

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モニタリングプラン策定方法に関する研究
分担研究項目:アジアでの食品汚染実態および文献調査

研究協力者 Sumalee BOONMAR Possawat JORAKATE Pongpun SAWATWONG

タイランド: Thailand MOPH – US.CDC Collaboration

Chaiwat Pulsrikarn Srirat Pornrungwong Pathom Sawanpanyalert

タイランド: WHO International Salmonella & Shigella Center

Pawin PADUNGTOD タイランド: FAO, Regional Office for Asia and the Pacific

Atty. Jane C. BACAYO Minda S. MANANTAN

Haidee E. TORIO Rayne A. BIGAY

フィリピン: 国立食肉検査局

Subir SHINGH

ネパール: 国立トリブバン大学

井出誠弥 佐藤輝夫

ネパール: J.I.C.A.

鈴木智之 藤田雅弘 小畑 敏 小澤邦壽

群馬県衛生環境研究所

古茂田恵美子

東京家政大学

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

東京家政大学

研究要旨

アジア諸国の食品衛生に関する情報を分析した。アジア諸国のうちタイ、ベトナム、中国では食品や家畜の食中毒菌に関する報告は比較的多く、特に中国の報告数は年々増加していた。アジア諸国に共通していえることは、*Salmonella*に関する報告の多くはS. TyphiやS. Paratyphi感染症によるもの、健康人の食中毒菌保菌率が高い、ということであった。また、炭酸飲料水の*Salmonella*汚染(バングラディッシュ)や野菜の*Salmonella*や*Campylobacter*汚染(マレーシア)等、特殊な感染源も存在した。現地調査として、タイの患者血液からの*Salmonella*の分離およびラオスの水牛から*Campylobacter*の分離を試みた。患者血液2,105検体(13.9%)から病原体が検出され、最も高率に分離された病原体は大腸菌(395検体: 18.8%)で、次いで*Bukholderia*(152検体: 7.2%)、*Klebsiella pneumoniae*(115検体: 5.5%)、*Salmonella*(97検体: 4.6%)、黄色ブドウ球菌(97検体: 4.6%)であった。分離された*Salmonella* 97株は12の血清型に型別され、最も高率に分離された血清型はS. Choleraesuis(55株)、次いでS. Enteritidis(28株)であった。ラオスでは6%(3/50)の水牛の糞便から*C. coli* が分離され、菌株によってはABPC、NA、CPF_X等にも耐性をもつ株もあることが判明した。現在、口蹄疫や鳥インフルエンザ流行のため、アジア諸国から生肉が輸入されることがない。しかし、中国、タイ等ではニューキノロン系抗生物質をはじめとした多くの抗生物質耐性*Salmonella*や*Campylobacter*の出現が問題となっている。食品を輸入する際には、その国の家畜の飼育状態等の家畜衛生や従業員の生活している衛生状態を把握し、食品への食中毒菌汚染状況やその菌の抗生物質の耐性等を考慮にいれ、総合的に監視する必要があると思われる。

A. 研究目的

近年、海外渡航歴のない人に赤痢やコレラの患者が報告されている。この人たちの中には海外渡航者との接触歴がない者があり、食品を介して感染した可能性が考えられている。原因食品としては輸入食品の可能性があり、実際、韓国からの輸入カキによる赤痢が報告されている。それ以外にも、輸入エビによるコレラ、輸入牛肉による腸管出血性大腸菌 O157、輸入水産食品が原因の腸炎ビブリオなど輸入畜水産食品による食中毒が報告されている。

今回、我々はタイ・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。また、タイ(Thailand MOPH - US. CDC Collaboration)を訪問し、共同して敗血症患者の血液からの病原細菌分離状況調査と分離された *Salmonella* の薬剤感受性試験等を実施した。さらに、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、ラオスの水牛の糞便から *Campylobacter* の分離報告を行った。

B. 研究方法

1. アジア諸国の衛生状態情報の入手

タイランド、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、ネパールの衛生状況調査は 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「タイの田舎に居住する患者から分離されるサルモネラの

特徴」(学会発表:Boonmar ら, 2009)

2008 年にタイ-カンボジア国境の街サカオ(Sakao)とタイ-ラオス国境の街ナコンパノム(Nakorn Phanom)の病院に来院した 15,100 名の患者の血液を検体として automated blood culture system (BacT/ALERT, Biomerieux, NC, USA)を用いて細菌の検出を試みた。さらに、分離された *Salmonella* については薬剤感受性試験(10種類の薬剤ディスク(Oxoid, USA):AMP:アンピシリン 10 μ g, AUG:アモキシシリン 20 μ g+クラブラン酸 10 μ g, セフトキシム 30 μ g, ストレプトマイシン 10 μ g, テトラサイクリン 30 μ g, クロラムフェニコール 30 μ g, ナリジクス酸 30 μ g, ノルフロキサシン 30 μ g, シプロフロキサシン 5 μ g, スルファメトキサゾール 23.75 μ g+トリメプリーム 1.25 μ g)を実施した。

3. ラオスとの共同研究による「ラオスの水牛から分離された *Campylobacter coli* の薬剤感受性」(論文発表:Morita ら, 2009)

ラオス、ピエンチャンの Dorn Du 食肉処理場において 50 頭の水牛の糞便をカルチャースワブ(BD BBL, USA)で採取し、冷蔵保存状態でタイ、バンコクのカセサート大学に輸送し、*Campylobacter* の分離を試みた。増菌培養としてプレストン培地を、分離培地はmCCDA 培地を用いて分離培養を実施した。分離されたカンピロバクターについては薬剤感受性試験(アンピシリン、クロラムフェニコール、エリスロマイシン、テトラサイクリン、ナリジクス酸、セフトリアキソン、シプロフロキサシン)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(H22年3月22日、H21年2月

15日、H20年3月1日、平成19年3月1日)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、ネパール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、ネパールでは *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、アジアの多くの国々では *Salmonella* は食中毒のみの問題ではなく、*S. Typhi* や *S. Paratyphi* による感染症として問題となっていた。平成20年度から中国の論文数が激増し、平成21年度においても増加している。中国国内で書かれた文献も Pub-Med 上で検索が可能となったことによるものと思われる。

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る。*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47-65%が汚染されている(Chansiripornchai N ら:2009)。*Salmonella* では鶏から *S. Enteritidis*、*S. Amsterdam*、*S. Weltevreden* 等の血清型が、豚では *S. Stanley*、*S. Bailla*、*S. Stanley*、*S. Thyphimurium* 等の血清型が、患者からは *S. Enteritidis*、*S. Stanley*、*S. Weltevreden*、*S. Rissen* 等の血清型が多く分離され、さらに、ニューキノロン系抗生物質をはじめ、多くの抗菌性物質に対して耐性を持っていることが報告されている(Hendriksen RS ら:2009、Chuanchuen R ら:2008)。野菜からの

