

資料

広島県内の動物と散発下痢症患者から分離されたサルモネラの疫学的比較検討

竹田 義弘, 東久保 靖, 小川 博美

Epidemiological Studies on *Salmonella* Strains Isolated from Patients with Sporadic Diarrhea and Animals in Hiroshima Prefecture

YOSHIHIRO TAKEDA, YASUSHI TOKUBO and HIROMI OGAWA

(Received Nov. 26, 2002)

県内の動物（牛，豚，鶏，犬，猫）と散発下痢症患者から分離されたサルモネラ（*Salmonella*）についての血清型，薬剤感受性および分子疫学的解析による疫学的比較検討を行った。

- (1) 調査した動物880検体（牛176頭，豚169頭，鶏227羽，犬186頭，猫122頭）のうち72検体からサルモネラが検出された。検出率は8.2% (72/880検体)と低かったが，牛を除いたすべての種類の動物からサルモネラは検出された。特に鶏からの検出率は27.3% (62/227検体)と高く，サルモネラを分離した検体の86.1% (62/72検体)を占めた。分離された72株の血清型は，*S. Infantis* が64株（88.9%）と最も多く，次いで*S. Mikawasima* 4株，*S. Thompson* 1株，*S. Enteritidis* 1株および型別不能2株であった。最も分離頻度の高かった*S. Infantis*は，その95.3% (61/64株)が鶏から分離された。型別不能を除いた70株に実施した薬剤感受性試験の耐性率は95.7% (67/70株)と高かった。*S. Infantis*の耐性率は98.4% (63/64株)と著しく高く，SM.KM.TC.TMP 4剤耐性型が多かった。
- (2) 散発下痢症患者88人の年齢層は，20歳未満が49人(55.7%)と半数以上を占めた。最も検出率の高かった年齢層は10歳未満の32人(36.4%)で，そのうち0～4歳の乳幼児が21人と多かった。また，20歳未満では男性が女性よりも患者数が多い傾向が認められた。分離された88株の血清型は10種類に型別された。そのうち*S. Enteritidis*，*S. Infantis*，*S. Thompson*および*S. Typhimurium*の4血清型が全体の90.9% (80/88株)を占めた。特に*S. Enteritidis*は分離株の76.1% (67/88株)を占め最も多かった。ヒト由来株の薬剤耐性率は60.2% (53/88株)と動物由来株と比べて低かった。最も分離頻度の高かった*S. Enteritidis*の耐性率は59.7% (40/67株)と高く，SM1剤耐性型が多かった。
- (3) 動物由来株とヒト由来株に共通した血清型は*S. Infantis*，*S. Thompson*および*S. Enteritidis*の3種類であった。この3血清型について薬剤感受性試験，プラスミドプロファイル，AP-PCR法およびPFGE法を用いた疫学的マーカーの解析を行った。その結果，*S. Infantis*には，保有プラスミドと薬剤耐性型の性状が一致し，genotypeも非常に類似した鶏由来株とヒト由来株が認められ，それらの菌株間には疫学的な関連性が示唆された。その他の血清型は，薬剤耐性型またはgenotypeが異なり，菌株間の関連性は認められなかった。

キーワード：サルモネラ，動物，散発下痢症，血清型，薬剤感受性

はじめに

サルモネラ (*Salmonella*)は各種動物が保菌し，食品や動物との接触を介してヒトに感染する。わが国では1989年以降，サルモネラによる食中毒や下痢症が急増している。その原因は*Salmonella* *Enteritidis*(以下*S. Enteritidis*と略す)の増加で，原因食品には卵類およびその加工品等が多い。

サルモネラによる急性胃腸炎は一般的に症状が重く，小児や高齢者，病院患者などの易感染性宿主では重症化しやすい[1]。また，近年においても毎年のように食

中毒事件で死者の発生がみられている[2,3]。このことからサルモネラ下痢症の発生状況の把握と，感染源についての調査は，本菌による食中毒，下痢症を未然に防止する対策として重要である。そのため今回，県内の家畜，家禽，ペット動物および散発下痢症患者から分離されたサルモネラの血清型と薬剤感受性について調査した。また，動物由来株と散発下痢症患者由来株に共通した血清型については，分子疫学的解析を行い，菌株間の疫学的な関連性を検討したので報告する。

材料および方法

1. 調査期間および材料

- (1) 家畜と家禽は、1998年6月から2002年8月までの4年2ヶ月間に、県内の食肉、食鳥処理場で解体された牛176頭、豚169頭および鶏（ブロイラー）227羽の腸管内容物（牛、豚は直腸部分、鶏は盲腸部分）を採取し、試料とした。ペット動物は動物愛護センターに捕獲または放棄された犬186頭、猫122頭を個別のゲージに飼育して糞便を採取し、試料とした。
- (2) 散発下痢症患者由来株（以下、ヒト由来株）は、2002年4月から8月までの4ヶ月間に、県内を東部、西部、南部、北部の4ブロックに分けた中の8つの医療・検査機関で分離された88株を供試した。

