

した下痢症患者の直腸スワブと糞便から病原物質検索を試みたところ、2,118 検体中 478 検体から病原物質が検出された。最も多く分離されたものは赤痢で 41%(195 検体)、次いで、腸炎ビブリオが 24%(114 検体)、サルモネラが 19%(91 検体)、下痢原性大腸菌は 5%(23 検体)であった。赤痢は *S. sonnei* (195 株中 162 株)、腸炎ビブリオは血清型 O3:K6(114 株中 72 株)、サルモネラは *S. Enteritidis* (91 株中 12 株)と *S. Typhimurium* (91 株中 11 株)が各々の病原体で多く分離された菌種・血清型であった(Huang Fら:2011)。

市場で販売されている生の鶏と体 1,152 検体について調査したところ、サルモネラは 52%の鶏と体から分離された(Yang Bら:2011)。

2008 年、中国では食中毒を早期探知するため、下痢症患者の非チフスサルモネラサーベイランスシステムを構築した。下痢症患者からの分離サルモネラは病院から地方の公衆衛生研究所に送付され再同定、血清型、薬剤感受性試験を行うもので、8 州の 44 市の 126 の病院で実施されている。662 株のサルモネラ株は 73 の血清型に型別され、*S. Enteritidis* は 31%、*S. Typhimurium* は 26%であった。分離菌の 60%、*S. Typhimurium* の 35%は 3 種以上の抗生物質に耐性を持っていた(Ran Lら:2011)。

中国温州の海産性魚介類 100 検体について調査したところ、67%が基準違反であった。違反の 61%は大腸菌群数、19%はサルモネラの検出、16%は腸炎ビブリオの検出、16%はリステリアが検出されたためであった(Hu Xら:2010)。

広東省、2008 年の下痢症患者から分離されたサルモネラは検出率は 3.7%(71/1922 株)、2009 年のそれは 4.0%(85/2110 株)であった。156 株のサルモネラは 37 種の血清型に分けられ、血清型 *Typhimurium* と *Enteritidis* が最も多く分離される血清型であった。229 株

のサルモネラの薬剤感受性試験結果、80%の分離菌はセファロスポリン系・キノロン系に耐性を持ち、60%の分離菌は多剤耐性を保有していた(Ke BXら:2011)。

中国で分離された 62 株の *S. Typhimurium* について薬剤感受性試験を実施したところ、アンピシリン耐性 90%、テトラサイクリン耐性 81%、トリメプリーム/スルファメタキザゾール耐性 74%、クロラムフェニコール耐性 66%、セフトキシム耐性 27%であった。42 株は *bla*(TEM-1b)、30 株は *bla*(CTX-M-1 group)と *bla*(CTX-M-9 group)であった(Yu Fら:2011)。

2005 年-2009 年に北京大学附属第一病院に来院した急性下痢症患者のカンピロバクターについて調査した。15%(142 名)からカンピロバクターが分離されカンピロバクター患者のうち 127 名は *C. jejuni*、15 名は *C. coli*であった。21-30 歳が最も多かった。分離菌の薬剤感受性試験結果はセフトプラゾン耐性が 100%、レボフロキサシン耐性は 61%、ゲンタマイシン耐性は 13%、エリスロマイシン耐性は 6%、アジスロマイシン耐性は 3%であった(Chen Jら:2011)。

2,513 検体の市販食肉から分離された 297 株のカンピロバクター(202 株は *C. jejuni*、95 株は *C. coli*)について調査した。薬剤感受性試験の結果、ドキシサイクリン耐性は 28%、シプロフロキサシン耐性は 14%、エリスロマイシン耐性は 6%であった。ドキシサイクリン耐性は *C. coli* の方が *C. jejuni* よりも多く、シプロフロキサシン耐性は *C. coli* の方が *C. jejuni* よりも少なかった。エリスロマイシン耐性は *C. coli* のみから見られた(Wang Xら:2011)。

豚から分離された *C. coli* 190 株について調査した。薬剤感受性試験の結果、シプロフロキサシン耐性とテトラサイクリン耐性は最も多く分離菌の 95%以上を占めた。シプロフロキサシン耐性菌の 98%(89 株中 87 株)は *gyrA* 遺

伝子のポイントミューテーション(遺伝子変異)が確認された(Qin SSら:2011)。

20%(107/550頭)の健康な山羊から腸管出血性大腸菌が分離された。O98が最も多く分離される血清型であり、O5、O91、O103も分離された(Gu Cら:2011)。

生牛ひき肉、羊肉、豚肉、鶏肉 370 検体を調査したところ、10 検体から腸管出血性大腸菌:*E. coli* O157:H7 が分離された(Li MCら:2011)。

全国食品由来感染症サーベイランスネットワークによるリステリア モノサイトゲネスが定量試験の結果、多くの検体(96%:808/841 検体)が 3MPN/g 以下であった(Tian Jら:2011)。

台湾:ガチョウ・あひる孵化場から 110 株のサルモネラが検出された。分離菌の 97%は *S. PotSDam* であり、その他は *S. Montevideo*、*S. Albany* であった。*S. PotSDam* は台湾の水鳥や鶏の卵から分離できる主要な血清型である(Su YCら:2011)。

台湾:台北危機管理局による胃腸炎の危機要因解析の結果、胃腸炎患者のうちウイルス性が 40%(ノロウイルス感染症は 33%)、バクテリアは 26%であった。バクテリアのうち下痢原性大腸菌と疑われる症状は 22%、サルモネラは 5%、腸炎ビブリオは 4%であった。「ペットボトルの水を飲む」、「宴会に出席する」、「胃腸炎の前に制酸剤を服用する」という行為が、比較的高い危機要因であった(Lai CCら:2011)。

