

資料

広島県におけるサルモネラ属菌および腸炎ビブリオによる 散発下痢症の発生動向 (2005年4月～2009年3月)

竹田 義弘, 大原 祥子, 桑山 勝, 妹尾 正登

A Survey of Sporadic Patients with Diarrhea Caused by *Salmonella* spp. and *Vibrio parahaemolyticus* in Hiroshima Prefecture from April 2005 to March 2009

YOSHIHIRO TAKEDA, SACHIKO OOHARA, MASARU KUWAYAMA and MASATO SENO

(Received Oct. 1, 2009)

2005年4月から2009年3月までの間に、県内5地区の研究協力医療・検査機関において、散発下痢症患者の糞便から分離されたサルモネラ属菌および腸炎ビブリオの分離状況について検討した。

1. サルモネラ属菌は、調査期間中に634株が分離され、そのうち *S. Enteritidis* (以下、SE) が最も多く全体の31.4%を占めた。次いで *S. Infantis* (10.6%), *S. Thompson* (7.4%), *S. Typhimurium* (6.0%), *S. Saintpaul* (5.7%), *S. Montevideo* (5.0%), *S. Litchfield* (3.6%), *S. Stanley* (2.4%) が多かった。薬剤感受性試験を実施したSE、*S. Infantis* および *S. Typhimurium* のうち、*S. Typhimurium* と *S. Infantis* の耐性率は、それぞれ92.6%、74.1%と高かった。一方、SEの耐性率は13.5%と低かった。また、3血清型ともゲンタマイシン、ホスホマイシン、オフロキサシン、シプロフロキサシンおよびセホタキシムの5剤には全て感受性を示した。

2. 腸炎ビブリオは、調査期間中に128株が分離され、そのうちO3:K6 (*tdh* 保有) が64.1%を占めた。次いでO4:K9 (4.9%), O1:K25 (3.1%), O1:KUT (3.1%) が多かった。また、新血清型のO4:K68 (*tdh* 保有) は2008年に1株が分離された。薬剤感受性試験を実施したO3:K6の耐性率は98.4%と高かったが、耐性を示した薬剤はアンピシリン、ストレプトマイシンおよびカナマイシンの3剤と少なかった。

Keywords: 散発下痢症, サルモネラ属菌, 腸炎ビブリオ, 血清型, 薬剤感受性

I はじめに

わが国の細菌性食中毒は、1998年の事件数および患者数をピークに、近年、減少傾向にある [1]。特にサルモネラ属菌および腸炎ビブリオによる食中毒の減少が著しい [1]。広島県においても全国と同様に食中毒の事件数は減少傾向にあるが、毎年、全国で最も多くの食中毒事件が発生している [2-7]。しかし、食中毒統計に掲載された本県の食中毒事件の多くは、患者1人の事例、いわゆる「散発事例」であり、また、広島市を除く地域からの散発事例の届出数は少なく [2-7]、県内の実態を十分に反映していない。そのため著者らは、県内の細菌性下痢症の実態把握および食中毒の発生予測と防止対策に資するため、2002年4月から県内の医療・検査機関の協力を得て、散発下痢症患者から分離された食中毒起因菌を収集し、その血清型および保有する病原性関連遺伝子等の解析を行っている。そのうち2005年3月までに収集したサルモネラ属菌など4菌種についての概要は既

に報告している [8]。本報では、その後の2005年4月から2009年3月までの間に分離されたサルモネラ属菌および腸炎ビブリオについて検討したので報告する。

II 材料および方法

1 供試菌株

供試菌株には2005年4月から2009年3月までの間に、県内5地区(広島、呉、尾三、福山、備北)の研究協力医療・検査機関(以下、医療・検査機関と略す。:2005年4月から2006年3月まで10ヵ所、2006年4月以降5ヵ所追加して15ヵ所。)において散発下痢症患者の糞便から分離されたサルモネラ属菌634株および腸炎ビブリオ128株、総計762株(1患者1菌株)を用いた。

2 菌株の同定および血清型別

菌株は、定法 [9] に従って生化学的性状試験を行い同定した。また、血清型別は市販の診断用免疫血清(デнка生研)を用いて行った。

3 病原性関連遺伝子の検索

サルモネラ属菌のうちO群型別不能株 (OUT) については、菌種の確認のためPCR法でサルモネラ属菌が保有する細胞侵入に関与する遺伝子 (*invA*) を検索した。遺伝子の検出には Malorny ら [10] のプライマーをカスタム合成して使用した。また、腸炎ビブリオは、耐熱性溶血毒遺伝子 (*tdh*) および耐熱性溶血毒類似毒遺伝子 (*trh*) をPCR法で検索した。両遺伝子の検出には、西瀬ら [11] のプライマーをカスタム合成して使用した。それぞれの反応液は TaKaRa の Ex Taq HS, Ex Taq Buffer および dNTP Mixture を用いて調製した。増幅は、GeneAmp PCR system 9700 (Applied Biosystems) を用いて熱変性 94℃, 1分, アニーリング 55℃, 1分, 伸長 72℃, 1分を 35 サイクル行った。増幅後, 2% 寒天ゲルにより TAE Buffer で電気泳動し, エチジウムブロマイド染色して遺伝子の有無を確認した。