Salmonella 分離報告としては、「病院で提供されている304検体のうち1検体から *Salmonella* が分離されること(Dhiraputra C ら:2005)」、および、「8.7%(30/344)のもやしから *Salmonella* が分離されていること(Jemgklinchan J ら:1993)」がある。

Kalnauwakul S ら(2007)はタイ南部の病院で下痢症患者493検体から *E.coli* O157 の検出を試みたが O157 は検出されていない。牛の STEC の保菌率は2-19%との報告があるが、O157 による人の発生は少ないと思われる。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。食中毒患者は1996年で137名/100,000名であったものが、2004年では248名/100,000名、2006年では217名/100,000名であるとの統計があり、また、原因物質はロタウイルス、*Salmonella* および *Campylobacter* が多いと報告している(Padungtod P ら:2008)。*Listeria* による脳膿瘍は Treebupachatsakul P ら(2006)によりタイでの初報告がなされた。また、食品中の *Listeria* 汚染調査も実施され、焼き鳥(ローストチキン)の冷凍品の2%、蒸し鳥(スチームドチキン)の冷凍品の2%から本菌が検出されている(Keeratipibul S:2009)。

参考文献

- Chansiripornchai N ら. PCR detection of four virulence-associated genes of *Campylobacter jejuni* isolates from Thai broilers and their abilities of adhesion to and invasion of INT-407 cells. *J Vet Med Sci.* 2009. 71(6):839-44.
- Suzuki H ら. *Campylobacter* contamination in retail poultry meats and by-products in the world: a literature survey. *J Vet Med Sci.* 2009. 71(3):255-61.

- Hendriksen RS ら. Risk factors and epidemiology of the ten most common *Salmonella* serovars from patients in Thailand: 2002-2007. *Foodborne Pathog Dis.* 2009. 6(8):1009-19.
- Chuanchuen R ら. Susceptibilities to antimicrobials and disinfectants in *Salmonella* isolates obtained from poultry and swine in Thailand. *J Vet Med Sci.* 2008. 70(6):595-601.
- Dhiraputra C ら. Bacterial contamination of vegetables served in hospitals. *Med Assoc Thai.* 2005. 88 Suppl 10:S42-8.
- Jerngklinchan J ら. The occurrence of salmonellae in bean sprouts in Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 1993. 24(1):114-8.
- Kalnauwakul S ら. Examination of diarrheal stools in Hat Yai City, South Thailand, for *Escherichia coli* O157 and other diarrheagenic *Escherichia coli* using immunomagnetic separation and PCR method. *Southeast Asian J Trop Med Public Health.* 2007. 38(5):871-80.
- Padungtod P ら. Livestock production and foodborne diseases from food animals in Thailand. *J Vet Med Sci.* 2008. 70(9):873-9.
- Treebupachatsakul P ら. Brain abscess due to *Listeria monocytogenes*: first case report in Thailand. *J Med Assoc Thai.* 2006. 89(9):1516-20.
- Keeratipibul S ら. Risk analysis of *Listeria* spp. contamination in two types of ready-to-eat chicken meat products. *J Food Prot.* 2009. 72(1):67-74.

ベトナム:平成21年度の一年間に新たに報告された調査報告は少なく、ほとんどが *Salmonella* に関するものである。また、ハノイ

(旧北ベトナム)地域よりホーチミン(旧南ベトナム)地域で実施された論文が多い。*Salmonella* の論文の約半数が *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16-70%、鶏肉の8-49%、*Campylobacter* は鶏肉の28-31%から分離されている。Takeshi K ら(2009)は食肉処理場のと体(16%が *Salmonella* 陽性)みならず、流通段階の計量器(38%*Salmonella* 陽性)、まな板(29% *Salmonella* 陽性)、水槽(17% *Salmonella* 陽性)等から *Salmonella* が容易に分離できることから衛生的な食肉を確保するためには流通も含めた多くの衛生対策を講ずることが必要であると報告している。豚肉や家畜の *Campylobacter* 保菌率調査報告を検索することはできなかった。また、人の下痢症患者からの *Campylobacter* 属菌分離報告はみあたらない。STEC の牛の保菌率は8-23%、水牛は27%、山羊は39%とする報告はある(Vu-Khac H:2007、Nakasone N:2005)。しかし、人の STEC による感染症の報告はない。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。一方、Ogasawara ら(2008)はメコンデルタ地域の食肉等(豚肉、牛肉、鶏肉、鴨肉、海老)から分離された33血清型の *Salmonella* の抗生物質感受性試験を実施し、ゲンタマイシンやニューキノロン系抗生物質に耐性を持つ菌株はなく、各抗生物質耐性の比率もベトナム由来株は少ないと報告している。

参考文献

- Takeshi K ら. Detection of *Salmonella* spp. Isolates from specimens due to pork

production Chains in Hue City, Vietnam. J Vet Med Sci. 2009. 71(4):485-7.

Vu-Khac H ら. Prevalence and genetic profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* strains isolated from buffaloes, cattle, and goats in central Vietnam. Vet Microbiol. 2008. 126(4):356-63.

Nakasone N ら. Short report: isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from fecal samples of cows in Vietnam. Am J Trop Med Hyg. 2005. 73(3):586-7.

Isenbarger DW ら. Comparative antibiotic resistance of diarrheal pathogens from Vietnam and Thailand, 1996-1999. Emerg Infect Dis. 2002. 8(2):175-180.

Ogasawara N ら. Antimicrobial susceptibilities of *Salmonella* from domestic animals, food and human in the Mekong Delta, Vietnam. J Vet Med Sci. 2008. 70(11):1159-64.

フィリピン:平成21年度の一年間に新たに報告された調査報告はほとんどない。また、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人においても *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)。腸管出血性大腸菌やリステリア感染症に関する調査報告は確認できなかった。

参考文献

Olsen SJ ら. A nosocomial outbreak of fluoroquinolone-resistant *salmonella*

infection. 1: N Engl J Med. 2001. 344(21):1572-79.