引用文献

- Hao Hら. Drug resistance and related genes of chickenborne *Salmonella* to quinolone and fluoroquinolones. *Wei Sheng Wu Xue Bao*. 2011. 51(10):1413-1420. Chinese.
- Huang Fら. Etiological surveillance and analysis of infectious diarrhea in Beijing in year 2010. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*. 2011. 45(9):820-824. Chinese.
- Yang Bら. Prevalence of *Salmonella* on raw poultry at retail markets in China. *J Food Prot*. 2011. 74(10):1724-1728.
- Ran Lら. Laboratory-based surveillance of nontyphoidal *Salmonella* infections in China. *Foodborne Pathog Dis*. 2011. 8(8): 921-927.
- Hu Xら. Microbial survey of bacterial contamination of shellfish products in Wenzhou. *Nan Fang Yi Ke Da Xue Xue Bao*. 2010. 30(7): 1624-1625. Chinese.
- Ke BXら. Surveillance on *Salmonella* infection in Guangdong province, 2008 - 2009. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*. 2011. 32(8):789-792. Chinese
- Yu Fら. High prevalence of extended-spectrum beta lactamases among *Salmonella enterica* Typhimurium isolates from pediatric patients with diarrhea in China. *PLoS One*. 2011. 6(3):e16801.
- Chen Jら. *Campylobacter* enteritis in adult patients with acute diarrhea from 2005 to 2009 in Beijing, China. *Chin Med J (Engl)*. 2011. 124(10):1508-1512.
- Wang Xら. Antimicrobial resistance and molecular subtyping of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* from retail meats. *J Food Prot*. 2011. 74(4):616-621.
- Qin SSら. Antimicrobial resistance in *Campylobacter coli* isolated from pigs in two provinces of China. *Int J Food Microbiol*. 2011. 146(1):94-98.
- Gu Cら. Epidemiological investigation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolates originated from healthy sheep in one farm of Jiangsu Province and their

pathogenicity. Wei Sheng Wu Xue Bao.

2011. 51(5):676-683. Chinese

Li MC ら. Identification and molecular

characterization of antimicrobial-resistant

shiga toxin-producing *Escherichia coli*

isolated from retail meat products.

Foodborne Pathog Dis. 2011. 8(4):489-493.

Tian J ら. Quantitative risk assessment of

Listeria monocytogenes in bulk cooked meat

products. Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi.

2011. 45(6):537-542. Chinese.

Su YC ら. Emergence of *Salmonella enterica*

serovar Potsdam as a major serovar in

waterfowl hatcheries and chicken eggs.

Avian Dis. 2011. 55(2):217-222.

Lai CC ら. Gastroenteritis in a Taipei

emergency department: aetiology and risk

factors. Clin Microbiol Infect. 2011.

17(7):1071-1077.

インドネシア:

平成 23 年度の一年間に新たに追加報告された調査報告は *Salmonella* で 4 報のみで、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。

Salmonella は下痢症患者の 26%、*Campylobacter* は 2-10% 検出されている。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)。

引用文献

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 23 年度の一年間に新たに報告された調査報告は少ない。

2005 年-2006 年の間に病院で分離されたサルモネラについて調査を実施した。21 の血清型に分けられ、最も頻繁に分離された血清型は *S. Enteritidis* (43%) で、次いで *S. Corvallis* (11%)、*S. Braenderup* (11%) であった。薬剤感受性試験の結果、テトラサイクリン耐性は 66%、スルフォナミド耐性は 56%、ストレプトマイシン耐性は 33%、テリメプリム耐性は 29%、ナリジクス酸耐性は 28% であった (Thong KL ら: 2011)。

大学の動物舎、学内の食堂、養鶏場の 3 か所から捕獲された 60 匹のハエを対象にサルモネラおよびカンピロバクター保菌調査を実施した。ハエの 13% からサルモネラが、5% からカンピロバクターが分離された。カンピロバクターが分離されたハエは養鶏場で捕獲された 20 匹のうちの 2 匹は体表から、1 匹は体内から分離され、分離菌株は *C. jejuni* 1 株、*C. coli* 2 株であった。サルモネラは動物舎から 4 検体 (体表 1 検体、体内 3 検体)、食堂から 2 検体 (体内 2 検体)、養鶏場から 2 検体 (ハエ体内 2 検体) が分離され、分離血清型は *S. Harder* が 3 株、*S. Muenster* が 2 株、*S. Indiana* が 2 株、*S. Newington* が 1 株であった (Choo LC ら: 2001)。

病院に来院した患者の 56,707 の血液検体と 5,450 の糞便由来検体について調査を実施した。サルモネラは血液検体から 55 株、糞便検体から 121 株が分離された。サルモネラの血清型は、血液検体からは *S. Enteritidis* が 40 株、*S. Corvallis* が 4 株、*S. Paratyphi B* が 3 株、*S. Blegdam* が 3 株、その他の血清型が 5 株であった。糞便検体からは *S. Corvallis* が最も多く 23 株、*S. Enteritidis* が 19 株、*S. Weltvreden* が 14 株、*S. Blegdam* が 10 株、その他血清型は 55 株であった (Dhanoa A & Fatt OK: 2009)。

カンピロバクターは近代的な食鳥処理場の鶏の糞便の 83% (60/72)、最終チラー水後のと体表面の 38% (28/72) から分離された。また、本菌は伝統的な市場 (Traditional Wet market) の鶏の糞便の 83% (25/30)、最終製品のと体の体表の 93% (77/90) から分離された (Rejab SB ら:2012)。

引用文献

- Thoung KL ら. Antimicrobial susceptibility and pulsed: field Gel Electrophoretic analysis of *Salmonella* in a tertiary hospital in northern Malaysia. *J Infect Public Health*. 2011. 4(2):65-72.
- Choo LC ら. Isolation of *Campylobacter* and *Salmonella* from houseflies (*Musca domestica*) in a university campus and a poultry farm in Selangor, Malaysia. *Trop Biomed*. 2011. 28(1):16-20.
- Dhana A & Fatt QK. Non-typhoidal *Salmonella* bacteraemia: epidemiology, clinical characteristics and its' association with severe immunosuppression. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2009. 8:15.
- Rejab SB ら. Comparison of *Campylobacter* Contamination Levels on Chicken Carcasses between Modern and Traditional Types of Slaughtering Facilities in Malaysia. *J Vet Med Sci*. 2012. 74(1):121-124.