4 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は、市販のセンチ・ディスク (日本ベクトン・ディッキンソン) を用いて1濃度ディスク法により実施した。供試薬剤にはアンピシリン (ABPC), クロラムフェニコール (CP), ストレプトマイシン (SM), テトラサイクリン (TC), カナマイシン (KM), ゲンタマイシン (GM), ST 合剤 (ST), ホスホマイシン (FOM), ナリジクス酸 (NA), オフロキサシン (OFLX), シプロフロキサシン (CPFX) およびセホタキシム (CTX) の 12 種類を使用した。

Ⅲ 結 果

1 サルモネラ属菌の分離状況

1) 血清型の年次別推移

表1に供試したサルモネラ属菌 634 株の年次別株数お

よび血清型を示した。調査期間の短い 2009 年を除いた年次平均 (以下, 年次平均は同様に統計処理した。) は 156.3 株 (標準偏差 30.1) であった。

分離株の O 群は, OUT を除き 12 種に群別された。そのうち O9 群が最も多く全体の 32.6% を占めた。次いで O7 群 (32.2%), O4 群 (20.5%), O8 群 (9.8%) が多かった。なお, OUT 株はいずれも *invA* 遺伝子が確認された。

分離株の血清型は, 型別不能 (UT) を除き 33 種に型別された。そのうち *S. Enteritidis* (以下, SE と略す。) が最も多く全体の 31.4% (199 株) を占め, 年次平均で 49.0 株 (標準偏差 16.3) が分離された。次いで *S. Infantis* (10.6% : 67 株), *S. Thompson* (7.4% : 47 株), *S. Typhimurium* (6.0% : 38 株), *S. Saintpaul* (5.7% : 36 株), *S. Montevideo* (5.0% : 32 株), *S. Litchfield* (3.6% : 23 株), *S. Stanley* (2.4% : 15 株) が多かった。また, 調査期間の短い 2009 年を除き, 毎年確認された血清型は *S. Agona*, *S. Saintpaul*, *S. Stanley*, *S. Typhimurium*, *S. Bareilly*, *S. Infantis*, *S. Montevideo*, *S. Thompson*, *S. Litchfield*, *S. Manhattan*, *S. Newport* および SE の 12 種であり, 全血清型の 36.4% と少なかった。

2) 月別分離状況

図1に年次毎の月別分離状況を示した。サルモネラ属菌は年間を通じて分離され, 6月頃から増加傾向を示し, 毎年8月にピークがみられた。その後減少するものの11月頃まで比較的緩やかな減少パターンを示した。