2. サルモネラの分離、同定法

- (1) 動物試料はSBGスルファ培地（栄研）で43℃、18～20hr増菌培養した後、MLCB寒天培地（ニッスイ）とSS寒天培地（ニッスイ）に塗抹し37℃、20hr培養して菌分離した。分離株の同定は常法 [4] に従った。
- (2) 動物およびヒト由来株の血清型は、サルモネラ診断用免疫血清（デンカ生研）を用いて型別した。

3. 薬剤感受性試験

感受性試験はNCCLS法に準拠し、一濃度ディスク法（センシディスク（BBL））により実施した。

菌液はバイオピック（ニッスイ）を用いて調整した。使用薬剤にはアンピシリン（ABPC）、ストレプトマイシン（SM）、カナマイシン（KM）、ゲンタマイシン（GM）、セファロチン（CET）、テトラサイクリン（TC）、シプロフロキサシン（CPFX）、ナリジクス酸（NA）、オフロキサシン（OFLX）、クロラムフェニコール（CP）、トリメトプリム（TMP）、ホスホマイシン（FOM）の12薬剤を使用した。

4. 分子疫学的解析

動物由来株とヒト由来株に共通した血清型は、保有プラスミドと薬剤耐性型により分類し、その代表株を AP-

PCR法とPFGE法により解析した。

(1) プラスミドプロファイル

Kadoらの方法 [5] によってプラスミドを抽出した。抽出したプラスミドは0.7%アガロースゲルで電気泳動した後、エチジウムブロマイド染色してから写真撮影した。プラスミドの分子量サイズはS. Braenderup(100Kbp：東京医科歯科大学医学部微生物学教室 堀内三吉教授より分与)、E.coli V517(54.2Kbp,2.7Kbp) S. Enteritidis (60Kbp)をマーカーとして測定した。

(2) AP-PCR法

PCRのprimerにはAP40(5'-CCGCAGCCAA-3')[6]を合成して用いた。templateDNAにはマクファーランド0.5度に調整した菌液を95℃、5min加熱し、12,000rpm、5min遠心分離した上清を用いた。PCRの反応条件および電気泳動は既報 [7] に準じた。

(3) パルスフィールド・ゲル（PFGE）電気泳動法

菌体の包埋、溶菌処理および制限酵素処理は、国立感染症研究所の方法 [8] に準拠した。アガロースプラグは制限酵素Bln（TaKaRa：40U/plug、37℃、16hr）により切断した。電気泳動にはBIO-RAD CHEF MAPPERを用い、泳動条件は既報 [7] に準じた。

結 果

1. 動物からのサルモネラの検出状況

動物の種類別にサルモネラの検出数と血清型を表1に示した。全試料880検体のうち72検体（8.2%）からサルモネラを検出した。最も検出率が高かったのは鶏の27.3%（62/227検体）で、サルモネラを分離した検体の86.1%（62/72検体）を占めた。次いで猫3.3%（4/122検体）、犬2.2%（4/186検体）および豚1.2%（2/169検体）の順で、牛からは検出されなかった。

分離された72株の血清型は4種類に型別された。そのうち最も分離頻度が高かった血清型は、S. Infantis の64株（88.9%）であった。次いでS. Mikawasima 4株（5.6%）、S. Thompson 1株（1.4%）、S. Enteritidis 1株（1.4%）および型別不能2株（2.8%）であった。

動物の種類別では、S. Infantis は64株のうち鶏から61

表1 調査した動物と分離されたサルモネラの検出数、血清型

血清型	牛 176頭	豚 169頭	鶏 227羽	犬 186頭	猫 122頭	合計 880検体
○7 S. Infantis		1	61	2		64 (88.9%)
S. Mikawasima				1	3	4 (5.6%)
S. Thompson				1		1 (1.4%)
○9 S. Enteritidis		1				1 (1.4%)
型別不能			1		1	2 (2.8%)
合計 (検出率)		2 (1.2%)	62 (27.3%)	4 (2.2%)	4 (3.3%)	72 (8.2%)

株(95.3%), 犬から2株, 豚から1株が分離された。S. Mikawasima は4株のうち猫から3株, 犬から1株が分離された。S. Thompson は犬から1株, S. Enteritidis は豚から1株が分離された。型別不能は鶏と猫からそれぞれ1株が分離された。

2. ヒト由来株の血清型

散発下痢症患者88人の年齢・性別とサルモネラの検出数を10歳区分で表2に示した。最も検出率の高かった年齢層は0～9歳の36.4%(32人), 次いで10～19歳の19.3%(17人)と20歳未満が全体の55.7%(49/88人)を占めた。特に10歳未満からの検出率は20歳以上の年齢層と比較して3.6倍(50-59歳:10.2%)～15.8倍(70歳:2.3%)も高かった。また, 10歳未満の年齢層を0～4歳と5～9歳に区分すると, 5歳未満が21人と10歳未満の65.6%(21/32人)を占め, 乳幼児からの検出率が高かった。

患者の性別では男性が55.7%(49/88人)を占めた。年齢層では20歳未満は男性からの検出率が女性よりも1.7倍(男31/女18人)高かったが, 20歳以上では0.9倍(男14/女16人)と, ほとんど差は認められなかった。