バングラディシュ:

平成 23 年度の一年間に新たに報告された調査報告は *Salmonella* で 19 報、*Campylobacter* で 3 報であり比較的多い。しかし、*Salmonella* に関する報告の多くは Typhi によるものであった。

Salmonella は死亡鶏の 31%、生鶏の 18% から分離された。また、冬 (分離率 13%) よりも夏 (分離率 24%) に高率に分離される。分離された 106 株のサルモネラのうち、46 株は血清

型 B 群、60 株は D 群であった。また、多剤耐性 *Salmonella* も数多く分離された (Mahmud MS ら:2011)。

バングラディシュにおいてギランバレー症候群患者 100 名について病歴調査・血清学的検査等を実施した。69% の患者は何らかの臨床症状を示しており、最も頻発している臨床症状は下痢であった。バングラディシュではギランバレー症候群患者はカンピロバクター症と高率に関連している (Islam Z ら:2010)。

Shiga 毒素遺伝子は 68% (62/90) の水牛肉・牛肉、10% (2/20) の牛乳、8% (8/103) の生ジュースから検出された。STEC O157 は 2 頭の水牛肉、5 頭の牛肉から分離されたが、牛乳や生ジュースからは分離されなかった。分離 STEC O157 は Shiga 毒素 2 遺伝子を保有していた (Islam MA ら:2010)。

引用文献

- Mahmud MS ら. Prevalence of *Salmonella* serovars and antimicrobial resistance profiles in poultry of sevar area, Bangladesh. *Foodborne Pathog Dis*. 2011, 8(10):1111-1118.
- Islam Z ら. Axonal variant of Guillain-Barre Syndrome associated with *Campylobacter* infection in Bangladesh, *Neurology*, 74(7):581-587.
- Islam MA ら. Occurrence and characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in raw meat, raw milk, and street vended juices in Bangladesh. *Foodborne Pathog Dis*. 2010. 7(11):1381-1385.

ラオス:

平成 23 年度の一年間に新たに報告された調査報告はない。

現在、我々の研究グループがタイとラオスの共同研究を実施している。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。市販牛肉の 29%、水牛肉の 8%、豚肉の 51%は *Salmonella* 汚染が認められている。*Campylobacter* は牛の糞便の 0-6%分離されている。動物・食肉の腸管出血性大腸菌および *Listeria* に関する報告はない。

ネパール:

平成 23 年度に新たに追加された論文は *Salmonella* によるものが 6 報あるが、その多くは *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。

2002 年-2004 年、下痢症患者の検便 877 検体から病原体の分離を試みたところ、144 検体から病原体が分離された。コレラが 98 検体 (11%)、赤痢が 41 検体 (5%)、サルモネラが 9 検体 (1%) であった。分離コレラ菌とサルモネラはシプロフロキサシンに感受性があった。分離赤痢菌はセフトリアキソンには感受性があった。しかし、2003 年以降分離された *Shigella dysenteriae* Type 1 はシプロフロキサシンに耐性があった。抗生物質に対する耐性菌が出現していると思われるので、分離菌の薬剤感受性の監視を実施する必要がある (Kansakar P ら:2011)

2008 年 11 月~2009 年 10 月に市販鶏肉の 90 検体について *salmonella* 検査を実施したところ、67 検体 (75%) から分離された。67 サルモネラ分離株の薬剤感受性試験の結果、アンピシリン耐性・アモキシリン/クラバン酸耐性・ナリジクス酸耐性は 97% で最も高く、次いでセファロシン耐性は 95%、テトラサイクリン耐性は 92%、トリメトプリム/スルファメトキサゾール耐性は 69% であった。低い耐性を示したものではクロラムフェニコール耐性は 15%、ノルフロキサシン耐性は 10%、シプロフロキサシン耐性は 8%、ストレプトマイシン耐性は 5% であった (Shrestha A ら:2010)。

引用文献

- Kansakar P ら. Antimicrobial susceptibilities of enteric bacterial pathogens isolated in Kathmandu, Nepal, during 2002-2004, J Infect Dev Ctries, 2011. 5(3):163-168.
- Shrestha A ら. First report of antimicrobial resistance of *Salmonella* isolated from poultry in Nepal, Vet Microbiol, 2010. 144(3-4):522-524.

2. タイとの共同研究による「タイの Sakao 市における豚と豚肉から分離されるサルモネラの血清型・薬剤感受性」を実施 (学会発表 2011 & 論文発表: Boonmar ら, 2012)。

2010 年 1 月、タイとカンボジア国境の街・サカオ市で飼育されている 8 養豚場由来肥育豚 66 頭の糞便を採取、さらに、サカオ市内の 6 食肉販売店で販売されている豚肉 25 検体を購入し、これらの *Salmonella* 検査を実施した。*Salmonella* は 3% (2/66 検体) 豚の糞便、96% (24/25 検体) の豚肉から分離された。豚の糞便からは *S. Weltevreden*、*S. Dumfries*、*S. Stanley* が分離された。豚肉からは 17 血清型の 42 株が分離され、*S. Rissen* が最も多く分離される血清型で、次いで *S. Stanley*、*S. Anatum*、*S. Give*、*S. Kedougou* であった。分離 *Salmonella* の薬剤感受性はテトラサイクリン耐性が最も高く 69%、次いでアンピシリン耐性 55%、スルファメトキサゾール-トリメトプリム耐性 36%、ストレプトマイシン耐性 31%、クロラムフェニコール耐性 14%、セフトリアキソン耐性 5%、シプロフロキサシン耐性 2% であった。*S. Stanley* と *S. Weltevreden* が豚糞便と豚肉から分離されたため、これらの菌株についてパルスフィールドゲル電気泳動の泳動パターンと薬剤感受性について比較したところ、これらには関連性は見いだせなかった。

3. タイ・ラオスとの共同研究による「ラオスの

Pakse 市における市販牛肉・水牛肉・豚肉から分離されるサルモネラの血清型・薬剤感受性」を実施(2012 年度学会発表 & 論文発表予定)

29%(14/49 検体)の牛肉、8%(16/49)の水牛肉、51%(25/49 検体)の豚肉から *Salmonella* が分離された。分離された 69 株は 11 の血清型に分類され、*S. Stanley* は 15 株、*S. Anatum* は 13 株、*S. Derby* は 11 株、*S. Amsterdam* は 8 株、*S. Rissen* も 8 株であった。分離 62 株について 10 の薬剤を用いた薬剤感受性試験を実施したところ、全株はシプロフロキサシンとノルフロキサシンに感受性を示した。その他、セフトキサシムは 95%、ナリジクス酸は 90%、クロラムフェニコールは 89%が感受性を示した。しかし、供試菌の 66%はストレプトマイシン、テトラサイクリンに対して耐性、63%はアンピシリンに対して耐性を示した。

D. 考察

1. アジア諸国の衛生状態情報

アジア地域の食中毒菌や食品衛生に関する調査報告はタイランド、中国では比較的多く実施、公表されているが、それ以外の国は依然として少ないことが再確認された。

Salmonella は Typhi や Paratyphi による論文が多く、*Salmonella* は食中毒というより感染症領域の疾患であることが伺えた。*Campylobacter*、腸管出血性大腸菌、*Listeria* に関する公表・論文発表は少なく、これらの調査を実施し、情報を入手する必要があると思われた。