3) 患者の性別

患者 634 人の性別は, 確認できた 628 人 (99.1%) のうち男性が 333 人, 女性が 295 人と男性 (1.13 倍) が若干多かった。

4) 年齢階層別分離状況

図2に患者の年齢階層別の分離状況を示した。最も分離頻度が高かったのは 0~9 歳の年齢層で全体の 47.8%

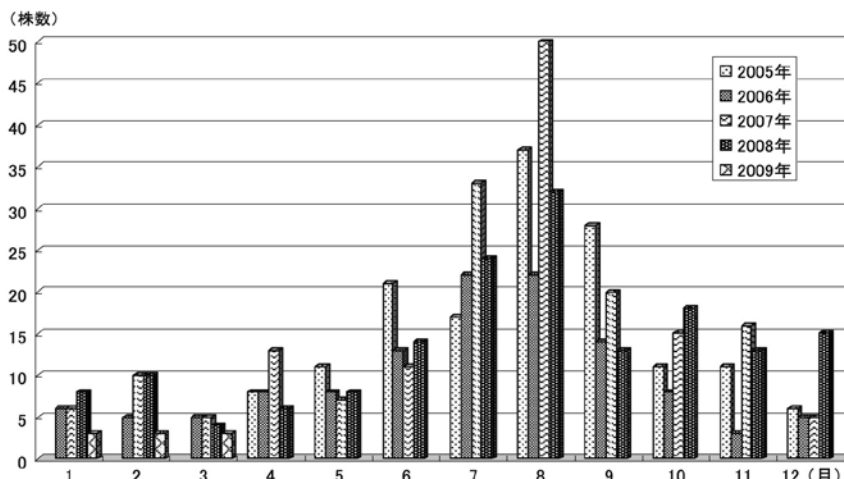


図1 散発下痢症患者由来サルモネラ属菌の年次別・月別分離状況

表1 散発下痢症患者から分離されたサルモネラ属菌の血清型年次別推移

O 群 *	血清型 *	分 離 年					総計 (%)
		2005**	2006	2007	2008	2009***	
O4 群	S. Agona	1	3	1	1		6
	S. Derby	1		1	1		3
	S. Paratyphi B	2	3	8			13
	S. Saintpaul	10	2	10	14		36
	S. Schwarzengrund	3			2		5
	S. Stanley	1	3	3	8		15
	S. Typhimurium	7	10	9	12		38
	UT	2	4	5	2	1	14
	計	27	25	37	40	1	130 (20.5)
O7 群	S. Bareilly	3	1	6	2		12
	S. Braenderup			1	5		6
	S. Infantis	9	14	20	23	1	67
	S. Livingstone			1			1
	S. Mikawasima	2		3	2		7
	S. Montevideo	17	4	9	2		32
	S. Rissen		1				1
	S. Singapore		3				3
	S. Thompson	14	5	16	11	1	47
	S. Virchow		3	2	5		10
	UT	5	2	4	7		18
	計	50	33	62	57	2	204 (32.2)
O8 群	S. Litchfield	9	10	1	3		23
	S. Manhattan	2	3	1	2	1	9
	S. Nagoya			1			1
	S. Newport	1	3	3	1		8
	UT	3	6	5	6	1	21
	計	15	22	11	12	2	62 (9.8)
O9 群	S. Berta			2			2
	S. Enteritidis	49	29	69	49	3	199
	S. Javiana		1				1
	S. Miyazaki			2			2
	UT		1	1	1		3
	計	49	31	74	50	3	207 (32.6)
O11 群	UT				1		1
O13 群	S. Havana				1		1
	UT	5			1		6
	計	5			2		7 (1.1)
O16 群	S. Hivittingfoss			1			1
	UT	1					1
	計	1		1			2
O18 群	UT	1	1				2
O28 群	S. Pomona			1			1
O35 群	UT			1			1
O1,3,19 群	S. Senftenberg	1	1	1			3
	S. Amsterdam		1				1
	S. Anatum		2	1			3
	S. Falkensee					1	1
	S. Weltevreden		2	1			3
	UT			1	2		3
	計		5	3	2	1	11 (1.7)
UT		1	1		1		3
	合 計	150	119	191	165	9	634

* UT : 型別不能, ** 4月～12月, *** 1月～3月

表2 サルモネラ属菌の年齢階層別分離状況

O 群*	血清型*	患者年齢										総計	
		0-9	10-19	20-29	30-39	40-49	50-59	60-69	70-79	80<	不明		
O4 群	S. Agona	2	2					1				1	6
	S. Derby	2						1					3
	S. Paratyphi B	7	1	1	1		2	1					13
	S. Saintpaul	22	6	1	1		1	1	1		3		36
	S. Schwarzengrund	1				1	1	1				1	5
	S. Stanley	8	1		3				2			1	15
	S. Typhimurium	22	4	3		1	3	1	2	1	1	1	38
	UT	6	3			2			1			2	14
	計	70	17	5	5	4	7	8	4	1	9		130
O7 群	S. Bareilly	3	4	1				1	1		2		12
	S. Braenderup	1			3			1			1		6
	S. Infantis	39	5	8	5	4	2	1	1		2		67
	S. Livingstone					1							1
	S. Mikawasima	3	1						1		2		7
	S. Montevideo	21	4	2		1		2		1	1		32
	S. Rissen						1						1
	S. Singapore	1					1				1		3
	S. Thompson	24	2	4	4	1	2	2	1	1	6		47
	S. Virchow	6	2					1			1		10
UT	4	2	5	3	1	1					2	18	
計	102	20	20	15	8	7	8	4	2	18		204	
O8 群	S. Litchfield	12	2	2	1	2	1		1	1	1		23
	S. Manhattan	3	2	2				1		1			9
	S. Nagoya								1				1
	S. Newport	2		1	1			1	2		1		8
	UT	9		5	2		1	1			3		21
計	26	4	10	4	2	2	3	4	2	5		62	
O9 群	S. Berta	2											2
	S. Enteritidis	92	24	9	19	6	13	9	7	1	19		199
	S. Javiana	1											1
	S. Miyazaki	2											2
	UT	2					1						3
計	99	24	9	19	6	14	9	7	1	19		207	
O11 群	UT	1											1
O13 群	S. Havana										1		1
	UT	3	1					1		1			6
計	3	1					1		1	1		7	
O16 群	S. Hivittingfoss					1							1
	UT		1										1
	計		1			1							2
O18 群	UT						2						2
O28 群	S. Pomona					1							1
O35 群	UT						1						1
O13,19 群	S. Senftenberg	1	1		1								3
O3,10 群	S. Amsterdam										1		1
	S. Anatum		1				1				1		3
	S. Falkensee				1								1
	S. Weltevreden							1			2		3
	UT						1	1	1				3
計		1		1		2	2	1		4		11	
UT			1								1		3
合計		303	69	45	45	22	35	31	20	7	57		634

* UT : 型別不能

(303株)を占めた。次いで10～19歳(10.9%:69株)、20～29歳(7.1%:45株)、30～39歳(7.1%:45株)が多く、40歳未満が全体の72.9%を占めた。一方、40歳以上の年齢階層間の分離株数は、平均23.0株(標準偏差10.9)と少なかった。

表2に年齢階層別にみた血清型の分離状況を示した。最も多彩な血清型が分離されたのは0～9歳の年齢層で、23種の血清型が分離された。次いで60～69歳(17種)、10～19歳(16種)が多かった。

すべての年齢階層から分離された血清型はSEとS. Thompsonのみで、そのうちSEはいずれの年齢階層においても最も高頻度に分離された。その他の血清型では、S. Paratyphi B, S. Saintpaul, S. Typhimurium, S. Infantis, S. MontevideoおよびS. Litchfieldが、幅広い