分離されたサルモネラ88株の血清型を表3に示した。分離株の血清型は10種類に型別された。そのうちS. Enteritidisが76.1%(67/88株)を占め最も多かった。次いでS. Infantis 6.8%(6株), S. Thompson 4.5%(4株), S. Typhimurium 3.4%(3株), S. Bareilly 2.3%(2株), S. Manhattan 2.3%(2株)およびS. Miyazaki, S. Newport, S. Weltevreden, S. Isangi がそれぞれ1.1%(1株)であった。

このうち最も分離頻度の高かったS. Enteritidisは, すべての年齢層から分離された。次いで分離頻度の高かったS. Infantisは, 20歳未満の年齢層から分離された。また, S. Enteritidis, S. InfantisおよびS. Thompsonの上位3血清型は, 動物由来株の血清型と一致した。

3. 分離株の薬剤感受性

(1) 動物由来株

動物由来72株のうち, 型別不能の2株を除いた70株に実施した薬剤感受性試験の耐性型を表4に示した。供試株のうち67株がいずれかの薬剤に耐性を示し, 耐性率は95.7%(67/70株)と高かった。

最も分離頻度の高かったS. Infantisの耐性率は, 98.4%(63/64株)と著しく高かった。その耐性型を動物の由来別で比較すると, 犬由来株はSM.TC.TPM 3剤耐性型を示したが, 鶏由来株は4タイプに分類され, そのうちSM.KM.TC.TMP 4剤耐性型が77.0%(47/61株)を占めた。豚由来株は感受性株であった。

その他の血清型では, S. MikawasimaはSMとFOM 1剤耐性型, S. EnteritidisはFOM 1剤耐性型を示した。S. Thompsonは感受性株であった。

(2) ヒト由来株

ヒト由来88株の薬剤耐性型を表4に示した。そのうち53株がいずれかの薬剤に耐性を示し, 耐性率は60.2%(53/88株)であった。

最も分離頻度の高かったS. Enteritidisの耐性率は59.7%(40/67株)であった。その耐性型は11タイプに分類

表2 サルモネラが分離された散発下痢症患者の年齢, 性別

性別	0-9歳		10-19歳	20-29歳	30-39歳	40-49歳	50-59歳	60-69歳	70歳	不明	合計
	0-4歳	5-9歳									
男	13	6	12	2	1	2	5	4		4	49(55.7%)
女	8	5	5	2	2	3	4	3	2	5	39(44.3%)
合計 (検出率)	32 (36.4%)		17 (19.3%)	4 (4.5%)	3 (3.4%)	5 (5.7%)	9 (10.2%)	7 (8.0%)	2 (2.3%)	9 (10.2%)	88

表3 散発下痢症患者から分離されたサルモネラの血清型と分離年齢

血清型	0-9歳	10-19歳	20-29歳	30-39歳	40-49歳	50-59歳	60-69歳	70歳	不明	合計
O4 S. Typhimurium		1				2				3(3.4%)
O7 S. Infantis	6	1								6(6.8%)
S. Isangi			1							1(1.1%)
S. Thompson	1	1		1			1			4(4.5%)
S. Bareilly	2									2(2.3%)
O8 S. Manhattan	2									2(2.3%)
S. Newport							1			1(1.1%)
O9 S. Enteritidis	22	14	3	2	5	7	5	2	7	67(76.1%)
S. Miyazaki									1	1(1.1%)
O8,10 S. Weltevreden									1	1(1.1%)
合計 (検出率)	32 (36.4%)	17 (19.3%)	4 (4.5%)	3 (3.4%)	5 (5.7%)	9 (10.2%)	7 (8.0%)	2 (2.3%)	9 (10.2%)	88

表4 動物由来株と散発下痢患者由来株の薬剤耐性型

O群 血清型	薬剤耐性型	株 数		
		動物由来株	ヒト由来株	
O4 <i>S.Typhimurium</i>	SM		2	
	SM TC		1	
O7 <i>S.Infantis</i>	---	1 (豚)	1	
	SM TC		1	
	SM KM TC	1 (鶏)		
	SM TC TMP	13 (犬2, 鶏11)		
	ABPC SM KM TC		2	
	SM KM TC TMP	47 (鶏)	2	
	SM KM TC TMP CP	2 (鶏)		
	<i>S.Isangi</i>	ABPC SM CET TC TMP FOM		1
	<i>S.Thompson</i>	---	1 (犬)	3
		SM		1
<i>S.Bareilly</i>	---		2	
<i>S.Mikawasima</i>	---	1 (鶏)		
	SM	2 (犬, 鶏)		
	FOM	1 (鶏)		
O8 <i>S.Manhattan</i>	---		1	
	SM TC		1	
<i>S.Newport</i>	TC		1	
O9 <i>S.Enteritidis</i>	---		27	
	SM		20	
	CET		1	
	NA		2	
	TMP		1	
	FOM	1 (豚)		
	ABPC SM		2	
	ABPC TMP		7	
	NA FOM		2	
	ABPC SM CET		2	
	ABPC SM TMP		1	
	ABPC NA TMP		1	
	ABPC SM CP TMP		1	
	<i>S.Miyazaki</i>	SM		1
O8,10 <i>S.Weltevreden</i>	---		1	
	合 計	70	88	