中国の情報が入手しやすくなった要因として、中国から国際雑誌への投稿・受理が多くみられること、平成 20 年度から Pub-Med 上においても中国語で書かれた論文であっても表題・要約等の英語が公開されていること、中国国内のインターネットによる情報公開が進んでいる

こと、また、台湾の情報も“China”の検索で入手できるようになっていること等が考えられた。

我が国は多くの食品をアジア諸国から輸入し、そして多くの旅行者がアジア諸国を訪問していることから、これら公開されている情報を広く広報することが、多くの国々の国民にとて有益なことと思われた。

中国およびタイランド等、報告がある国では患者や食肉等から分離される *Salmonella* や *Campylobacter* は高率に抗菌性物質多剤耐性菌が出現しており、食品衛生的・医学的に問題となっている。近年、インド等を発祥とするニューデリー・メタロ-β-ラクタマーゼ 1 (NDM-1) 産生多剤耐性菌(カルバペネル系、フルロキノロン系、アミノ配当体系の 3 つの系列の抗生物質に耐性を示す)が世界的に話題となったが、今後、アジア諸国で、多剤耐性菌に対するモニタリングを実施する必要があると思われた。

アジア諸国では人用、動物用ともに抗生物質のしっかりした管理が行われておらず、人用・動物用ともに抗生物質も入手が容易である。これらのことが耐性菌の出現に大いに影響していると思われた。

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おり、下痢症患者と非下痢症患者の分離率に有意差がないことが多い。いわゆる普通の人も食中毒菌を保菌しているのが一般的と思われる。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、製造施設で働く従業員の衛生管理、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つて、疫学的な解析を実施し科学的な根拠でその対策に望むことが必要と思われた。

2. タイとの共同研究による「タイの Sakao 市における豚と豚肉から分離されるサルモネラの血清型・薬剤感受性」を実施(学会発表 2011 & 論文発表: Boonmar ら、2012)。

タイとカンボジア国境の街カサオ市の豚のサルモネラ保菌は少ないものの、市販豚肉は高率にサルモネラ汚染が認められた。豚肉の汚染は食肉処理から販売工程で二次的に汚染されたことが判明した。よって、二次汚染対策を構築するとともに、食肉を喫食する場合にはよく加熱をすることが必要であると思われた。

3. タイ・ラオスとの共同研究による「ラオスの Pakse 市における市販牛肉・水牛肉・豚肉から分離されるサルモネラの血清型・薬剤感受性」を実施(2012 年度学会発表 & 論文発表予定)

ラオスの Pakse 市で販売されている食肉(牛肉、水牛肉、豚肉)は高率に *Salmonella* に汚染されていることが判明した。また、分離サルモネラはいまだニューキノロン系抗生物質には感受性があるという特徴を有していることが判明した。

Pakse 市においても、食肉を喫食する場合にはよく加熱をすることが必要であり、さらに、まだタイと比較すると薬剤耐性は低いと思われることから、高度耐性株にならないように抗生物質の使用管理を厳しくすることが必要と思われた。

E. 結論

アジア地域の食中毒・食品衛生に関する研究報告はタイランドや中国を除き、いまだ少数であり、さらに、平成 23 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* は食中毒に加えて、*S. Typhi* や *S. Paratyphi A* による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、一般住民も食中毒菌を保菌していることもあり、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、タイやラオスの田舎(タイ: SaKao 市、ラオス: Pakse 市)に市販されている肉は高率にサルモネラ汚染しており、これらの地域で生活している人は常に食肉を介したサルモネラ食中毒の危害もって生活をしていることが確認された。

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はさらに監視し、まだ調査していない食中毒菌や病原体等、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

Pulsrikarn C, Chaichana C, Pornruangwong S, Moria Y, Yamamoto S, Boonmar S. Serotype, Antimicrobial Susceptibility, and Genotype of *Salmonella* Isolates from Swine and Pork in Sa Kao Province, Thailand, Thai Journal of Veterinary Medicine, 42(1), 印刷中

2. 学会等発表

Boonmar S, Pulsrikarn C, Chaichana P, Pornruangwong S, 古茂田恵美子, 森田幸雄, 山本茂貴. Serotype, Antimicrobial Susceptibility, and Genotype of *Salmonella* Isolates from Swine and Pork in Rural Thailand. 日本食品微生物学会(口頭発表: 平成 23 年 10 月 6 日: タワーホール船堀、東京都江戸川区)(別紙 1)

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

表1-1 Pub-Medにおける検索項目ごとの文献数

国名	調査日	<i>Salmonella</i>					<i>Campylobacter</i>					O157(STEC)				<i>Listeria</i>						
		Typhi	animal	food	patient	vegetable	animal	food	patient	vegetable	animal	food	patient	vegetable	animal	food	patient	vegetable				
タイランド	H23.2.11	324	64	93	88	90	11	105	34	29	31	2	23(21)	9(9)	13(12)	5(4)	2(2)	19	5	14	1 ¹⁾	0
	H24.1.23	346	67	99	98	105	13	111	36	33	31	3	24(21)	9(9)	14(12)	5(4)	3(2)	26	7	18 ⁶⁾	1 ¹⁾	0
ベトナム	H23.2.11	124	73	29	21	34	2	8	2	2	2	1	3 ²⁾ (3)	3(3)	1(1)	0(0)	0(0)	3	0	0	1 ³⁾	0
	H24.1.23	129	76	31	23	35	2	8	2	2	2	1	4(3)	4(3)	1(1)	0(0)	0(0)	3	0	0	1 ³⁾	0
フィリッピン	H23.2.11	47	15	12	6	14	2	5	1	1	2	0	2(1)	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)	2	1	1	0	0
	H24.1.23	49	15	12	6	14	2	6	1	1	2	0	2(2)	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)	2	1	1	0	0
中国	H23.2.11	827	119	361	199	104	18	159	53	27	60	0	152(118)	58(62)	64(40)	17(16)	4(3)	123	49	70	8 ⁴⁾	7
	H24.1.23	962	132	424	237	117	19	171	59	31	63	0	175(139)	70(74)	75(49)	18(16)	5(4)	154	67	85	8 ⁴⁾	7
インドネシア	H23.2.11	126	77	15	12	51	0	15	4	0	8	0	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3	0	1	1	0
	H24.1.23	130	81	16	12	62	0	15	4	0	8	0	1(1)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3	0	1	1	0
マレーシア	H23.2.11	143	60	23	24	31	5	22	9	4	4	3	8(6)	3(3)	6(4)	1(1)	0(0)	5	1	5	0	3
	H24.1.23	156	64	36	27	35	5	25	11	5	6	3	10(7)	4(4)	6(5)	1(1)	0(0)	7	1	7	0	3
バングラディッシュ	H23.2.11	89	56	5	7	36	0	44	8	7	26	0	6(4)	3(3)	4(2)	0(1)	0(0)	3	1	2	0	0
	H24.1.23	108	67	6	8	48	0	47	8	7	31	0	7(4)	3(3)	5(2)	0(1)	0(0)	3	1	3	0	0
ラオス	H23.2.11	12	3	4	3	3	0	5	2 ⁵⁾	2	1	0	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1	1	1	0	0
	H24.2.1	12	3	4	3	3	0	5	2 ⁵⁾	2	1	0	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1	1	1	0	0
ネパール	H23.2.11	63	48	3	2	37	0	8	1	2	2	1	2(1)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1	0	0	1	0
	H24.1.23	69	51	4	2	41	0	9	1	2	2	1	2(1)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1	0	0	1	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: Nakasone Nら. Isolation of *Escherichia coli* O157:H7 from fecal samples of cows in Vietnam. Am J Trop Med Hyg. 2005. 73(3):586-587.