中国:平成21年度の一年間に新たに報告された調査報告はきわめて多く、平成20年度から中国語で書かれた文献も Pub-Med 上で検索が可能となったことによるものと思われる。*Salmonella* は鶏の糞便の5%(25/550)(Liu WB,ら:2009)、豚枝肉の55%から、*Campylobacter* は鶏の糞便の36%(275/767)(Chen Xら:2010)、鶏肉の3%から検出されている。また、*Campylobacter* 遺伝子は鶏肉の31%、牛乳の27%から検出されている(Huang JLら:2009、Yang Cら:2003)。下痢症患者からは *Salmonella* は6(71/1128:Ke BX:2008)-45%、*Campylobacter* は5-12%、ST産性O157は3%検出されている。また、Chenら(1995)の報告によると、健康な子供の5%が *Campylobacter* を保菌している。1988年に STECO157による感染症を Xuら(1990)が報告してから、O157は患者のみならず、牛、羊、鶏等さまざまな動物から分離している。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。*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)。人のリステリア症の報告も Yangら(2007)が初めて報告し、その後、Zhou WLら(2010)も新生児の *L. monocytogenes* による敗血症7例について報告しており、中国国内例も報告されはじめています。

参考文献

Liu-WB ら. Serotype, genotype, and antimicrobial susceptibility profiles of salmonella from chicken farms in shanghai. J Food Prot. 2010. 73(3):562-7.

- Chen X ら. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* isolates in broilers from China. *Vet Microbiol.* 2010. (印刷中)
- Huang JL ら. Epidemiological surveillance of *Campylobacter jejuni* in chicken, dairy cattle and diarrhoea patients. *Epidemiol Infect.* 2009. 4:1-10.
- Yang C ら. Application of real-time PCR for quantitative detection of *Campylobacter jejuni* in poultry, milk and environmental water. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2003. 15;38(3):265-71.
- Ke BX ら. Surveillance and pathogenic analysis on non-typhoidal *Salmonella* in Guangdong province, 2007. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi.* 2008. 29(12):1199-203
- Chen Z ら. Epidemiological investigation of *Campylobacter Jejuni* infection in children. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi.* 1995. 29(3):144-146.
- Xu JG ら. Isolation and characterization of *Escherichia coli* O157:H7 strains in China. *Curr Microbiol.* 1990. 20:299-303
- Fu P ら. Investigation on the contamination of *Listeria monocytogenes* in seven kinds of foods. *Wei Sheng Yan Jiu.* 1999. 28(2):106-7.
- Yang CD ら. Clinical features, prognostic and risk factors of central nervous system infections in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol.* 2007. 26(6):895-901.
- Zhou WL ら. Neonatal sepsis caused by *listeria monocytogenes*: case report of 7 cases. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi.* 2010. 12(2):154-5.
- インドネシア:平成 21 年度の一年間に新たに追加報告された調査報告はほとんどない。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。6,760 名の下痢症患者のうち 587 名(9%)から細菌が分離され、その内訳は *Shigella flexneri* (39%), *Salmonella* spp. (26%)、*Vibrio* spp. (17%), *S. sonnei* (7%)、*Campylobacter jejuni* (4.4%)、*Salmonella* Typhi (3%) and *S. dysenteriae* (2.3%)である(Oyoho BA ら: 2002)。腸管出血性大腸菌感染症の発生報告はみあたらないが、Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC)については報告があり、病院に来院した下痢症患者の 15%から ETEC が分離されている(Subekti DS ら: 2003)。
- 参考文献
- Oyoho BA ら. Surveillance of bacterial pathogens of diarrhea disease in Indonesia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2002. 44(3):227-34.
- Subekti DS ら. Prevalence of enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) in hospitalized acute diarrhea patients in Denpasar, Bali, Indonesia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2003. 47(2):399-405.
- マレーシア:平成 21 年度の一年間に新たに報告された調査報告は少ない。*Salmonella* や *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かった。Yoke-Kqueen C ら(2008)は鶏肉の 90%(50/55)から、野菜の 57%(76/134)から *Salmonella* を分離しており、マレーシアでは野菜が *Salmonella* に高率に汚染されている。野菜サラダの *Campylobacter* の汚染率が高くスーパーマーケットの野菜の *C. jejuni* 汚染率

は 26-68%、*C. coli* 汚染率は 35-66%、*C. fetus* 汚染率は 2%、Wet Market(従来の市場)の野菜の *C. jejuni* 汚染率は 26%、*C. coli* の汚染率は 23%であり、野菜の *Campylobacter* 汚染率が高いこと(Chai ら: 2007)、野菜の汚染は農場ですでに汚染されていること(Chai LC ら: 2009)が報告されている。EHEC は 36%の牛肉から分離されている。マレーシアでの人の *Listeria* 感染症の報告を確認することはできなかったが、食品の *Listeria* 調査は実施されており、*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)。また、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。

参考文献

- Dhanoa A ら. Non-typhoidal *Salmonella* bacteraemia: epidemiology, clinical characteristics and its' association with severe immunosuppression. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2009. 8:15.
- Yoke-Kqueen C ら. Characterization of multiple-antimicrobial-resistant *Salmonella enterica* Subsp. *enterica* isolated from indigenous vegetables and poultry in Malaysia. *Lett Appl Microbiol.* 2008. 46(3):318-24.
- Chai LC ら. Occurrence of Thermophilic *Campylobacter* spp. Contamination on Vegetable Farms in Malaysia. *J Microbiol Biotechnol.* 2009. 19(11):1415-20.

Chai LC ら. Thermophilic *Campylobacter* spp. in salad vegetables in Malaysia. *Int J Food Microbiol.* 2007. 10;117(1):106-11.

Hassan Z ら. 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.

バングラディッシュ:平成 21 年度の一年間に新たに報告された調査報告は極めて少ない。Akond MA ら(2009)は 54%の市販炭酸飲料水から *Salmonella* を分離し、その菌量は 2-99cfu/100ml であると報告しており、*Salmonella* 食中毒の原因食品として通常では考えられない「炭酸飲料水」がバングラディッシュで原因食品となっていた。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、赤痢菌が下痢症患者から頻繁に検出されている。腸管出血性大腸菌に関する調査がはじめて報告され、病院に来院した 2%、一般患者の 7%の下痢を呈した小児から STEC が分離されている(Islam MA: 2007)。また、Stx1 または Stx2 遺伝子は 82% (143/174)の水牛、73%(101/139)の牛、12%(13/110)の山羊から検出、STEC は 38%の水牛、20%の牛、10%の山羊から分離、O157 は 14%の水牛、7%の牛、9%の山羊から分離されている(Islam MA ら: 2008)。*Listeria* に関する報告はない。

参考文献

- Akond MA ら. Bacterial contaminants in carbonated soft drinks sold in Bangladesh markets. *Int J Food Microbiol.* 2009. 130(2):156-8.

Islam MA ら. Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from patients with diarrhoea in Bangladesh. *J Med Microbiol.* 2007. 56(Pt 3):380-5.

Islam MA ら. Prevalence and genetic characterization of shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates from slaughtered animals in Bangladesh. *Appl Environ Microbiol.* 2008. 74(17):5414-21.