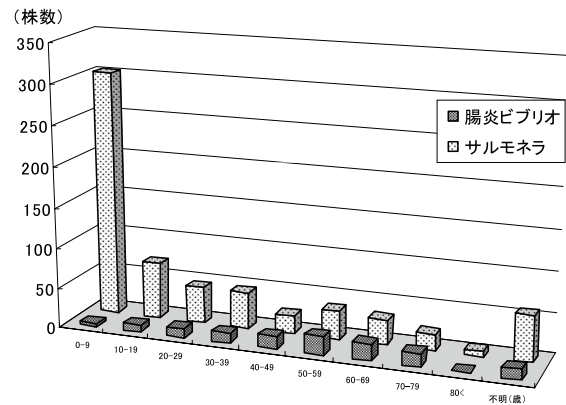


図2 サルモネラ属菌および腸炎ビブリオの年齢階層別分離状況

表3 リシン脱炭酸能陰性 S. Enteritidis の地区別分離状況

リシン脱炭酸能テスト*	地 区					合 計 (%)
	広島	呉	尾三	福山	備北	
陽 性	72	9	6	80	7	174
陰 性	23 (24.2) **		1 (14.3)	1 (1.2)		25 (12.6)
合 計	95	9	7	81	7	199

*LIM培地による判定。

** () 内は%。

表4 サルモネラ属菌と腸炎ビブリオの薬剤感受性

薬剤耐性パターン*	サルモネラ属菌			腸炎ビブリオ
	S. Enteritidis	S. Infantis	S. Typhimurium	O3:K6
感受性**	128	14	2	1
単剤耐性型				
ABPC				3
SM	6	2	5	3
TC	1	11	1	
NA	10			
2剤耐性型				
ABPC. SM			1	30
ABPC. NA	1			
SM. TC	2	2	10	
SM. KM				2
TC. KM		1		
TC. ST		2		
3剤耐性型				
ABPC. SM. KM				22
ABPC. TC. ST		2		
SM. TC. KM			2	
TC. KM. ST		14		
TC. ST. NA		2		
4剤耐性型				
ABPC. CP. SM. TC			4	
ABPC. SM. TC. KM			1	
SM. TC. KM. ST		4		
5剤耐性型				
ABPC. SM. TC. KM. ST			1	
合 計	148	54	27	61

* 供試薬剤: ABPC (アンピシリン), CP (クロラムフェニコール), SM (ストレプトマイシン), TC (テトラサイクリン), KM (カナマイシン), GM (ゲンタマイシン), ST (ST合剤), FOM (ホスホマイシン), NA (ナリジクス酸), OFLX (オフロキサシン), CPFX (シプロフロキサシン), CTX (セホタキシム) の12種類

** 中間を含む。

年齢階層から分離された。

5) リシン脱炭酸能陰性 SE の分離状況

表 3 に SE 199 株のリシン脱炭酸能 (Lysin Decarboxylase : LDC) の性状を示した。LDC は、同定検査に使用した LIM 培地 (ニッスイ) により判定した。LDC 陰性株の分離率は全体の 12.6% (25 株) であった。地区別では、広島地区 24.2% (23 株)、尾三地区 14.3% (1 株) および福山地区 1.2% (1 株) の順で、とりわけ広島地区からの分離率が高かった。

6) 薬剤感受性

薬剤感受性試験は、分離頻度の高い O9 群、O7 群および O4 群の中で、最も分離株数が多かった SE 148 株、S. Infantis 54 株および S. Typhimurium 27 株について実施し、表 4 にその結果を示した。最も高い耐性率を示したのは S. Typhimurium の 92.6% (25 株) であった。その薬剤耐性パターンは 8 種類に分類され、そのうち SM・TC 2 剤耐性型 (10 株) が最も多かった。次いで SM 単剤耐性型 (5 株)、ABPC・CP・SM・TC 4 剤耐性型 (4 株) が多く、ABPC・SM・TC・KM・ST 5 剤耐性型も 1 株認められた。S. Infantis も耐性率が 74.1% (40 株) と高かった。その薬剤耐性パターンは 9 種類に分類され、そのうち TC・KM・ST 3 剤耐性型 (14 株) が最も多かった。次いで TC 単剤耐性型 (11 株)

が多く、SM・TC・KM・ST 4 剤耐性型も 4 株認められた。一方、SE の耐性率は 13.5% (20 株) と低かった。その薬剤耐性パターンは 5 種類に分類され、NA 単剤耐性型 (10 株) と SM 単剤耐性型 (6 株) が多く、この 2 種類が耐性株の 80.0% を占めた。また、3 血清型とも GM, FOM, OFLX, CPFX および CTX の 5 剤には全て感受性を示した。

2 腸炎ビブリオの分離状況

1) 血清型の年次別推移

表 5 に供試した腸炎ビブリオ 128 株の年次別株数および血清型を示した。分離株の年次平均は 32.0 株 (標準偏差 7.1) であった。

分離株の血清型は 24 種に分類された。そのうち O3:K6 が最も多く全体の 64.1% (82 株) を占めた。次いで O4:K9 (4.9% : 6 株)、O1:K25 (3.1% : 4 株)、O1:KUT (3.1% : 4 株) が多かったが、いずれも O3:K6 の 10 分の 1 以下であった。また、調査期間の短い 2009 年を除き、毎年確認された血清型は O3:K6 と O4:K9 の 2 種と少なかった。また、1998 年に初めて確認された新血清型の O4:K68 は、2008 年に 1 株が分離された。