3)初報告: Chau TTら. Three adult cases of *Listeria monocytogenes* meningitis in Vietnam. PLoS Med. 2010. 7(7):e1000306.

4)初報告: 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.

5)初報告: 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):853-5.

6)食品の初報告: Indrawattana Nら. Prevalence of *Listeria monocytogenes* in Raw Meats Marketed in Bangkok and Characterization of the Isolates by Phenotypic and Molecular Methods J Health Popul Nutr. 2011. 29(1): 26-38

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

国名	<i>Salmonella</i>						<i>Campylobacter</i>						STEC(O157)										
	下痢症 患者	非下 痢症 患者	動物			食肉			下痢症 患者	非下痢 症患者	動物			食肉		牛乳	下痢症 患者	動物				食肉	
			牛	豚	鶏	牛肉	豚肉	鶏肉			牛	豚	鶏	豚肉	鶏肉			牛	豚	水牛	山羊	牛肉	豚肉
タイランド	7-18	5-36 ^a	4	6-28	4-9	3	29-71	57-75	28	4	14	73	36-64	23	47-65		0	2-19				4	
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			5	17	31-55 ^{c)}	54	5-12	5 ^{d)}	8		36		3-31	27	3	2	1-5 ^{e)}	20	5	1		
インドネシア	26							2-10															
マレーシア	2			14			36-90				25	83		38-93							36		
バングラディシュ	1-19	12						5-19									2-7	7	14	9	8 ^{f)}		
ラオス	1		8 ^{g)} *	76 [*]		29 [*] , 8 ^{g)} *	51 [*]	3-4		0 [*] -6 ^{g)} *						0.1 ^{g)}							
ネパール			2 ^{g)} *	80 [*]	10 [*]	14 ^{h)}		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38%、牛の世話をしていない農夫33%

c: 枝肉

e: O157は1%、O157でないSTECは5%

g: 水牛

*: 我々の現地調査によって判明した分離率(未発表も含む)

b: 鶏・鴨肉

d: 健康な子供の5.01%が *C. jejuni* を保菌

f: 牛肉・水牛肉計90検体中2検体の水牛肉、5検体の牛肉から分離。遺伝子は68%(62/90)から検出

h: O111(論文中にはEHECと記載)

Serotype, Antimicrobial Susceptibility, and Genotype of *Salmonella* Isolates from Swine and Pork in Rural Thailand

○Sumalee BOONMAR¹⁾, Chaiwat PULSRUKARN²⁾, Phattharaphron CHAICHANA²⁾,
Srirat PORNRUANGWONG²⁾, 古茂田恵美子³⁾, 森田幸雄³⁾, 山本茂貴⁴⁾

1) Thailand MOPH-U.S.CDC Collaboration, 2) WHO National Salmonella and Shigella Center, Thailand, 3) 東京家政大学, 4) 国立医薬品食品衛生研究所

【目的】 *Salmonella* is one of the most widespread and infectious food-borne bacteria in the world. In rural Thailand, little is known about invasive diseases caused by *Salmonella*. Preliminary studies conducted from 2007-2008 in the provinces of Sa Kaeo and Nakorn Phanom found that *S. Choleraesuis* was the most prevalent serotype recovered from the blood of patients with invasive disease. The objective of this study was to determine the prevalence of *Salmonella* in swine and pork in Sa Kaeo province and to investigate the relationship between *Salmonella* isolates.

【方法】 In January 2010, we examined the prevalence of *Salmonella* in the feces of 66 swine on 8 farms and in 25 pork products at 6 meat retailers. A swab sample and a pork sample were placed in buffered peptone water (Merck), respectively, mixed thoroughly and incubated at 37° C for 18 h. Next, the pre-enrichment culture was added to Rappaport Vassiliadis (RV) broth (Merck) and incubated at 42° C for 1 day. After incubation, the RV cultures were dropped onto modified semi-solid RV (MSRV) agar (Merck) and desoxycholate

hydrogen sulfide lactose agar (Nissui) and incubated at 42° C and 37° C for 18 h, respectively. The isolates were performed antimicrobial susceptibility test and PFGE analysis.

【結果】 *Salmonella* was isolated from 3% (2/66) of swine fecal samples and 96% (24/25) of pork samples. In fecal samples, *S. Weltevreden*, *S. Dumfries*, and *S. Stanley* were isolated from each sample. In pork, a total of 42 isolates (17 serovars) were found, and *S. Rissen* was predominant, followed by *S. Stanley*, *S. Anatum*, *S. Give*, and *S. Kedougou*. The resistance of *Salmonella* isolates was highest for tetracycline (69%), followed by ampicillin (55%), sulfamethoxazole-trimethoprim (36%), streptomycin (31%), chloramphenicol (14%), cefotaxime (5%), and ciprofloxacin (2%). *S. Stanley* and *S. Weltevreden* were found in both fecal and pork samples; however, PFGE and resistance profiles revealed no relationship between the fecal and pork isolates.

【考察】 In our study, pork at a meat retailer in a rural area of Thailand had a high prevalence of *Salmonella*, which suggested cross contamination from slaughter houses.