ラオス:平成21年度の一年間に新たに報告された調査報告は少なく、我々の調査報告が追加されたにすぎない。動物に関する調査は我々の報告で明らかになりつつあるが、依然として流通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(Yamashiro ら:1998)。また、ラオスでは赤痢が下痢症患者の7-17%から分離されている。腸管出血性大腸菌や *Listeria* に関する報告はない。

我々ら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* を分離している(Boonmar ら:2008)。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(Boonmar ら:2007)。また、今回の調査から6%(3/50)の水牛の便から *Campylobacter* を分離している(Morita Y ら:2009)。

参考文献

Yamashiro T ら. Etiological study of diarrheal patients in Vientiane, Lao People's Democratic Republic. *J Clin Microbiol.* 1998. 36(8):2195-9.

Boonmar S ら. *Salmonella* prevalence in slaughtered buffaloes and pigs and antimicrobial susceptibility of isolates in

Vientiane, Lao People's Democratic Republic. *J Vet Med Sci.* 2008. 70(12):1345-8.

Boonmar S ら. Prevalence of *Campylobacter* spp. in Slaughtered Cattle and Buffaloes in Vientiane, Lao People's Democratic Republic, *J Vet Med Sci,* 2007, 69(8): 853-855.

Morita Y ら. Antimicrobial susceptibility of *Campylobacter coli* isolated from buffaloes in Vientiane, Lao People's Democratic Republic. *Nepalese Vet. J.,* 29: 42-45(2009)

ネパール:平成21年度に新たに追加された論文は *Salmonella* によるものがあるがいずれも *S. Typhi* または *S. Paratyphi* による報告であり、依然として食中毒菌に関する報告はきわめて少ない。カトマンズで市販されている鶏肉の15%、水牛の肉14%、山羊肉の3%から *Salmonella* が分離されている(Maharjan M ら:2006)。*Campylobacter*、腸管出血性大腸菌の分離報告はなく、また、*Listeria* は肝障害を伴った慢性下痢症患者30例中1例から分離されている(Shrestha S ら:1993)。

参考文献

Maharjan M ら. Prevalence of *Salmonella* species in various raw meat samples of a local market in Kathmandu. *Ann N Y Acad Sci.* 2006. 1081:249-56

Shrestha S ら. Bacterial and cryptosporidial infection as the cause of chronic diarrhoea in patients with liver disease in Nepal. *Trop Gastroenterol.* 1993. 14(2):55-8.

2. タイとの共同研究による「タイの田舎に居住する患者から分離されるサルモネラの特徴」(学会発表:Boonmar ら, 2009)
病原体は2,105検体(13.9%)から検出され、最も高率に分離された病原体は大腸菌(395

検体:18.8%)で、次いで、*Bukholderia* 属菌 (152 検体:7.2%)、*Klebsiella pneumoniae* (115 検体:5.5%)、サルモネラ属菌(97 検体:4.6%)、黄色ブドウ球菌(97 検体:4.6%)であった(表 2-1)。タイの田舎においても *S. Typhi* や *S. Paratyphi* は分離することができなかった。

分離された *Salmonella* 97 株は 12 の血清型に型別され、最も高率に分離された血清型は *S. Choleraesuis*(55 株)、次いで *S. Enteritidis*(28 株)であった。*Salmonella* は 5 歳以下の幼児から 12 株、6~59 歳の青年 & 成人から 62 株、60 歳以上の老人から 23 株分離された。55 株が分離された *S. Choleraesuis* は 5 歳以下の幼児から 6 株、6~59 歳の青年 & 成人から 35 株、60 歳以上の老人から 14 株、28 株が分離された *S. Enteritidis* は 5 歳以下の幼児からは検出されず、6~59 歳の青年 & 成人から 23 株、60 歳以上の老人から 5 株であり、*S. Choleraesuis* は幼児から分離されたが、*S. Enteritidis* は幼児から分離されないという特徴を有していた(表 2-2)。

各薬剤の感受性試験の結果は表 2-3 のとおりであり、血清型によって薬剤感受性の結果は異なっていたが一般的に、ナリジクス酸、アンピシリン、ストレプトマイシンの耐性率が高く、各々 74.7%(71/95 株)、69.5%(66/95)、61.1%(58/95 株)であった。*S. Choleraesuis* は比較的薬剤耐性率が高く、供試した 54 株のうちナリジクス酸耐性は 92.6%(50/54 株)、アンピシリン耐性は 83.3%(45/54 株)、テトラサイクリン耐性は 81.5%(44/54 株)、ストレプトマイシン耐性は 79.6%(43/54 株)であった。供試した 27 株 *S. Enteritidis* のうちナリジクス酸耐性は 66.7%(18/27 株)、アンピシリン耐性は 48.1%(13/27 株)と比較的高い値であったがテトラサイクリン耐性は 18.5%(5/27 株)、ストレプトマイシン耐性は 14.8%(4/27 株)であり *S. Choleraesuis* と比較して低い値であった。

供試した 95 株の *Salmonella* のうち 10 種の薬剤ディスク全てに感受性を示した株は 11 株であった(*S. Choleraesuis* は 4/54 株、*S. Enteritidis* は 2/27 株、他の血清型の *Salmonella* 5/14 株)。*S. Choleraesuis* は多剤耐性を示すものが多く、3 つの薬剤ディスクに耐性を示す株が 4 株、4 種に耐性を示す株が 30 株、5 種に耐性を示す株が 4 株、6 種に耐性を示す株が 10 株、7 種に耐性を示す株が 2 株であった。一方、*S. Enteritidis* は多剤耐性を示すものは少なく、1 つの薬剤ディスクに耐性を示す株が 8 株、2 種に耐性を示す株が 12 株、3 種に耐性を示す株が 4 株、4 種に耐性を示す株が 1 株であった。

3. ラオスとの共同研究による「ラオスの水牛から分離された *Campylobacter coli* の薬剤感受性」(論文発表:Moritaら, 2009)

6%(3/50)の水牛の糞便から *C. coli* が分離された。その 3 検体から分離された 3 株の *C. coli* について薬剤感受性試験を実施したところ表 3-1 のとおりであった。A 株は CP, TC, NA, CPFIX に耐性をもち、これらの最少発育阻止濃度(MIC)は CP(128 mg/liter)-TC(32 mg/liter)-NA(256 mg/liter)-CPFIX(128mg/liter)、B 株は ABPC、CTRXI に耐性を持ち、MIC は ABPC(256 mg/liter)-CTRX(64 mg/liter)、C 株は ABPC のみ耐性を持ち、MIC は ABPC(128 mg/liter)であった。

ラオスの水牛の糞便の 6% から *Campylobacter* が分離され、その菌種は *C. coli* であることが判明した。さらに、菌株によっては ABPC、NA、CPFIX 等にも耐性をもつ株もあることが判明した。