2) 病原性関連遺伝子の検出状況

表 5 に *tdh* と *trh* 遺伝子の保有状況を示した。これら

表 5 散発下痢症患者から分離された腸炎ビブリオの血清型年次別推移と病原性関連遺伝子の検出状況

血清型*	分離年					合計	病原性関連遺伝子****			
	2005**	2006	2007	2008	2009***		<i>tdh</i>	<i>trh</i>	<i>tdh/trh</i>	不検出
O1:K25			1	3		4	4			
O1:K36				2		2	2			
O1:K41	1	1				2	1			1
O1:K56		3				3		3		
O1:KUT		1	2	1		4	3		1	
O2:K3	3					3	3			
O3:K6	22	24	17	19		82	82			
O3:K20				1		1				1
O3:K37	1					1	1			
O3:K43		1				1		1		
O3:K45	1					1				1
O3:K57		2				2	2			
O3:KUT	3					3	3			
O4:K8	1	1				2	2			
O4:K9	2	2	1	1		6	6			
O4:K53		1				1		1		
O4:K55	2					2	2			
O4:K68				1		1	1			
O5:K17		1				1				1
O5:K30	1					1	1			
O8:KUT			1			1	1			
O10:K52			1			1			1	
O10:K66		1				1		1		
O11:K36	1		1			2	2			
合計	38	38	24	28	0	128	116	6	2	4

*UT : 型別不能, ** 4月~12月, *** 1月~3月, *****tdh* : 耐熱性溶血毒, *trh* : 耐熱性溶血毒類似毒

の遺伝子は96.9% (124株) から検出され, *tdh* 単独保有株, *trh* 単独保有株および *tdh* と *trh* の両方を保有する株 (以下, *tdh/trh* 保有株と略す.) の3タイプが認められた. そのうち *tdh* 単独保有株が93.5% (116株) を占めた. 次いで *trh* 単独保有株 (6株:4.8%), *tdh/trh* 保有株 (2株:1.6%) の順であった.

tdh 単独保有株の血清型は16種あり, そのうち O3:K6 が最も多かった. 次いで O4:K9, O1:K25 が多かった. *trh* 単独保有株の血清型は4種あり, そのうち O1:K56 が多かった. *tdh/trh* 保有株の血清型は O1:KUT と O10:K52 の2種であった. また, O1:KUT には *tdh* 単独保有株と *tdh/trh* 保有株が認められ, そのうち *tdh* 単独保有株が多かった.

3) 月別分離状況

図3に年次毎の月別分離状況を示した. 腸炎ビブリオは4月頃から分離されるようになり, 6月に急増した. 毎年7月から8月にピークがみられ, 9月以降急激に減少し, 12月には分離されなかった.

4) 患者の性別

患者128人の性別は, 男性が74人, 女性が54人と男性 (1.37倍) が多かった.

5) 年齢階層別分離状況

図2に患者の年齢階層別の分離状況を示した. 最も分離頻度が高かったのは50~59歳の年齢層で, 全体の18.0% (23株) を占めた. 次いで60~69歳 (16.4%:21株), 70~79歳 (13.3%:17株), 40~49歳 (12.5%:16株) が多く, 40歳以上が全体の60.2% (77株) を占めた. 一方, 40歳以下の年齢階層間の分離株数は, 平均9.3株 (標準偏差3.86) と少なかった.

6) 薬剤感受性

薬剤感受性試験は, 最も分離頻度が高かった血清型 O3:K6 61株について実施し, 表4にその結果を示した.

O3:K6の耐性率は98.4% (60株) と著しく高かったが, 耐性を示した薬剤は ABPC, SM および KM の3剤と少なかった. その薬剤耐性パターンは5種類に分類され, そのうち ABPC・SM 2剤耐性型 (30株) と ABPC・SM・KM 3剤耐性型 (22株) が多く, この2種類が耐性株の86.7%を占めた.

IV 考 察

1 サルモネラ下痢症について

わが国のサルモネラ属菌による食中毒は, 1999年の825件をピークに2008年には8分の1以下の99件まで減少し [7], 2003年以降はサルモネラ属菌による500人以上の大規模食中毒の発生も1件のみである [1,7].

今回の調査では, 年次平均で156.3株のサルモネラ属菌が分離され, 毎年, 県内ではまだ多くのサルモネラ属菌による散発下痢症が発生している. しかし, 2002年4月から2005年3月までの前回の調査 [8] (以下, 前回の調査と言う.) の年次平均 (286.3株, 標準偏差55.5: 調査期間の短い2005年を除いて統計処理した. 以下, 同様.) と比べると約半数 (54.6%) に減少している. 特に今回の調査では, 菌株の分与を受けた医療・検査機関の施設数を2006年4月以降, 5ヶ所増やしており, そのことから県内のサルモネラ下痢症は大きく減少していることが推察された. その主要因は, 毎年最も分離頻度の高いSEの減少によるもので, 分離株全体に占める割合 (31.4%) も前回の調査 (65.3%) と比べて約半数に減少し, 分離株の年次平均 (49.0株) も前回の調査の年次平均 (187.7株) と比べて約4分の1に減少している. このSEの減少は全国的にも同様な傾向がみられ, 地研・保健所からの病原体情報 [12] においても, ヒト由来サルモネラの検出数のうちSEは, 1996