平成23年度厚生労働科学研究費補助金
食品の安全確保推進研究事業

分担研究報告書

5. 食品由来 *Listeria monocytogenes* 菌株のリボタイピングによる
分子疫学的解析

研究分担者 岡田由美子
研究協力者 五十君静信

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
分担研究報告書

食品由来 *Listeria monocytogenes* 菌株のリボタイピングによる分子疫学的解析

分担研究者 岡田由美子
国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部 主任研究官
協力研究者 五十君静信
国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部 第一室長

研究要旨

人及び動物に脳脊髄膜炎、流死産を引き起こし、致命率が 20%にも及ぶ重篤な人獣共通感染症リステリア症の原因菌であるグラム陽性の短桿菌である *Listeria monocytogenes* (リステリア) は、自然界に広く分布しており、人への主な感染源は本菌による汚染食品である。欧米諸国では数年に一度の頻度で非加熱食肉製品、乳製品、サラダ類などを原因食品とする大規模な集団事例が発生しているが、これまで日本国内で発生しているリステリア症はその大半が散发例であり、集団事例は 1 例のみが報告されている。食品媒介感染症の原因究明には原因食品の同定が大変重要であるが、1 ヶ月にも及ぶ長い潜伏期間を示すリステリア症の散发事例について、その原因食品を同定するのは困難であり、ほとんどの症例が原因不明のままである。一方、さまざまな食中毒菌において、症例発生時の原因食品同定のために、菌株の DNA を用いた分子疫学的解析が実施されており、リステリアでも国内のいくつかの研究機関において) 法による解析が実施されている。今回、輸入食品及び国内産食品由来のリステリア菌株を分類したデータベース構築の基礎とする目的で、輸入食品から分離されたリステリア及び研究室保有の国内食品からの分離株の型別を、リボタイピングの手法を用いて解析した。その結果、一昨年度実施した Pulse Field Gel Electrophoresis (PFGE) 解析および昨年実施した Multi Locus Variable -number of Tandem Repeat Analysis (MLVA) 法と比較して手技が簡便であり、結果が翌日に得られるため迅速性に優れていることが示された。また、クラスターの型別結果の血清型との相関が他の手法に比べて低く、菌株の由来との相関が高いことが示された。これらの結果から、リステリア症発症時の由来食品の推定のためのデータベースを作成する際には、リボタイピングによる型別が有用性を示すと思われた。

A. 研究目的

動物の腸管内、土壌、河川水や食品工場、冷蔵庫内など様々な環境に存在している *Listeria monocytogenes* (以下リステリア) は、人及び動物に脳脊髄膜炎、流死産を引き起こし、発症時の致命率が 20-30%にも及ぶリステリア症の原因菌である。本菌は高度な環境抵抗性をもち、-1°Cもの低温下での増殖、20%もの食塩濃度下での生存が可能であり、加工・保存過程での増殖制御が困難である。欧米諸国では数年に一度の頻度でリステリア症の集団事例が見られている。平成 23 年 9 月にも米国でカンタロープを原因食品とし

た複数の州にまたがる集団事例が発生しており、146 名の患者数 (うち 30 名が死亡) となった。その他の原因食品としては乳製品、水産物及びその加工品、食肉及びその加工品、サラダ等様々な食品が知られている。我が国においては、年間約 80 例の散发事例があると推定されているが、集団事例は 2001 年に国内産ナチュラルチーズを原因食品とする 1 例が確認されているのみである。食中毒の原因究明には、原因食品の同定が不可欠であるが、髄膜炎、敗血症等の侵襲性リステリア症の潜伏期間は長い場合には 1 ヶ月を超えるため、その原因食品が特定されることはほとん

どない。一方、国内流通食品がある程度本菌に汚染されていることは以前から知られており、分担研究者らが実施した平成 19 年度の厚生労働科学研究「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」の分担研究「輸入非加熱食肉食品の *Listeria monocytogenes* による汚染状況」においても、国内で一般に流通している非加熱食肉製品 68 検体中 4 検体 (5.9%) から、平成 21 年度の食品等検査費で実施された「一般流通食品におけるリステリア汚染実態調査」においては市販非加熱喫食食品 1500 検体中 21 検体 (1.4%) から本菌が分離されていた。これら食品からの分離菌株と患者由来株の分子疫学的情報をデータベースとして集積することにより、散发事例においてもある程度の原因食品の究明が可能になると思われる。本研究では、食品媒介リステリア症の発生を予防するための効率的なリステリアモニタリングシステム構築のための研究の一端として、輸入食品由来株及び国内産食品由来リステリア菌株の効率的な分子型別データベースを構築することを目的として、これらの食品から分離された *L. monocytogenes* のリボタイピングによる解析を実施した。

B. 研究方法

1. 検体

国内産食品由来株 20 株及び輸入食品由来株 7 株の計 27 株の *L. monocytogenes* 菌株に標準菌株として EGD 株を加えた合計 28 株を用いた (表 1)。血清型の内訳は、1/2a が 20 株、1/2b が 3 株、1/2c が 2 株、3b が 1 株、4b が 1 株、4d が 1 株であった。

2. リボタイピングによる分子型別

リボタイピングには Roche 社の Riboprinter System EcoRI Batch Kit を用いた。各菌株を Brain Heart Infusion (BHI) 寒天平板 (Difco) 上で 37°C 一夜培養し、単一コロニーを形成させた。数個の集落を 40 μ l のサンプルバッファーに懸濁し、そのうち 30 μ l をキット付属の 8 連チューブに分注して、所定の機器を用いて加熱工程 (95°C 10 分間) を実施した。その後、Lysing reagent A 液及び B 液各 5 μ l を加え、リボプリンター (Roche)

による解析を実施した。

3. PFGE 及び MLVA による解析結果との比較検討

一昨年及び昨年度に実施した PFGE 及び MLVA による解析結果と、今年度実施したリボタイピングの結果について、デンカ生研の血清を用いた血清型別結果も交えて比較検討した。

C. 研究結果

1. リボタイピングによる分子型別

輸入食品及び国内産食品由来の *L. monocytogenes* のリボタイピング解析の結果を表 1 及び図 1 に示した。その結果、水産食品由来の 16 株のうち 11 株は、その血清型に関わらず同一パターン (A) に分類された。一方、食肉加工品由来株 9 株のうち 3 株がパターン A 及びその類似パターンの A' に分類され、残り 6 株はそれぞれ D, H 及び I に 2 株ずつ分類された。また、チーズ、スモークサーモン、鮭刺身、漬物等の由来株はそれぞれ異なるパターンを示していた。また、ローストビーフ由来株 2 株は同一の製造所において同日に加工された後販売店に出荷された製品であり、ほぼ同一の株と考えられたが、リボタイピングでも同一のパターンを示した。