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

する調査報告は依然として少ないことが再確認された。また、平成 21 年度の一年間に、新たに研究・報告された調査報告は、中国を除き極めて少ないことが判明した。中国の論文数は平成 20 年度より増加したが、その理由として中国国内で、かつ中国語で書かれた文献も要約が英語であれば Pub-Med 上で検索が可能となったことによるものと思われる。中国からは我が国は多くの食品を輸入しているので、これらの情報が公開されたことは、我が国にとっても有益なことと思われた。

今回、バングラディッシュでの炭酸飲料水の *Salmonella* 汚染実態 (54% から *Salmonella* が検出) やマレーシアの野菜の *Salmonella* や *Campylobacter* の高度な汚染 (原因は農場での汚染) 等、新たな報告もあり、想定外の感染経路がアジアには存在することが判明した。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学的に重要な課題であることが再確認された。特に、熱帯地域ではチフスの発生が深刻であり、ベトナム、インドネシア、バングラディッシュ、ネパールでは *Salmonella* に関する論文の半数近くが *S. Typhi* や *S. Paratyphi* に関するもので、平成 21 年度に新たに報告された論文もそれらの感染症の論文が多かった。

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。腸管出血性大腸菌に関する調査結果は平成 20 年度になり、ベトナム、マレーシア、バングラディッシュ等から報告されており、アジア諸国においても年々調査が実施され、発生状況等が解明されていることが判明した。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。

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、他の国々では食品中の *Listeria* に関する報告はきわめて少ないか、みあたらない。人の *Listeria* 症の発生報告もきわめて少ないことから、食品中の *Listeria* 汚染率と発症の因果関連について言及しているものはない。中国では人の *Listeria* 感染症についての報告が実施されはじめているので、今後の発生状況等把握したい。

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をおはじめ多くの薬剤に耐性を示す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をはじめとした抗菌性物質の耐性菌についてモニタリングする必要があると思われた。

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。また、想定外の感染源も存在することから、常に大きな視野にたって科学的に調査をすることが必要であると思われた。

2. タイとの共同研究による「タイの田舎に居住

する患者から分離されるサルモネラの特徴」(学会発表: Boonmar ら, 2009)

タイの田舎では敗血症患者から *Salmonella* が分離されるが *S. Typhi* や *S. paratyphi* は分離されないこと、*Salmonella* の血清型は *S. Choleraesuis* が最も多く、次いで *S. Enteritidis* が多いこと、*S. Choleraesuis* は *S. Enteritidis* や他の *Salmonella* と比較して多くの薬剤に耐性を示すことが判明した。

今後、この敗血症患者から分離される *S. Choleraesuis* が豚肉由来であるのか等、何が原因であるか疫学調査が必要であるとともに、我が国でも豚から *S. Choleraesuis* が分離されはじめているので、タイの人由来株と日本の豚由来株が薬剤感受性等で異なる性質をもっているのか、比較検討をしたい。

3. ラオスとの共同研究による「ラオスの水牛から分離された *Campylobacter coli* の薬剤感受性」(論文発表: Morita ら, 2009)

本研究により、ラオスの水牛の糞便のカンピロバクター保菌率は少ないこと、および諸外国では *C. jejuni* の保菌が多いが、ラオスでは *C. coli* が分離されることが判明した。今後、ラオス国内流通食肉の衛生向上のため、流通している食肉の汚染度や汚染原因を調査したい。

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いまだ少なく、また、平成 21 年度の一年間に新たに追加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。また、今回、バングラディシュでの炭酸飲料水の *Salmonella* 汚染実態(54%から *Salmonella* が検出)やマレーシアの野菜の *Campylobacter* 汚染(原因は農場での汚染)等、新たな報告もあり、想定外の汚染経路がアジアには存在することが判明した。近隣で旅行者としての訪問や食品を輸入する機会の多いアジア諸国の衛生実態についてさらに監視し、まだ調査していない項目等、積極的に解明をする必要があると思われた。

F. 研究発表

1. 論文発表等

論文発表

Morita Y, Komoda E, Boonmar S, Markvichir K, Chaunchom S, Chanda C, Yingsakmongkon S, Padungtod P, Jha CV, Singh S, Yamamoto S, Kimura H, Antimicrobial susceptibility of *Campylobacter coli* isolated from buffaloes in Vientiane, Lao People's Democratic Republic. *Nepalese Vet. J.*, 29: 42-45(2009)

別添1: 論文別刷

商業雑誌発表

森田幸雄(2009)「衛生」を食肉処理場の経営戦略に生かす -衛生が「金」になる時代がやってきた-、畜産コンサルタント、537(9)、28-32.

別添2: 掲載誌別刷

2. 学会等発表

Morita Y, Komoda E, Boonmar S, Yamamoto S, Kimura H, Kabeya H, Maruyama S, Serotypes, Antimicrobial Susceptibility and *gyr A* Gene Mutation of *Campylobacter jejuni* Isolates from Humans and Chickens in Thailand. 15th International Workshop on *Campylobacter*, *Helicobacter*

and Related Organisms(CHRO), 新潟市、
(2009年9月2-5日)

別添3-1:抄録

別添3-2:ポスター

Boomar S, Salika P, Pulsrikarn C,
Pornrungwong S, Sawatwong P, Siludjai D,
Jorakate P, Kaewpan A, 森田幸雄, Peruski
LF, Malony SA. Bacteraemia due to
non-typhoidal Salmonella in rural Thailand.

日本食品微生物学会、東京都(2009年10月
19-21日)