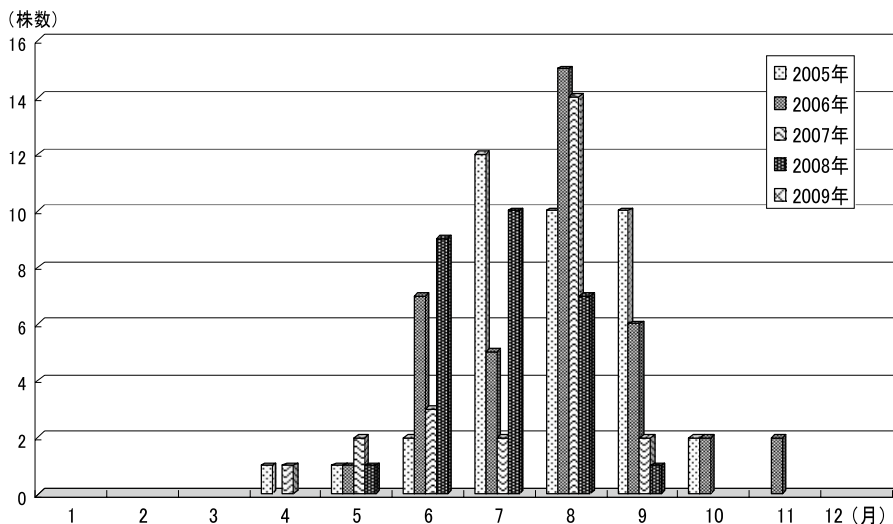


図3 散発下痢症患者由来腸炎ビブリオの年次別・月別分離状況

年の58%から2008年には32%まで減少している。これは主に、鶏卵からのSE感染を防ぐため行われた食品衛生法施行規則等の改正（鶏の殻付卵の表示、鶏の液卵の規格基準等）や、鶏へのSE不活化ワクチン接種などによる効果が現れてきているのではないと思われる[13]。

分離株の血清型は、UTを除き33種が分離され、前回の調査（38種）と比べてやや減少した。しかし、依然として県内のサルモネラ下痢症は、多彩な血清型によって起きていることが明らかとなった。また、今回の調査で高頻度に分離されたSE、*S. Infantis*、*S. Thompson*、*S. Typhimurium*、*S. Saintpaul*、*S. Montevideo*、*S. Litchfield* および *S. Stanley* のうち、*S. Montevideo* と *S. Stanley* を除いた6種の血清型は、前回の調査においても上位8種の血清型に入っており、県内ではこれらの血清型を主体とした散発下痢症が継続して発生していることが判明した。このうち *S. Saintpaul* は1997年以降、全国的に多く分離されており[14-16]、Hataら[17]は愛知県で1999年以降分離された *S. Saintpaul* の殆どが同年以降に新たに生じたクローン由来であることを報告している。調査期間の短い年を除くと、前回の調査では毎年1~8株（年次平均5.3株）が分離されたが、今回の調査では毎年2~14株（年次平均9.0株）が分離され、やや増加傾向がみられた。また、前回の調査では3年間で6株しか分離されず上位の血清型に入らなかった *S. Montevideo* が、今回の調査では2005年に17株と急増し、SEに次いで多く分離された。しかし、その後、分離株数は減少していることから、一時的な増加と思われる。

サルモネラ属菌が分離された患者は、10歳未満の低年齢層が約5割を占めている。前回の調査も同様であり、サルモネラ下痢症は重症化して死亡することもあるため[18,19]、低年齢層の感染防止対策が重要である。特にこの年齢層からは多彩な血清型が分離されており、多様な感染源が示唆される。そのうちサルモネラ属菌は、鶏卵のSE汚染以外にも鶏肉からの分離頻度が高いことが知られているが[20,21]、分離株の血清型は *S. Infantis* など種類が少ない[21]。また、もやし[20]や生食用野菜のカイワレ大根[22]などからもサルモネラ属菌が検出されていることから、幅広い食品についてのサルモネラ・リスク対策が必要である。さらに、今回の調査では、SEの生化学的性状試験においてLDC陰性株が12.6%に認められた。通常のサルモネラ属菌はLDC陽性であり、非定型的なサルモネラ属菌であるが、山口県においては近年、著しく増加している[23]。県内においてもLDC陰性株は、山口県に近い県西部の広島地区から多く分離され注目された。

今回の調査では、SE、*S. Infantis* および *S.*

Typhimurium の3血清型について薬剤感受性試験を行ったが、SEの耐性率は13.5%と低く、耐性パターンもNAおよびSM単剤耐性型が多かった。また、3剤以上の耐性株は認められず、県内に分布するSEには多剤耐性化の傾向は認められなかった。一方、*S. Infantis* と *S. Typhimurium* の耐性率は、それぞれ74.1%、92.6%と高かった。その薬剤耐性パターンは2剤以上の耐性型が多く、*S. Typhimurium* には5剤耐性型も認められるなど、両血清型には多剤耐性化の傾向がみられた。しかし、サルモネラ属菌は近年、フルオロキノロン耐性[24,25]が問題となっているが、今回供試した3血清型には、いずれも初期治療に使用されるフルオロキノロン剤やFOMに耐性株は認められず、県内のサルモネラ下痢症の治療には、大きな影響はないと思われる。

2 腸炎ビブリオ下痢症について

わが国の腸炎ビブリオによる食中毒は、1998年の839件をピークに2008年には約50分の1の17件まで減少し[7]、2000年以降は、腸炎ビブリオによる500人以上の大規模食中毒の発生も1件のみである[1,7,26]。

今回の調査では、年次平均で32.0株の腸炎ビブリオが分離され、前述のサルモネラ属菌と比べて県内の腸炎ビブリオによる散発下痢症は少なかった。また、前回の調査[8]の年次平均（42.7株、標準偏差6.4）と比べると若干減少（74.9%）している。