表5 *S.Infantis*の薬剤耐性型と保有プラスミド

薬剤耐性型	プラスミドサイズ(Kbp)	株 数	
		動物由来株	ヒト由来株
---	---	1 (豚)	1
SM TC	200		1
SM KM TC	200	1 (鶏)	
SM TC TMP	200	13 (犬2, 鶏11)	
ABPC SM KM TC	200		1
	200 40		1
SM KM TC TMP	200	47 (鶏)	2
SM KM TC TMP CP	200	2 (鶏)	
	合 計	64	6

され、そのうち単剤耐性型が60.0% (24/40株)を占め、多剤耐性型よりも多かった。単剤耐性型ではSM 1 剤耐性型が83.3%(20/24株)、多剤耐性型ではABPC. TMP 2 剤耐性型が43.8%(7/16株)を占めた。動物から唯一分離された豚由来株と同じFOM 1 剤耐性型は認められなかった。次いで分離頻度の高かった *S. Infantis*の耐性型は3タイプに分類され、そのうちABPC. SM. KM. TC 4 剤耐性型とSM. KM. TC. TMP 4 剤耐性型の2タイプが多かった。その他の血清型では、*S. Thompson*と*S. Miyazaki*はSM 1

剤耐性型、*S. Newport*はTC 1 剤耐性型、*S. Typhimurium*はSM 1 剤耐性型とSM, TC 2 剤耐性型、*S. Manhattan*はSM. TC 2 剤耐性型を示した。*S. Isangi*はABPC. SM. CET. TC. TMP. FOM 6 剤耐性型であった。*S. Bareilly*と*S. Weltevreden*は感受性株であった。

4. 動物由来株とヒト由来株に共通した血清型の疫学的マーカーによる解析
動物由来株とヒト由来株に共通した血清型の *S.*

表6 S. Enteritidisの薬剤耐性型と保有プラスミド

薬剤耐性型	プラスミドサイズ(Kbp)	株数	
		動物由来株	ヒト由来株
---	17		1
	60		22
	80 60		1
	60 4.3 3.6		2
	80 60 3.4		1
SM	60		18
	60 42		1
	60 5.6 4.3 3.6		1
CHT	60 5.6 3.0		1
NA	60		2
TMP	60		1
FCM	60	1 (豚)	
ABPC SM	60 38		2
ABPC TMP	60		7
NA FCM	60		2
ABPC SM CHT	60 38		2
ABPC SM TMP	60		1
ABPC NA TMP	60		1
ABPC SM CP TMP	60		1
	合計	1	67

表7 S. Thompsonの薬剤耐性型と保有プラスミド

薬剤耐性型	プラスミドサイズ(Kbp)	株数	
		動物由来株	ヒト由来株
---	---	1 (犬)	2
	100		1
SM	---		1
	合計	1	4

Infantis, S. EnteritidisおよびS. Thompsonについて、保有プラスミドと薬剤耐性型を性状別に分類し、表5、表6および表7に示した。また、その性状が一致した動物由来株とヒト由来株の代表株についてAP-PCR法とPFGE法による分子疫学的解析を行い、図1、図2および図3に示した。

(1) S. Infantisの解析(表5, 図1)

S. Infantisの性状は8タイプに分類された。動物の種類では豚、鶏および犬から分離されたが、そのうち豚由来株と鶏由来株のSM, KM, TC, TMP 4剤耐性型には、同じ性状のヒト由来株が認められた。犬由来株には同じ性状のヒト由来株は認められなかった。

それぞれの性状に分類された代表株の分子疫学的解析では、豚由来株(Lane 1)とヒト由来株(Lane 2)のPFGEパターンは異なっていた。一方、鶏由来株(Lane 11, 12)のAP-PCRパターンとPFGEパターンは共にヒト由来株(Lane 13, 14)と非常に類似していた。しかし、性状の異なる鶏由来株、犬由来株およびヒト由来株もAP-PCRパターンとPFGEパターンは類似したパターンを示した。

(2) S. Enteritidisの解析(表6, 図2)

S. Enteritidisの性状は19タイプに分類された。動物の種類では豚から分離されたが、その豚由来株と同じ性状のヒト由来株は認められなかった。

代表株の分子疫学的解析では、性状の異なった菌株間においてもAP-PCRパターンはいずれも類似していた。

(3) S. Thompsonの解析(表7, 図3)

S. Thompsonの性状は3タイプに分類された。動物の種類では犬から分離され、その犬由来株と同じ性状を示すヒト由来株が認められた。

分離株すべての分子疫学的解析を行った結果、犬由来株(Lane 1)とヒト由来株(Lane 3, 4)は、PFGEパターンは類似したが、AP-PCRパターンは異なっていた。しかし、PFGEパターンは保有プラスミドの性状が異なる株(Lane 2)を除きすべて類似していた。

考 察

1980年代後半から鶏卵関連食品を原因としたS. Enteritidisによる下痢症が増加している。そのため、これまでも鶏卵や鶏肉の汚染調査や食鳥処理場、GPセンターおよび液卵製造施設などの実態調査、食鳥処理施設、GPセンターの衛生管理の研究など各方面からの調査や対策が行われてきた[9-13]。しかし、そうした原因究明や感染防止対策の取り組みにも係わらず、サルモネラ下痢症は減少していない。そのため今回、県内のサルモネラ下痢症の発生状況を把握するとともに、感染源