別添4-1:抄録

別添4-2:ポスター

G. 知的財産権の出願・登録状況

1.特許取得

なし

2.実用新案登録

なし

3.その他

本研究をまとめるにあたり、協力をいただいた
た東京家政大学食品衛生学第二研究室員(熊野
真理子、戸張綾乃、古沢優美、茂木香澄、守谷
愛)に深謝する。

表1-1 Pub-Medにおける検索項目ごとの文献数

国名	Salmonella				Campylobacter				O157(STEC)				Listeria						
	Typhi	animal	food	patients	vegetables	animal	food	patients	vegetables	animal	food	patients		vegetables	animal	food	patients	vegetables	
タイランド	H19.3.1	171	27	37	40	47	69	13	12	22	11(5)	7(2)	5(1)	3(1)	9	1	5	1 ¹⁾	
	H20.3.1	181	28	43	48	48	76	17	13	23	13(5)	8(2)	6(1)	4(1)	9	1	5	1 ¹⁾	
	H21.2.15	294	56	76	74	84	94	26	21	24	20(18)	9(9)	11(10)	5(4)	17	4	13	1 ¹⁾	
	H22.3.18	302	59	87	81	87	11	99	30	26	25	22(21)	9(8)	13(12)	5(4)	2(2)	18	5	14
ベトナム	H19.3.1	99	48	14	10	25	7	0	2	2	1(0)	1(0)	0(0)	0(0)	0	0	0	0	
	H20.3.1	112	52	18	14	26	8	2	2	2	1(1)	2(1)	0(0)	0(0)	0	0	0	0	
	H21.2.15	129	64	23	17	34	8	2	2	2	2 ²⁾ (2)	2(2)	0(0)	0(0)	1	0	0	0	
	H22.3.18	117	69	27	19	30	2	8	2	2	3 ²⁾ (3)	3(3)	1(1)	0(0)	1	0	0	0	
フィリピン	H19.3.1	43	7	10	4	11	5	1	1	2	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1	0	0	0	
	H20.3.1	44	7	10	4	11	5	1	1	2	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1	1	1	0	
	H21.2.15	50	13	12	6	12	5	1	1	2	1(1)	1(1)	0(0)	0(0)	2	1	1	0	
	H22.3.18	44	14	12	6	11	2	5	1	2	1(1)	1(1)	0(0)	0(0)	2	1	1	0	
中国	H19.3.1	179	29	41	40	27	72	12	7	34	23(3)	10(3)	11(1)	9(1)	8	4	7	0	
	H20.3.1	184	33	43	47	29	74	12	7	35	24(4)	10(4)	12(1)	9(1)	12	4	10	1 ²⁾	
	H21.2.15	640	98	229	136	70	120	32	15	50	67(62)	35(34)	42(27)	14(12)	68	19	39	5 ²⁾	
	H22.3.18	728	109	305	168	81	140	40	22	54	128(87)	48(51)	53(31)	15(13)	94	34	55	7 ²⁾	
インドネシア	H19.3.1	103	51	11	9	44	12	4	0	6	1(0)	0(0)	0(0)	1(0)	2	0	0	1	
	H20.3.1	111	54	12	10	45	13	4	0	7	1(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3	0	1	1	
	H21.2.15	133	69	15	14	54	15	4	0	7	1(1)	1(1)	0(0)	0(0)	3	0	1	1	
	H22.3.18	123	77	15	12	51	0	15	4	0	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)	3	0	1	0	
マレーシア	H19.3.1	84	24	13	17	19	12	3	0	3	2(0)	1(0)	1(0)	0(0)	5	1	5	0	
	H20.3.1	88	25	14	17	19	14	4	1	3	3(0)	1(0)	1(0)	1(0)	5	1	5	0	
	H21.2.15	136	53	25	23	33	18	6	2	4	6(6)	3(3)	4(4)	1(1)	5	1	5	0	
	H22.3.18	132	56	29	22	31	5	21	6	4	7(6)	3(3)	5(4)	1(1)	5	1	5	0	
バンダラ サイシュ	H19.3.1	63	35	3	3	26	29	8	3	19	2(2)	0(0)	1(0)	0(1)	1	1	1	0	
	H20.3.1	69	36	3	3	28	30	8	3	20	2(2)	0(1)	1(0)	0(1)	1	1	1	0	
	H21.2.15	95	52	6	6	37	38	8	7	24	4(4)	4(2)	3(1)	0(1)	2	1	2	0	
	H22.3.18	89	56	5	7	36	41	8	7	26	5(3)	1(2)	3(1)	0(1)	3	1	2	0	
ラオス	H19.3.1	10	0	1	0	3	3	0	1	1	3	0(0)	0(0)	0(0)	0	0	0	0	
	H20.3.1	12	0	2	1	3	4	1 ²⁾	1	1	3	0(0)	0(0)	0(0)	0	0	0	0	
	H21.2.15	14	0	2	1	3	5	2 ²⁾	2	1	3	0(0)	0(0)	0(0)	1	1	1	0	
	H22.3.18	12	3	4	3	3	0	5	2 ²⁾	2	1	0	0(0)	0(0)	1	1	1	0	
ネパール	H19.3.1	65	37	2	2	31	8	1	2	2	1(0)	0(0)	0(0)	1(0)	1	0	0	1	
	H21.2.15	57	41	2	2	25	0	8	1	2	1(0)	0(0)	0(0)	1(0)	1	0	0	1	
	H22.3.18	57	41	2	2	25	0	8	1	2	1(0)	0(0)	0(0)	1(0)	1	0	0	1	

1)初報告: Treebupachatsakul P⁵. Brain abscess due to *Listeria monocytogenes*: first case report in Thailand. J Med Assoc Thai. 2006 89:1516-20.
 2)初報告: Nakasone N⁵. Short report: isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from fecal samples of cows in Vietnam. Am J Trop Med Hyg. 2005 73(3):586-7.
 3)初報告: Yang CD⁵. Clinical features, prognostic and risk factors of central nervous system infections in patients with systemic lupus erythematosus. Clin Rheumatol. 2007;26(6):895-901.
 4)初報告: Boonmar S⁵. Prevalence of *Campylobacter* spp. in slaughtered cattle and buffaloes in Vientiane, Lao People's Democratic Republic. J Vet Med Sci. 2007 ;69(8):853-5.

表1-2 各国における患者・動物・食肉・野菜からの *Salmonella*、*Campylobacter*、O157(STEC)の分離率 (%)

国名	<i>Salmonella</i>						<i>Campylobacter</i>						STEC(O157)										
	下痢症 患者		非下痢 患者		動物		食肉		動物		食肉		牛乳		下痢症 患者		牛		山羊		豚肉		
	7-18	5-36 ^a	4	6-28	4-9	3	29-65	57-75	28	4	14	73	36-64	23	47-65	0	2-19	2	7	14	9	5	1
タイランド																							
ベトナム				5-50	8	49	16-70	8-49							28-31			8-23	27	39			
フィリピン	8-12	5-8	10*					3-4	1-2	20*	20*	0*	5*-6 ^b				0*	0*					
中国	6-45 ^c				5	55 ^d		5-12	5 ^e	8	36			3-31		3	2						
インドネシア	26							2-10															
マレーシア	2				14		36-90			25													36
バングラデイ シュ	1-19	12						5-19											2-7	7	14	9	
ラオス	1		8 ^g *	76*				3-4		0*-6 ^g *									0.1 ^f				
ネパール			2 ^g *	80*	10*	14 ^e	15			15 ^g *	50*	34*											0*

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2-1 患者から分離された病原体

病原体	分離菌数 (%)
<i>Escherichia coli</i>	395 (18.8)
<i>Burkholderia</i> spp.	152 (7.2)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	115 (5.5)
<i>Salmonella</i> spp.	97 (4.6)
<i>Staphylococcus aureus</i>	97 (4.6)
<i>Acinetobacter</i> spp.	46 (2.2)
<i>Cryptococcus</i> spp.	38 (1.8)
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	37 (1.8)
<i>Haemophilus influenzae</i>	10 (0.5)
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	4 (0.2)
<i>Streptococcus suis</i>	3 (0.1)
<i>Brucella</i> spp.	1 (0.0)
Other Pathogens †	1,109 (52.7)
合計	2,105 (100.0)

