国内において微生物汚染を被っていない食品(未開封品)を食品取扱業者等から購入して検体とした。

3) 食中毒菌検査の実施

検体について実施した食中毒菌の検査項目を表-1に示した。

表-1 検体及び検査項目

検 体	検査項目
輸入魚介類	腸炎ビブリオ
輸入牛肉	サルモネラ, 腸管出血性大腸菌O157, カンピロバクター・ジェジュニ/コリ
輸入豚肉	サルモネラ
輸入鶏肉	カンピロバクター・ジェジュニ/コリ

4) 食中毒菌検査の方法

① 腸炎ビブリオ

検体 25 g にアルカリペプトン水 225 ml を加え、ストマッキング処理した試料を 37±1℃ で一夜培養した。培養液の上層 1 白金耳量を TCBS 寒天培地及びクロモアガービブリオ培地に画線塗抹し、37±1℃ で一夜培養した。

培養後、寒天培地上に腸炎ビブリオと疑われる集落が出現した場合は、鑑別同定試験を実施し、腸炎ビブリオか否かを判定した。

② サルモネラ

検体 25 g に緩衝ペプトン水(BPW)225 ml を加え、ストマッキング処理した試料を $35\pm 1^{\circ}\text{C}$ 、 22 ± 2 時間培養した。BPW 培養液 0.1 ml をラパポート・バシリアディスブイヨン(RV)10 ml に、また、BPW 培養液 1 ml をテトラチオネートブイヨン(TT)10 ml に接種し、 $42\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ (恒温水槽を使用)で 22 ± 2 時間培養した。

次に、各培養液(RV 及び TT)の 1 白金耳量を XLD 寒天培地及びブリアントグリーン寒天培地に画線塗抹し、 $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ で 22 ± 2 時間培養した。培養後、寒天培地上にサルモネラと疑われる集落が出現した場合は、鑑別同定試験を実施し、サルモネラか否かを判定した。

③ 腸管出血性大腸菌 O157

検体 25 g にノボビオシン加 mEC 培地 225 ml を加え、ストマッキング処理した試料を $42\pm 1^{\circ}\text{C}$ で 22 ± 2 時間培養した。

次に、培養液 1 ml を分取し、免疫磁気ビーズを用いて濃縮処理を行った。濃縮処理後の培養液及び未処理の培養液の 1 白金耳量をそれぞれ CT-SMAC 寒天培地及びクロモアガー O157 TAM 培地に画線塗抹し、 $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ で 22 ± 2 時間培養した。培養後、寒天培地上に腸管出血性大腸菌 O157 と疑われる集落が出現した場合は、鑑別同定試験を実施し、腸管出血性大腸菌 O157 か否かを判定した。

④ カンピロバクター・ジェジュニ/コリ

検体 25 g に Bolton ブイヨン 225 ml を加え、ストマッキング処理した試料を $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ で 4 時間微好気培養した後、更に $42\pm 1^{\circ}\text{C}$ で 24～44 時間微好気培養した。

次に、培養液の 1 白金耳量を mCCDA 培地に画線塗抹し、 $42\pm 1^{\circ}\text{C}$ で 24～48 時間微好気培養した。培養後、寒天培地上にカンピロバクターと疑われる集落が出現した場合は、鑑別同定試験を実施し、カンピロバクター・ジェジュニ/コリか否かを判定した。

3 調査結果

食中毒菌の検査結果を表-2～5 に示した。

表-2 輸入魚介類の食中毒菌検査結果

検 体	腸炎ビブリオ (/25 g)
ブラックタイガー(フィリピン産)	陰性
メバチ(インドネシア産)	陰性
ウナギ(中国産)	陰性
サーモン(ノルウェー産)	陰性
ズワイガニ(米国産)	陰性
ウニ(チリ産)	陰性
コウイカ(モロッコ産)	陰性
ヤリイカ(米国産)	陰性
クロマグロ(チリ産)	陰性
イトヨリ(タイ産)	陰性

表-3 輸入牛肉の食中毒菌検査結果

検 体	サルモネラ (/25 g)	EHEC O157 (/25 g)	カンピロ (/25 g)
メキシコ産牛肉①	陰性	陰性	陰性
メキシコ産牛肉②	陰性	陰性	陰性
カナダ産牛肉①	陰性	陰性	陰性
カナダ産牛肉②	陰性	陰性	陰性
オーストラリア産牛肉①	陰性	陰性	陰性
オーストラリア産牛肉②	陰性	陰性	陰性
ニュージーランド産牛肉①	陰性	陰性	陰性
ニュージーランド産牛肉②	陰性	陰性	陰性
中国産牛肉①	陰性	陰性	陰性
中国産牛肉②	陰性	陰性	陰性

EHEC O157 : 腸管出血性大腸菌 O157

カンピロ : カンピロバクター・ジェジュニ/コリ

表-4 輸入豚肉の食中毒菌検査結果

検 体	サルモネラ (/25 g)
カナダ産豚肉①	陰性
カナダ産豚肉②	陰性
韓国産豚肉①	陰性
韓国産豚肉②	陰性
米国産豚肉①	陰性
米国産豚肉②	陰性
デンマーク産豚肉①	陰性
デンマーク産豚肉②	陰性
メキシコ産豚肉①	陰性
メキシコ産豚肉②	陰性

表-5 輸入鶏肉の食中毒菌検査結果

検 体	カンピロ (/25 g)
米国産鶏肉①	陰性
米国産鶏肉②	陰性
タイ産鶏肉①	陰性
タイ産鶏肉②	陰性
ブラジル産鶏肉①	陰性
ブラジル産鶏肉②	陰性
中国産鶏肉①	陰性
中国産鶏肉②	陰性
デンマーク産鶏肉①	陰性
デンマーク産鶏肉②	陰性

カンピロ：カンピロバクター・ジェジュニ/コリ

以 上