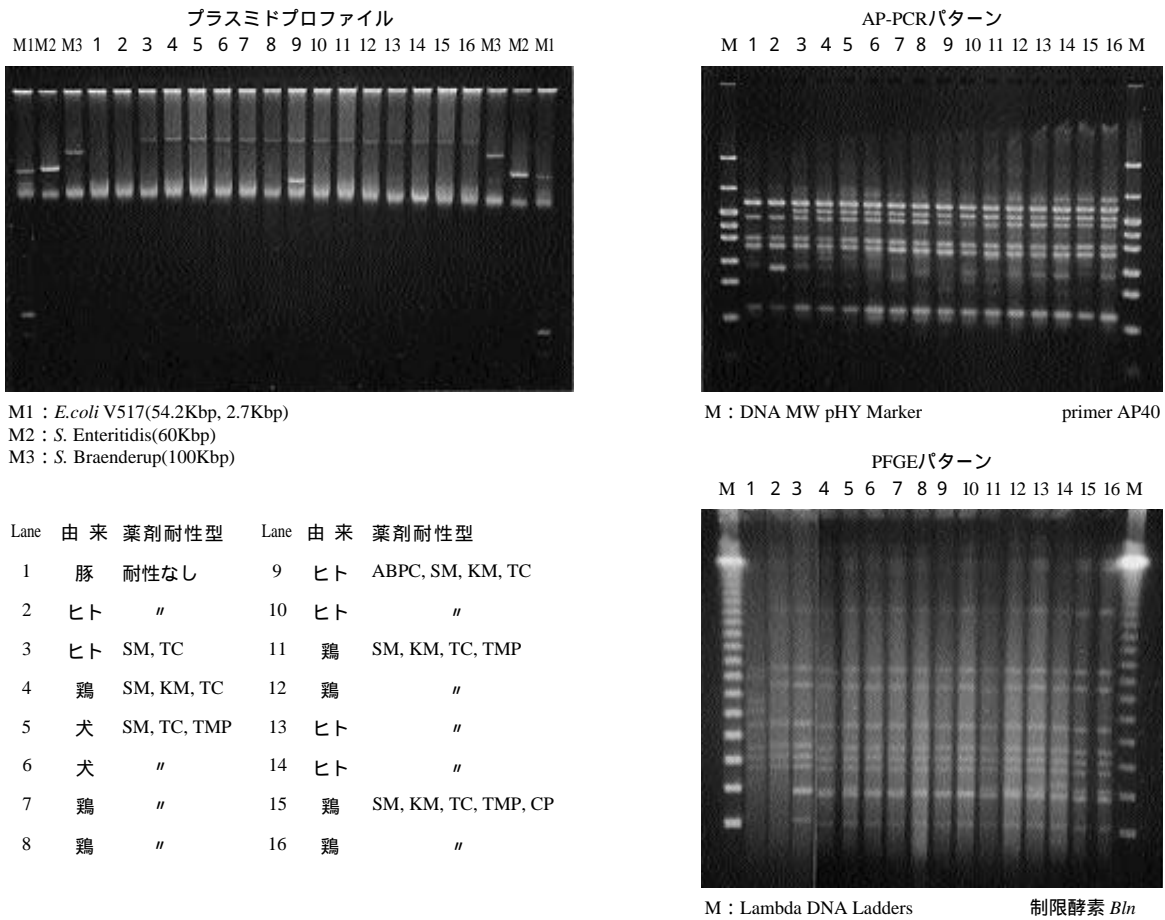
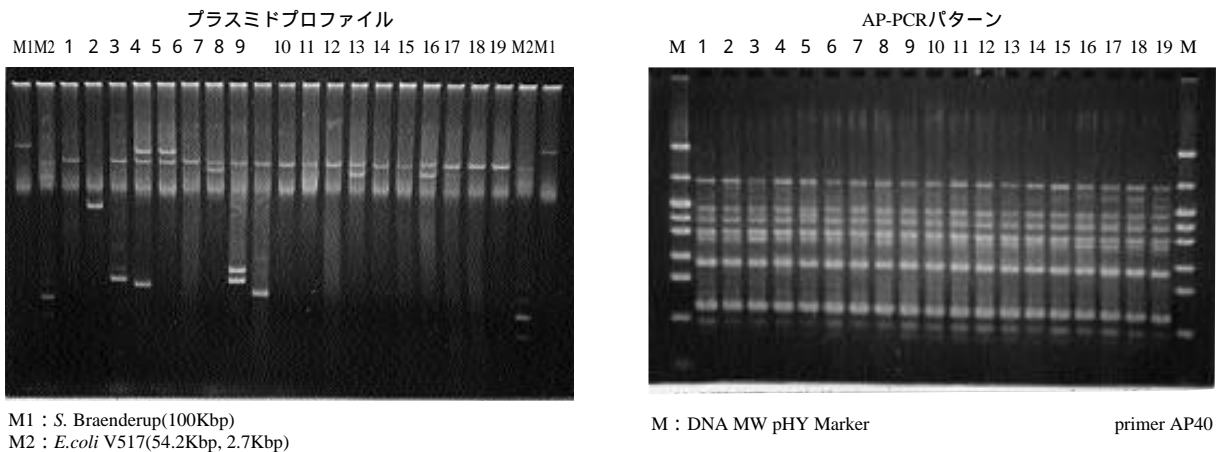
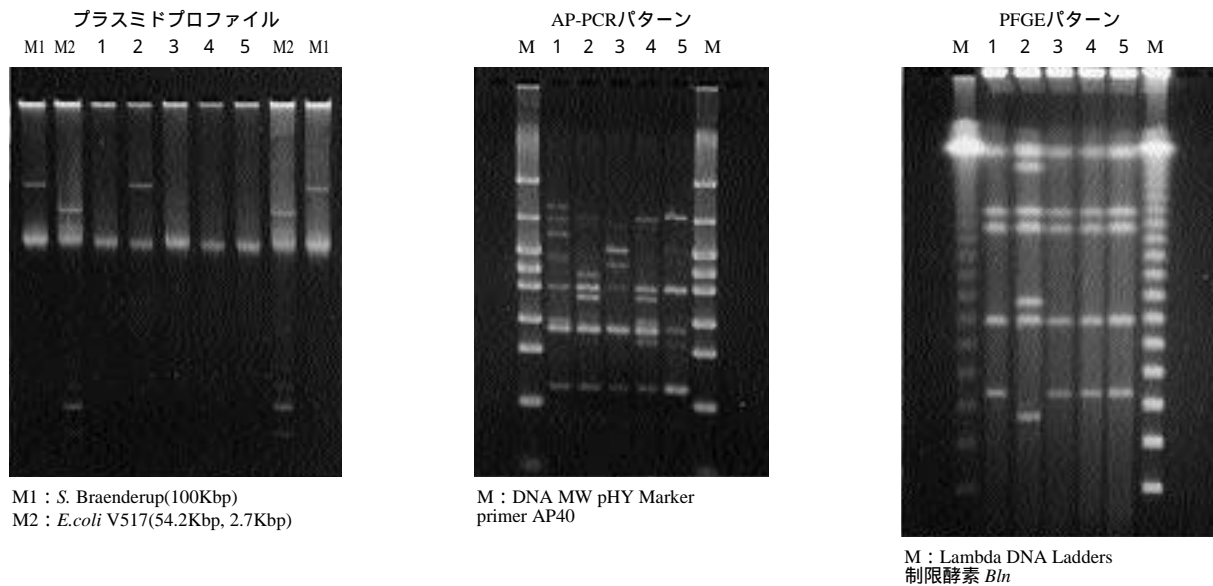