分離株の血清型は24種に分類され、前回の調査（15種）と比べて多彩な血清型が分離された。そのうち1996年以降増加したO3:K6[27]が、前回の調査と同様に6割以上を占めており、依然として県内ではO3:K6を主体とした散発下痢症が発生している。O3:K6に次いでO4:K9の分離頻度が高かったが10分の1以下であり、O3:K6以外の血清型による下痢症は漸減傾向にあると思われた。特に1998年に初めて検出された抗原構造表にないOK不一致の血清型O4:K68[28,29]は、2008年に1株しか分離されておらず、前回の調査においても3株しか分離されていないことから、近年、県内ではO4:K68（*tdh*保有）による下痢症は非常に少ないと思われた。また、藤井ら[30]は、腸炎ビブリオによる散発患者の調査において、2001年にはO3:K6に次いで多く分離されたO4:K68が、2002年には分離されなかったことを報告しており、県内においても本調査を開始した2002年には、すでにO4:K68による下痢症は減少していたことが推察された。

分離株の96.9%は病原性関連遺伝子の *tdh* および *trh* 遺伝子を、単独または両方を保有していたが、3.1%（4株）はいずれの遺伝子も保有しておらず、これらの菌株は、下痢の病因物質とは考えられなかった。しかし、腸炎ビブリオによる食中毒事例では、複数の血清型が分離

されることがあり, これらの事例においても複数の菌株を検査すれば, *tdh* または *trh* を保有した菌株を検出できた可能性が考えられた。また, 患者の年齢は, 前回の調査と同様に 50 歳代の年齢層が最も多く, 前述のサルモネラ下痢症とは対照的な発生状況であった。これは, 刺身など鮮魚貝類を喫食する機会の多い成人層の食生活を良く反映しているが, 日常の食生活においては成人層と低年齢層には著しい差はないと思われ, 腸炎ビブリオやサルモネラ属菌による発症には, 年齢による感受性の差があるのか, 今後, これらのことについても検討を加える必要がある。

今回, 患者の 6 割以上から分離された O3:K6 について薬剤感受性試験を行ったところ, 耐性率が 98.4% と著しく高く, 特に腸炎ビブリオは β -ラクタマーゼを産生するため [31], ABPC 耐性を含む薬剤耐性パターンが多かった。また, 2 剤以上の耐性型が 8 割以上を占めたが, 耐性を示した薬剤は ABPC, SM および KM の 3 剤と少なく, 県内の腸炎ビブリオ下痢症の治療には, 大きな影響はないと思われる。

V まとめ

2005 年 4 月から 2009 年 3 月までの間に, 県内 5 地区の医療・検査機関において, 散発下痢症患者の糞便から分離されたサルモネラ属菌および腸炎ビブリオの分離状況について検討した。サルモネラ属菌は現在も未だ多く分離されているが, 腸炎ビブリオはサルモネラ属菌と比べて少なかった。また, 2002 年 4 月から 2005 年 3 月までの前回の調査と比べると, 両菌種とも減少し, 特にサルモネラ属菌は, 年次平均では約半数に減少している。しかし, 両菌種には血清型の多彩色性や多剤耐性株も多く認められることから, 今後も両菌種の動向を監視するとともに, 感染源の究明および食品業者, 消費者に対してより一層の食中毒予防に関する啓発が必要である。

謝 辞

本研究のため貴重な菌株を提供していただいた県立広島病院, 広島市立舟入病院, 社団法人 広島市医師会臨床検査センター, JA 広島厚生連 広島総合病院, マツダ株式会社 マツダ病院, 呉市医師会病院臨床検査センター, 国家公務員共済組合連合会 呉共済病院, 三原市医師会病院, 総合病院 三原赤十字病院, 尾道市立市民病院, 独立行政法人国立病院機構 福山医療センター, 社団法人 福山市医師会臨床検査センター, 市立三次中央病院, 三次地区医師会臨床検査センター, 総合病院庄原赤十字病院の諸先生方に深謝致します。

文 献

- [1] 国立感染症研究所 (2008): 細菌性食中毒 1998 ~ 2007 年, 病原微生物検出情報月報, 29, 213 - 215.
- [2] 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課 (2004): 平成 15 年食中毒発生状況, 食品衛生研究, 54, 61 - 144.
- [3] 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課 (2005): 平成 16 年食中毒発生状況, 食品衛生研究, 55, 77 - 164.
- [4] 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課 (2006): 平成 17 年食中毒発生状況, 食品衛生研究, 56, 57 - 174.
- [5] 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課 (2007): 平成 18 年食中毒発生状況, 食品衛生研究, 57, 65 - 152.
- [6] 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課 (2008): 平成 19 年食中毒発生状況, 食品衛生研究, 58, 77 - 164.
- [7] 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課 (2009): 平成 20 年食中毒発生状況, 食品衛生研究, 59, 73 - 160.
- [8] 竹田義弘, 松田花子, 東久保靖, 小川博美 (2005): 広島県内の散発下痢症の最近の動向 - 下痢原性大腸菌, サルモネラ属菌, カンピロバクターおよび腸炎ビブリオの分離状況 -, 広島県保健環境センター研究報告, 13, 31 - 41.
- [9] 厚生労働省監修 (2004): 食品衛生検査指針 微生物編, 180 - 213, 東京, 社団法人日本食品衛生協会.
- [10] Malorny, B., Hoorfar, J., Bunge, C., Helmuth, R. (2003): Multicenter Validation of the Analytical Accuracy of *Salmonella* PCR: towards an International Standard, Appl. Environ. Microbiol., 69, 290 - 296.
- [11] 西渕光昭, 竹田美文, 多田淳, 大橋鉄雄, 西村直行, 尾崎博子, 福島繁 (1992): PCR による腸炎ビブリオの耐熱性溶血毒遺伝子および類似毒遺伝子の検出法, 日本臨牀 特別号, 50, 348 - 352.
- [12] 国立感染症研究所 (2009): サルモネラ症 2009 年 6 月現在, 病原微生物検出情報月報, 30, 203 - 205.
- [13] Toyota-Hanatani, Y., Ekawa, T., Ohata, H., Igimi, S., Hara-Kudo, Y., Sasai, K., Baba, E. (2009): Public Health Assessment of *Salmonella enterica* Serovar Enteritidis Inactivated-Vaccine Treatment in Layer Flocks, Appl. Environ. Microbiol.,