2. PFGE 及び MLVA による解析結果との比較検討

平成 21 年度及び 22 年度に本研究で実施した研究結果と、今年度のリボタイピングによる解析結果の特徴及び同一菌株の解析で得られた結果を、表 2 に示した。

D. 考察

本研究において、国内産食品由来株 20 株、輸入食品由来株 7 株及び標準菌株 1 株の計 28 株の *L. monocytogenes* 菌株についてリボタイピングによる解析を実施した結果、一昨年度同じ菌株を用いて実施した PFGE 法及び昨年度実施した MLVA 法に比べ、水産食品由来株で同一のパターンを示す株が多い傾向にあったが、それ以外の株は由来によりパターンが大きく異なっており、由来食品をより反映しやすい可能性が示された。そのため、今後様々な食品由来の菌株のリボタイピング

結果を収集、データベース化することにより、原因食品が不明の患者由来株を同様に解析することで、原因食品を推定しうる可能性が考えられた。ただし、リボプリンターによる自動解析結果である Dupont ID Number は、コントロール株として用いた EGD 株の番号の再現性が低かったため、この番号の実用性はあまりなく、泳動パターンの画像解析による結果のみを利用するのが有効であると思われた (表 1)。一方で、MLVA 解析は株の同一性を検出しやすく、PFGE 解析はゲノム全体の相違を観察できるため、多くの菌株情報を含むデータベースを構築する際には、可能な限り様々な型別法の情報を得ることが望ましいと思われた。また、検体調整に多くの時間と労力を要する PFGE 法に比べ、寒天平板上の集落を懸濁した後はほぼ全行程を全自動で実施できるリボタイピングは、実施者の手技レベルに関係なく一定の結果が得られ、データの再現性が高く、他の研究者とのデータの比較・交換が容易であると思われた。一方で、本解析装置及び解析用試薬キットが高価であることが、本解析法の普及に当たっては難点となりうると懸念された。また、現時点ではリステリアの MLVA 解析用プライマーが血清型 4b の型別には不十分であり、国際的研究班により検討がなされている途中であるため (米国 CDC、E. K. Hyytia-Trees 博士、personal communication)、今後の解析は新規プライマーの提案後になされるべきであると思われた。

これらの結果から、様々な由来のリステリア菌株を有効に分類し、散发例を含むリステリア症事例の原因食品を特定するためには、多くの食品由来株や患者由来株について、リボタイピング、PFGE、MLVA 及び薬剤感受性プロファイル等も含めた多面的な解析を行い、それらの情報をデータベース化することが必要であることが示唆された。

E. 結論

本研究の結果、リボタイピングによるリステリア菌株の分子疫学的型別は、一昨年度実施した PFGE 解析及び昨年度実施した MLVA 解析と比較して、手技が全自動化されているため簡便であり、血清型と関連しないクラスタ

ーを形成し、いくつかの食品由来株では特徴的なリボタイプを示したことから、菌株の由来食品の推定に有用である可能性が高いと思われた。しかしながら、解析機器本体と解析用試薬キットが大変効果であることから、多くの試験機関で実施する分子疫学的手法としては普及が困難であることが予想された。また、これまでの成果を比較すると MLVA は株の同一性の判断に有効性が高く、PFGE は大きなクラスタ分けがしやすいなど、それぞれの分子疫学的解析法に一長一短があり、食品及び患者由来リステリア菌株の有益なデータベース作成には、様々な型別法による解析が必要であると思われた。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 学会発表

岡田由美子、門田修子、仲真晶子 1、鈴木穂高、五十君静信、山本茂貴
輸入食品および国内産食品由来 *Listeria monocytogenes* の薬剤感受性プロファイル第 152 回日本獣医学会 (2011. 10)

Okada Y, Monden S, Izumiya H, Nakama A, Igimi S, Yamamoto S
Characteristics of *Listeria monocytogenes* isolated from the retailed foods in Japan
IUMS 2011 (2011. 9)

2. 原著論文

OKADA Y, OKUTANI A, SUZUKI H, ASAKURA H, MONDEN S, NAKAMA A, MARUYAMA T, IGIMI S.
Antimicrobial Susceptibilities of *Listeria monocytogenes* Isolated in Japan
J Vet Med Sci. 2011. 73(12), 1681-1684.

Okada Y, Monden S, Igimi S, Yamamoto S.
Occurrence of *Listeria monocytogenes* in imported ready-to-eat foods in Japan.
J Vet Med Sci. 2012. 74(3), 373-375.