図1 *S. Infantis* の遺伝子解析



Lane	由来	薬剤耐性型	Lane	由来	薬剤耐性型	Lane	由来	薬剤耐性型
1	ヒト	耐性なし	8	ヒト	SM	14	ヒト	ABPC, TMP
2	ヒト	"	9	ヒト	CET	15	ヒト	NA, FOM
3	ヒト	"	10	ヒト	NA	16	ヒト	ABPC, SM, CET
4	ヒト	"	11	ヒト	TMP	17	ヒト	ABPC, SM, TMP
5	ヒト	"	12	豚	FOM	18	ヒト	ABPC, NA, TMP
6	ヒト	S M	13	ヒト	ABPC, SM	19	ヒト	ABPC, SM, CP, TMP
7	ヒト	"						

図2 *S. Enteritidis* の遺伝子解析



Lane	由来	薬剤耐性型	Lane	由来	薬剤耐性型
1	犬	耐性なし	4	ヒト	耐性なし
2	ヒト	"	5	ヒト	SM
3	ヒト	"			

図3 S. Thompsonの遺伝子解析

の対策のため家畜, 家禽およびペット動物のサルモネラ 保菌実態を調査し, ヒト由来株と動物由来株との関連性 について疫学的比較検討を行った.

(1) 動物のサルモネラ保菌実態

動物からのサルモネラの検出率は8.2%と低かったが, 鶏からの検出率は27.3%と他の動物(0%(牛)~3.3%(猫)) と比べて著しく高く, 鶏(ブロイラー)はサルモネラに 汚染されているものが多いことが判明した. また, 動物 から分離されたサルモネラの血清型は S. Infantis, S. Mikawasima, S. ThompsonおよびS. Enteritidisの4種類と 型別不能に分類され, 今回調査対象とした動物が保有す るサルモネラの血清型の種類は少なかった. そのうちS. Infantisについては, 全分離株の88.9%を占め, その 95.3%が鶏から分離されていたことから, 鶏は他の動物 と比べてS. Infantisを保菌しているものが多いことが明 らかとなった. 一方, 最も多いサルモネラ下痢症の原因 菌として鶏との関連性が指摘されているS. Enteritidisは, 今回の調査では鶏からは検出されず, 感染源としての疫 学的な解明はできなかった. しかし, 鶏や鶏肉からのサル モネラの検出状況については, 他者の報告[9, 14-18] においても我々と同様にS. Infantisを高頻度に分離し, S. Enteritidisは検出されていないか, 検出しても検出数は 少なかった. このことから, 鶏肉, ブロイラーの主要 な汚染菌種はS. Infantisと推察された. 今後, 産卵鶏や 輸入鶏肉についても調査し, ブロイラーと比較検討しな

ければならないと思われた.