† BacT/ALERTsystemでother pathogenと示されたもの。

表2-2 患者から分離された *Salmonella* の血清型等と患者の年齢

<i>Salmonella</i> の血清型	分離菌株数	患者の年齢		
		5歳以下 (幼児)	6 - 59歳 (青年 & 成人)	60歳以上 (老人)
<i>S. Choleraesuis</i> †	55	6	35	14
<i>S. Enteritidis</i> †	28		23	5
6,7:c:- †	2		2	
<i>S. enterica</i> subsp. <i>houtenae</i> serover 43:z4,z23:-	2	1		1
<i>S. Rissen</i> †	2			2
<i>S. Stanley</i> †	2	2		
<i>S. Djakarta</i> †	1		1	
<i>S. Kedougou</i> †	1		1	
<i>S. Saintpaul</i> †	1	1		
<i>S. Typhimurium</i> †	1			1
<i>S. Urbana</i> †	1	1		
<i>S. Virchow</i> †	1	1		
合計	97	12	62	23

† *S. enterica* subsp. *enterica* の血清型

表2-3 患者から分離された *Salmonella* の薬剤感受性試験結果

分離 <i>Salmonella</i> の血清型	菌株数	抗菌性物 †									
		AMP	AUG	C	CTX	NA	CIP	NOR	S	T	TMSX
<i>S. Choleraesuis</i> †	54	45	11	19	5	50	2		43	44	7
<i>S. Choleraesuis</i> の薬剤耐性の割合(%)		83.3 *	20.4	35.2 *	9.3	92.6 **, **	3.7	0.0	79.6 **, **	81.5 **, **	13.0
<i>S. Enteritidis</i> †	27	13		1	3	18			4	5	4
<i>S. Enteritidis</i> の薬剤耐性の割合(%)		48.1 *	0.0	3.7 *	11.1	66.7 *	0.0	0.0	14.8 *	18.5 *	14.8
6,7:c:- †	2	2		2	1	2				2	1
<i>S. enterica</i> subsp. <i>houtenae</i> serovar 43:z4,z23:-	2										
<i>S. Rissen</i> †	2	2		1	1					2	2
<i>S. Stanley</i> †	2	1							2	2	
<i>S. Djakarta</i> †	1			1							
<i>S. Kedougou</i> †	1	1								1	
<i>S. Saintpaul</i> †	1										
<i>S. Typhimurium</i> †	1	1							1	1	
<i>S. Urbana</i> †	1										
<i>S. Virchow</i> †	1	1	1	1		1			1	1	1
<i>S. Choleraesuis</i> と <i>S. Enteritidis</i> を除く <i>Salmonella</i>	14	8	1	5	2	3	0	0	4	9	4
<i>S. Choleraesuis</i> と <i>S. Enteritidis</i> を除く <i>Salmonella</i> の薬剤耐性の割合(%)		57.1	7.1	35.7	14.3	21.4 **, **	0.0	0.0	28.6 **, **	64.3	28.6
合計	95	66	12	25	10	71	2	0	51	58	15
全ての <i>Salmonella</i> の薬剤耐性の割合 (%)		69.5	12.6	26.3	10.5	74.7	2.1	0.0	53.7	61.1	15.8

† *S. enterica* subsp. *enterica* の血清型

‡ AMP:ampicillin, AUG:amoxicillin with clavulanic acid, C:chloramphenicol, CIP:ciprofloxacin, CTX:cefotaxime, NA:nalidixic acid, NOR:norfloxacin, S:streptomycin (S), T:tetracycline, and TMSX:sulfamethoxazole with trimethoprim.

* 「*S. Choleraesuis*」と「*S. Enteritidis*」の間で有意差($p < 0.01$)あり

** 「*S. Choleraesuis*」と「*S. Choleraesuis*と*S. Enteritidis*を除く*Salmonella*」の間で有意差($p < 0.01$)あり

ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF *CAMPYLOBACTER COLI* ISOLATED FROM BUFFALOES IN VIENTIANE, LAO PEOPLE'S DEMOCRATIC REPUBLIC

Y. Morita¹, E. Komoda¹, S. Boonmar², K. Markvichit³, S. Chaunchom³, C. Chanda⁴, S. Yingsakmongkon², P. Padungtod⁵, V. C. Jha⁶, S. Singh⁷, S. Yamamoto⁸, H. Kimura⁹

ABSTRACT

A study was conducted on the prevalence of *Campylobacter* spp. in buffaloes and antimicrobial susceptibility of isolates in Vientiane, Lao People's Democratic Republic (Lao PDR). *Campylobacter* was isolated from 3 (6%) of the 50 caecum samples and all the isolates were identified as *C. coli*. The resistance profile and MIC of the 3 *C. coli* strains; namely A, B, and C were CP (MIC; 128 mg/liter)-TC (32 mg/liter)-NA (256 mg/liter)-CPFX (128 mg/liter), ABPC (256 mg/liter)-CTR (64 mg/liter), and ABPC (128 mg/liter) respectively. A quinolone-resistant strain of *C. coli* has already been isolated in Lao PDR. This study results suggested that a survey on the prevalence of *Campylobacter* spp. in human, food animals, and different types of food products should be performed to determine important sources of *Campylobacter* infection.

INTRODUCTION

Thermophilic *Campylobacter*, such as *C. jejuni* and *C. coli* is a major foodborne bacterium that affects children in many parts of the world, especially in developing countries. Foods of animal origin or other cross-contaminated foods and drinking water are considered as the main sources of this infection in humans (Coker *et al.*, 2002 and Oberhelman and Taylor, 2000). Previous reports have suggested

¹ Faculty of Nutritional Science, Tokyo Kasei University, 1-18-1, Kaga, Itabashi, Tokyo 173-8602, Japan

² Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

³ Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Nakornpathom 73140, Thailand

⁴ Faculty of Agriculture, National University of Laos, Vientiane, Lao PDR

⁵ Faculty of Veterinary Medicine, ChangMai University, ChangMai, 50100, Thailand

⁶ National FMD and TADs Laboratory, Chapali, Budhanilkantha, Kathmandu, Nepal

⁷ Institute of Agriculture and Animal Science, Rampur, Chitwan, Nepal

⁸ National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya, Tokyo 158-8501, Japan

⁹ National Institute of Infectious Diseases, Infectious Diseases Surveillance Center, 4-7-1 Gakuen, Musashimurayama, Tokyo 208-0011, Japan

that the prevalence of both *C. jejuni* and/or *C. coli* in children in Lao People's Democratic Republic (Lao PDR) varies from 2.9% to 4.4% (Phetsouvanh *et al.*, 1999 and Yamashiro *et al.*, 1998). Boonmar *et al.*, 2007 reported that 1.6% (3/184) of caecum samples and 1.0% (1/100) of bile samples from buffaloes harbored *Campylobacters*, while no *Campylobacters* were isolated from any of the 82 cattle caecum samples. In the adjacent country, Thailand, many quinolone-resistant *Campylobacter* strains have been found in patients, animals and food (Padungtod *et al.*, 2006 and Boonmar *et al.*, 2007). However, there is no report so far on antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* isolates in Lao PDR. Thus, this study was conducted to investigate the prevalence of *Campylobacter* in buffaloes in Lao PDR and to determine the antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* isolates.