- 75, 1005 - 1010.
- [14] 国立感染症研究所 (2000) : サルモネラ症 2000年6月現在, 病原微生物検出情報月報, 21, 162 - 163.
- [15] 国立感染症研究所 (2003) : サルモネラ症 2003年6月現在, 病原微生物検出情報月報, 24, 179 - 180.
- [16] 国立感染症研究所 (2006) : サルモネラ症 2006年6月現在, 病原微生物検出情報月報, 27, 191 - 192.
- [17] Hata, M., Suzuki, M., Matsumoto, M., Takahashi, M., Yamazaki, M., Hiramatsu, R., Matsui, H., Sakae, K., Suzuki, Y., Miyazaki, Y. (2003) : A new clonal line of *Salmonella* Saintpaul having emerged and prevailed since 1999 in Aichi, Japan, *Jpn. J. Infect. Dis.*, 56, 77 - 79.
- [18] 海部春樹, 東根秀明, 飯田國洋, 植木信介, 江原裕子 (2005) : *Salmonella* Haifa 食中毒による死亡事例 - 長崎市, 病原微生物検出情報月報, 26, 19 - 20.
- [19] 河野喜美子, 山田亨, 八木利喬 (1999) : *Salmonella* Typhimurium 食中毒による死亡例 - 宮崎県, 病原微生物検出情報月報, 20, 273 - 274.
- [20] 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長 (2009) : 平成20年度食品の食中毒菌汚染実態調査の結果について, 食安監発第0330002号.
- [21] 池田徹也, 森本洋, 玉手直人, 清水俊一, 熊田洋行, 駒込理佳, 久保亜希子, 山口敬治 (2007) : 食品の食中毒菌汚染実態調査, 北海道衛生研究所報, 57, 73 - 75.
- [22] 渡邊節, 菅原直子, 小林妙子, 山田わか, 齋藤紀行, 谷津壽朗, 廣重憲生 (2006) : *Salmonella* Montevideo が検出された食中毒事例について, 宮城県保健環境センター年報, 24, 121 - 125.
- [23] 富永潔, 工藤恵美, 富田正章, 松村健道, 矢端順子 (2005) : 山口県における医療機関および食中毒事例由来 *Salmonella* の血清型ならびに生化学的性状とファージ型の変化, 病原微生物検出情報月報, 26, 93 - 94.
- [24] Hakanen, A., Siitonen, A., Kotilainen, P., Huovinen, P. (1999) : Increasing fluoroquinolon resistance in *salmonella* serotypes in Finland during 1995-1997, *J. Antimicrob. Chemother.*, 43, 145 - 148.
- [25] 中矢秀雄, 安原昭博, 吉村健, 忍穂井幸夫, 泉谷秀昌, 渡辺治雄 (2001) : 乳児下痢症の便から検出したフルオロキノロン耐性 *Salmonella enterica* Serotype Typhimurium Definitive Phage Type 12, 感染症誌, 75, 815 - 818.
- [26] 加藤浩之, 高橋恵美, 佐々木ひとえ, 小林妙子, 菅原優子, 谷津壽朗, 齋藤紀行 (2008) : イカ塩辛による腸炎ビブリオ食中毒事例, 宮城県保健環境センター年報, 26, 48 - 50.
- [27] 国立感染症研究所 (1999) : 腸炎ビブリオ 1996 ~ 1998, 病原微生物検出情報月報, 20, 159 - 160.
- [28] 尾畑浩魅, 甲斐明美, 柳川義勢, 諸角聖 (1999) : 東京都内で発生した食中毒から検出された腸炎ビブリオ血清型 O 4:K68 について, 病原微生物検出情報月報, 20, 167.
- [29] 尾畑浩魅, 甲斐明美, 松下秀, 柳川義勢, 諸角聖, 伊藤武, 太田建爾, 工藤泰雄 (1999) : 下痢症由来腸炎ビブリオ血清型 O 3:K 6 の推移と OK 不一致 O 4:K68 株の出現, *臨床と微生物*, 26, 231.
- [30] 藤井信一郎, 佐藤直人, 高橋朱実, 佐藤卓, 齋藤幸一, 田澤光正 (2002) : 腸炎ビブリオ食中毒予防対策の構築に関する研究, 岩手県環境保健研究センター年報, 2, 82 - 84.
- [31] 本田武司 (2000) : 食中毒 : 最近の話題 腸炎ビブリオ感染症, *臨床と微生物*, 27, 523 - 526.