(2) サルモネラ下痢症の発生状況

ヒト由来株の血清型は10種類に型別され, 動物由来株 と比べて血清型の種類は多かった. そのうち S. Enteritidisは, 分離株の76.1%を占め最も分離頻度が高か った. 次いでS. Infantis(6.8%), S. Thompson(4.5%)および S. Typhimurium(3.4%)が多く, この4血清型で分離株全 体の約9割(90.8%)を占めた. この検出状況は, 他者 の報告[19-21]とほぼ一致し, 県内のサルモネラ下痢 症も他県と同様な発生状況であることが明らかとなっ た. また, サルモネラ下痢症の発生は20歳未満の年齢層 に多く, この年齢層だけで患者の半数以上(55.7%)を占 めた. 特に10歳未満からの検出率(36.4%)は, 他の年齢 層の3.6倍~15.8倍も高く, そのうち5歳未満の乳幼児が 多いことが明らかとなった. そのため, サルモネラ下痢 症の防止には低年齢層, 特に乳幼児に対する感染防止対 策が重要と考えられた.

(3) 分離株の薬剤耐性

動物由来株の薬剤耐性率は95.7%と高く, SM, KM, TC, TMPの4剤に単剤または多剤耐性を示す株が多か った. 特に最も分離頻度の高かったS. Infantisの耐性率 は98.4%と著しく高く, この高耐性率が動物由来株全体 の耐性率に影響していた. また, S. Infantisはすべて2 剤以上の薬剤に耐性を示し, 特に鶏由来株はSM, KM, TC, TMP 4剤耐性型が77.0%を占め, 県内の鶏が保菌し

ている *S. Infantis* は著しく多剤耐性化していることが判明した。その他の血清型は耐性株が多かったものの、すべて単剤耐性型であった。

ヒト由来株の薬剤耐性率は60.2%と動物由来株と比べて低く、ABPC, SM, TC, TMPの4剤に単剤または多剤耐性を示す株が多かった。特に最も分離頻度の高かった *S. Enteritidis* の耐性率は59.7%と半数以上が耐性株であったが、その60.0%は単剤耐性型でSM1剤耐性型が83.3%を占めていた。しかし、動物由来株と同じFOM1剤耐性株は認められなかった。この成績は他者の報告[20, 21]とほぼ一致し、県内の *S. Enteritidis* の薬剤耐性の動向については、今後も継続した調査が必要と思われた。また、*S. Enteritidis* に次いで分離頻度の高かった *S. Infantis* は、すべて2剤以上の薬剤に耐性を示し、ヒト由来株も動物由来株と同様に多剤耐性化していることが分かった。特にSM, KM, TC, TMP 4剤耐性型は、鶏由来株の耐性型と一致し、疫学的な関連性も示唆された。

一方、近年多剤耐性株の増加が指摘されている *S. Typhimurium* は、SM1剤耐性型が多く、3剤以上の耐性株は認められなかった。また、*S. Isangi* は6剤耐性型で、今回分離された血清型の中では最も多くの薬剤に耐性を示し、今後の動向が注目された。

(4) 動物由来株とヒト由来株の疫学的関連性

動物由来株のうち *S. Infantis*, *S. Thompson* および *S. Enteritidis* の3血清型はヒトからも分離され、下痢症に関与していることが疑われたため、保有プラスミドと薬剤耐性型の性状が一致した代表株について、分子疫学的解析を行い、菌株間の相同性を比較した。その結果、*S. Infantis* のうち豚由来株はヒト由来株と genotype が異なり、菌株間の関連性は認められなかった。しかし、鶏由来株についてはヒト由来株と genotype が非常に類似し菌株間の相同性が高かった。また、*S. Infantis* は20歳未満の患者から多く分離されており、この年齢層は鶏肉食品を好む者が多いことから、疫学的に菌株間の関連性は高いと思われた。しかし、保有プラスミドと薬剤耐性型の性状の異なる鶏、犬およびヒト由来株の genotype も類似していたことから、近縁度の高い菌が広く分布していることが推察された。一方、*S. Enteritidis* と *S. Thompson* の動物由来株とヒト由来株については、前者は薬剤耐性型が異なっていたこと、後者は2つの遺伝子解析法で解析した結果が一致しなかったことから疫学的関連性は低いと思われた。しかし、両血清型とも動物由来株とヒト由来株の genotype は類似していたことから、*S. Infantis* と同様に近縁度の高い菌が広く分布していることが推察された。