MATERIALS AND METHODS

A total of 50 caecum swab samples were collected from buffaloes approximately 3–10 years of age group slaughtered on February 7, 2007 at the Dorn Du slaughterhouse in Vientiane, Lao PDR. We could not confirm the number of farms where the buffaloes were raised. The caecum samples were collected using commercial swab sets containing Stuart transport media (BD BBL Culture Swab Plus, BD, NJ, USA) for swabbing the caecal content after evisceration. The samples were stored at 4°C, and immediately transported to the laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkok, Thailand. The stored samples were analyzed within 30 h of collection. Isolation and identification methods used were same as those in the previous report (Boonmar *et al.*, 2007). Antimicrobial susceptibility of the *C. coli* isolates were tested using the broth dilution technique, in accordance with the guidelines of the clinical laboratory standard institute (CLSI), formerly called National Committee on Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2002). The antimicrobial agents tested included ampicillin (ABPC), Chloramphenicol (CP), Erythromycin (EM), Tetracycline (TC), Nalidixic Acid (NA), Ceftriaxone (CTRX), and Ciprofloxacin (CPFX). Minimum inhibitory concentration (MIC) was defined as the lowest concentration of an antimicrobial agent that completely inhibited visible growth of the organism on the growth plates. The breakpoints of the drugs were obtained from Human Isolates Final Report, 2004, the U.S. National Antimicrobial Resistance Monitoring System (NARMS), CDC (<http://www.cdc.gov/narms/reports.htm>) and were used to categorize *Campylobacter* into resistant groups.

RESULTS AND DISCUSSION

Three *C. coli* strains could be isolated from the 50 buffalo samples. All the 3 *C. coli* isolates showed resistance to the antimicrobial agents used in this study. Resistance to CP, TC, NA, CPFX, and CTRX were found in one isolate each, whereas that to ABPC was observed in two isolates.

The resistance profile and MIC of strain A, B, and C were CP(MIC;128 mg/ liter)-TC(32 mg/ liter)-NA(256 mg/ liter)-CPFX(128 mg/ liter), ABPC(256 mg/ liter)-CTRX(64 mg/ liter), and ABPC(128 mg/ liter) only, respectively (table1).

Table 1. Minimum inhibitory concentration(MIC) of *C. coli* isolated from buffaloes

Strain Number	Antimicrobial agents(a)						
	ABPC	CP	EM	TC	NA	CTRX	CPFX
A	<0.125b)	128	<0.125	32	256	<0.125	128
B	256	16	8	0.5	16	64	2
C	128	8	4	0.2	8	32	0.5

a) ABPC:ampicillin. CP: chloramphenicol. EM: erythromycin. TC: tetracycline. NA: nalidixic acid. CTRX: ceftriaxone. CPFX: ciprofloxacin.

b) mg/litter

To the best of our knowledge, there is no report available on the prevalence of *C. coli* from buffaloes in Asia. According to one report (Padungtod *et al.*, 2006) on the proportion of *Campylobacter* isolates demonstrating antimicrobial resistance in dairy cattle in Thailand (69% were *C. jejuni*), the resistance of ABPC, CP, EM, TC, NA, and CPFX were 17.7%, 5.9%, 5.9%, 11.8%, 11.8%, and 29.4%, respectively. A quinolone-resistant strain of *C. coli* has already been isolated in La PDR. A survey on the prevalence *Campylobacter* spp. in human, food animals, and different types of food should be performed to determine important sources of *Campylobacter* infection. Moreover, antimicrobial susceptibility analysis of isolates is needed for proper surveillance and monitoring of *Campylobacter* infections in the medical and veterinary fields.

ACKNOWLEDGEMENT

This work was partially supported by Research on Food Safety, Health and Labour Sciences Research Grants from the Ministry of Health, Labour and Welfare, Japanese government.

REFERENCES

- Boonmar, S., Morita, Y., Fujita, M., Sangsuk, L., Suthivarakom, K., Padungtod, P., Maruyama, S., Kabeya, H., Kozawa, K. and Kimura, H. (2007). Serotypes, antimicrobial susceptibility, and *gyr A* gene mutation of *Campylobacter jejuni* isolates from humans and chickens in Thailand. *Microbiology and Immunology*, 51: 531-537.
- Coker, A.O., Isokpehi, R.D., Thomas, B.N., Amisu, K.O. and Obi, C.L. (2002).

Morita, Komoda, Boonmar, Markvichitr, Chaunchom, Chanda,
Yingsakmongkon, Padungtod, Jha, Singh, Yamamoto and Kimura

- Human campylobacteriosis in developing countries. *Emerging Infectious Diseases*, 8: 237-243.
- Oberhelman, R. and Taylor, D. (2000). Campylobacter infections in developing countries, pp 139-153. In Nachamkin, I., and Blaser M. (eds), *Campylobacter*, Vol. 2. ASM Press, Washington, D.C.
- Padungtod, P., Kaneene, J.B., Hanson, R., Morita, Y. and Boonmar, S. (2006). Antimicrobial resistance in *Campylobacter* isolated from food animals and humans in northern Thailand. *FEMS immunology and medical microbiology*, 47: 217-225.
- Phetsouvanh, R., Midorikawa, Y. and Nakamura, S. (1999). The seasonal variation in the microbial agents implicated in the etiology of diarrheal diseases among children in Lao People's Democratic Republic. *The Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, 30: 319-323.
- Public Health Laboratory Service. (1999). *In: Detection of Campylobacter species*. Public Health Laboratory Service. London, pp 33
- Yamashiro, T., Nakasone, N., Higa, N., Iwanaga, M., Insisiengmay, S., Phounane, T., Munnalath, K., Sithivong, N., Sisavath, L., Phanthauamath, B., Chomlasak, K., Sisulath, P. and Vongsanith, P. (1998). Etiological study of diarrheal patients in Vientiane, Lao People's Democratic Republic. *Journal of Clinical Microbiology*, 36: 2195-2199.