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

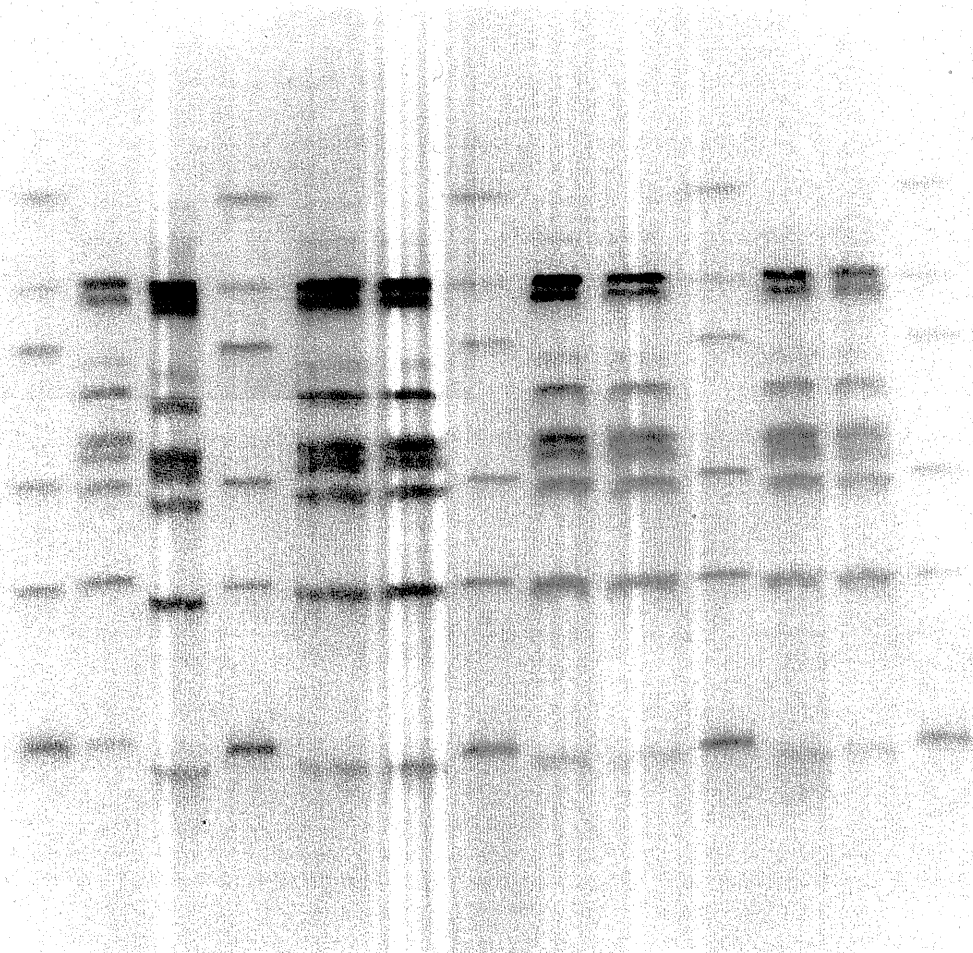
表 1. 使用菌株とその血清型及びリボタイプ

	由来食品	国産/輸入	血清型	分離年	リボタイプ	Dupont ID number
1	ナチュラルチーズ	輸入	1/2a	2010	F	19165
2	ネギトロ	国産	1/2a	2010	A	UT
3	生ハム	国産	4d	2010	A	18603
4	イクラ	国産	1/2a	2010	A	18603
5	ネギトロ	国産	1/2a	2010	A	18603
6	ネギトロ	国産	1/2a	2010	A	18603
7	イクラ	国産	1/2a	2010	A	18603
8	イクラ	国産	4b	2010	A	19165
9	ネギトロ	国産	1/2a	2010	A	20225
10	マグロ刺身	国産	1/2a	2010	A	20225
11	スモークサーモン	国産	1/2a	2010	A	20225
12	ネギトロ	国産	1/2a	2010	A	20225
13	スモークサーモン	国産	1/2a	2010	B	19169
14	サラミ	輸入	1/2c	2007	A'	20247
15	鮭刺身	国産	1/2b	2010	C	19175
16	ローストビーフ	国産	1/2a	2010	D	1042
17	ローストビーフ	国産	1/2a	2010	D	18627
18	明太子	国産	1/2a	2010	E	19165
19	明太子	国産	1/2a	2010	A	1030
20	白菜漬け	国産	1/2b	2010	G	1062
21	イクラ	国産	1/2a	2010	G	1062
22	サラミ	輸入	1/2a	2007	H	19165
23	生ハム	輸入	1/2a	2007	H	1045
24	サラミ	輸入	3b	2007	I	1045
25	サラミ	輸入	1/2b	2007	I'	1042
26	生ハム	輸入	1/2c	2007	A	1042
27	ネギトロ	国産	1/2a	2010	J	20225
28	EGD	標準株	1/2a	不明	A	18603/20225/19157

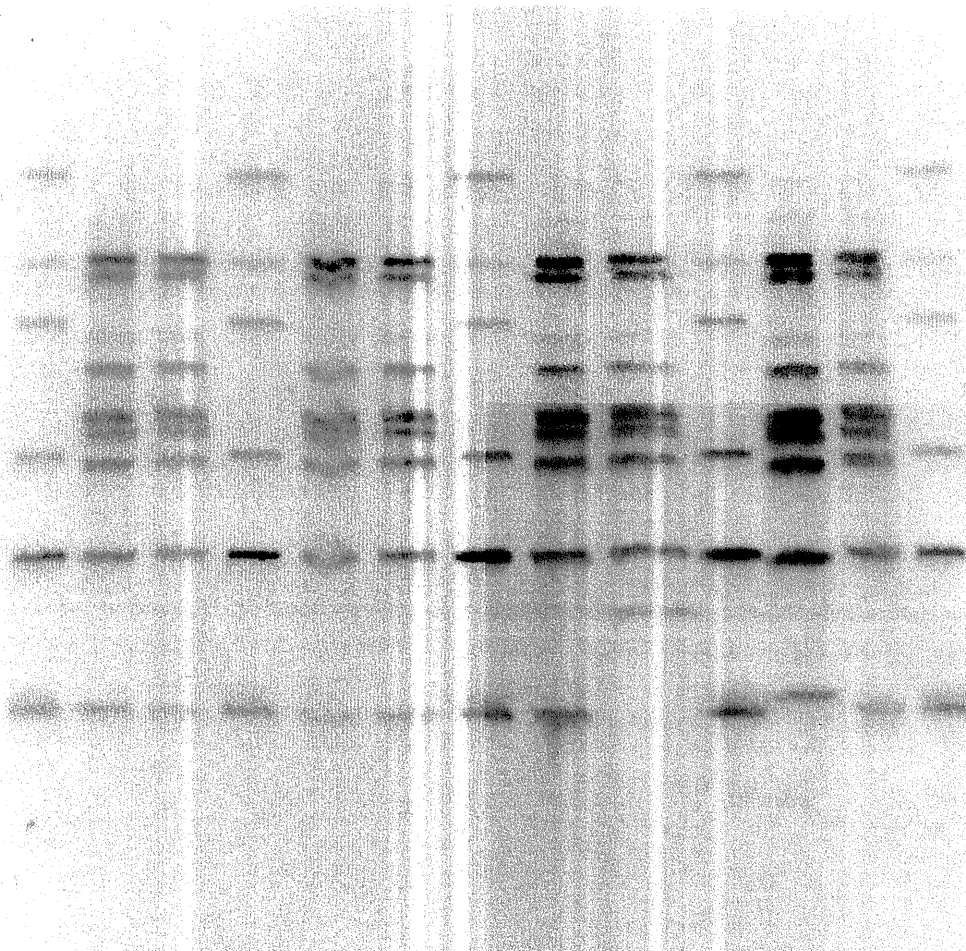
表 2. リボタイピング、PFGE、MLVA 及び血清型別の比較検討

	リボタイピング	PFGE	MLVA	血清型
純培養菌株からの解析所要時間	18 時間	4 日	2 日	2 時間
簡便さ 取得データ	全自動 画像	難易 画像	やや簡便 波形	簡便 凝集
同一性評価結果(ローストビーフ由来株)	両株とも A	58%	100%	両株とも 1/2a
(サラミ由来株)	I 及び I'	62%	100%	1/2b 及び 3b

M 1 2 M 3 4 M 5 6 M 7 C M



M 8 9 M 10 11 M 12 13 M 14 C M



M 15 16 M 17 18 M 19 20 M 21 C M