まとめ

今回の疫学的調査では、県内の家畜、家禽およびペット動物のサルモネラ保菌実態と、ヒトのサルモネラ下痢症の発生状況が把握できた。しかし、ヒトのサルモネラ下痢症については、従来から鶏（主に鶏卵）の関与が指摘されているが、今回の調査では、サルモネラ下痢症の主要な血清型であった *S. Enteritidis* は鶏からは検出されず、下痢症との関係は明らかにされなかった。しかし鶏由来の *S. Infantis* については、疫学的マーカーの解析で、ヒト由来株と genotype の相同性も高く、疫学的な関連性が示唆される菌株を認めた。また、鶏からのサルモネラの検出率は、調査した他の動物と比べて高かったことから、食生活と密接に関係している食鳥処理施設や鶏肉の流通・販売における衛生管理の徹底が必要と思われた。さらに、サルモネラ下痢症の発生前年齢が乳幼児に多かったことから、育児に携る消費者への鶏肉類の衛生的な取り扱いの啓発も必要と思われた。

謝 辞

稿を終えるにあたり、プラスミドマーカー菌株を分与いただきました東京医科歯科大学医学部微生物学教室 堀内三吉 博士、動物試料の採取にご協力いただきました広島県動物愛護センター、広島県食肉衛生検査所、福山市動物愛護センター 福山市食肉衛生検査所の職員方、貴重な菌株を分与いただきました県立広島病院、呉市医師会病院臨床検査センター、三原市医師会病院、尾道市立市民病院、国立福山病院、福山市医師会総合健診センター、公立三次中央病院、三次地区医師会臨床検査センターの先生方に深謝いたします。

参考文献

- [1] 相楽裕子(2000): サルモネラ属(治療を中心に). 臨床と微生物, 27(5), 499-503.
- [2] 厚生省生活衛生局食品保健課(1996, 1997, 1998): 平成8年, 平成9年, 平成10年全国食中毒統計.
- [3] 厚生労働省医薬品局食品保健部監視安全課(1999): 平成11年全国食中毒事件録.
- [4] 坂崎利一(2000): 新訂食水系感染症と細菌性食中毒, サルモネラ. 中央法規出版, 東京.
- [5] Kado, C.I. and Liu, S.T. (1981): Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids. J.Bacteriol., 145(3), 1365-1373.
- [6] 牧野荘一(1995): RAPD-DNAフィンガープリンティング法. モダンメディア, 41(5), 186-194.
- [7] 竹田義弘, 東久保靖, 井上佳織 他(2001): G型,

- 型エンテロトキシン遺伝子を保有した黄色ブドウ球菌が原因と推定された食中毒事例．広島保健研報告, 9, 31-37．
- [8] 国立感染症研究所細菌部 (1997) : 腸管出血性大腸菌O157大腸菌の検出 解析等の技術研修マニュアル．
- [9] 紫竹美和子, 五十嵐美佳子, 丸山智子 他(1998) : 鶏卵及び鶏肉のサルモネラ・エンテリティディス汚染状況．新潟保健研年報, 14, 101-105．
- [10] 田沢 崇, 昆美也子, 佐々木寿子 他(1995) : 食鳥処理場におけるサルモネラ・エンテリティディス保菌産卵鶏の検出に関する調査．新潟衛公研年報, 11, 57-60．
- [11] 青木敦子, 徳丸雅一, 斎藤章暢 他(1995) : 埼玉県におけるGPセンターおよび液卵製造施設の実態調査．日食微誌, 11(4), 207-214．
- [12] 益田高志, 小沼博隆, 品川邦汎 (1994) : タマゴの処理工場(GPセンター, 割卵工場)における細菌汚染とその防止対策．食品と微生物, 10(4), 203-210．
- [13] 所 光男, 古田 淳, 宮沢 馨 他(1995) : 食鳥処理場におけるHACCP方式による衛生管理．日食微誌, 11(4), 227-232．
- [14] 保科 健, 糸川浩司, 福島 博 他(1993) : 食肉の流過程における*Salmonella*汚染状況．島根衛公研所報, 35, 29-33．
- [15] 保科 健, 糸川浩司, 福島 博 他(1994) : 食肉販売店舗における*Salmonella*汚染状況．島根衛公研所報, 36, 47-48．
- [16] 樋脇 弘, 椿本 亮, 本田巳喜子 他(1995) : 生食用鶏肉類のサルモネラ汚染状況とその調理工程におけるサルモネラ防除法について．日食微誌, 12(1), 31-37．
- [17] 安岡富久, 高橋富世, 出口祐男 (1995) : プロイラー・鶏肉におけるカンピロバクターおよびサルモネラ菌の検出．高知衛研所報, 41, 37-41．
- [18] 中嶋 洋, 狩屋英明, 大畠律子 他(2002) : 岡山県における感染性胃腸炎起因菌の流行疫学調査 患者等由来株の各種性状と疫学解析．岡山環保年報, 26, 29-33．
- [19] 保科 健, 板垣朝夫 (2000) : 平成12年度に島根県で検出された*Salmonella*の血清型と年度別推移．島根保健研所報, 42, 53-54．
- [20] 倉園貴至, 近真理奈, 山口正則 (2000) : 埼玉県内で分離されたヒト由来サルモネラの血清型と薬剤感受性(2000)．埼玉衛研所報, 35, 113-115．
- [21] 野田裕之, 大沼正行, 泉谷秀昌 他(2001) : 山梨県の散発下痢症患者由来のサルモネラの細菌・疫学的検討(2000年～2001年)．山梨衛公研年報, 45, 34-39．