

過去 10 年間の宮城県におけるサルモネラの検出状況について

Prevalence of Salmonella in Miyagi in the past decade

小泉 光 木村 葉子*¹ 中村 久子 小林 妙子 渡邊 節
Hikari KOIZUMI, Yoko KIMURA, Hisako NAKAMURA,
Taeko KOBAYASHI, Setsu WATANABE

2005年から2014年の10年間に宮城県内で分離された散発下痢症由来サルモネラ感染者株（以下散発下痢症株）400株を同定したところ、血清型は62種類に型別され、*S. Enteritidis*（以下SE）64株、*S. Typhimurium*（以下ST）40株、*Salmonella Infantis*（以下SI）が32株であった。薬剤感受性試験の結果、いずれかの薬剤に耐性を示したのは93株で、薬剤別ではテトラサイクリンに耐性を示した株の検出率が高かった。2014年に分離された散発下痢症株および2014年食中毒由来株のSE株についてパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）法による遺伝子解析の結果、2014年食中毒由来株と同時期に分離された散発下痢症株で高い相同性がみられた。また、2012年から2014年の3年間に宮城県産牛108頭、豚294頭の盲腸内容物のサルモネラ汚染を調査したところ、サルモネラ属菌は検出されなかった。

キーワード：サルモネラ；散発下痢症；薬剤感受性；PFGE

Key words : *Salmonella* ; Sporadic Diarrhea ; Drug Susceptibility ; PFGE

1 はじめに

わが国におけるサルモネラ食中毒は1989年以降増加していたが、1999年の825件をピークにその後は減少傾向を示している。しかし依然として食中毒原因細菌としてはカンピロバクターに次いで第2位を占める。近年の食品流通の広域化に伴ない食中毒事件は大規模化し、過去10年間の患者数500人以上の食中毒事例31件のうち3件がサルモネラ属菌による事例である¹⁾。さらに、統計上処理される食中毒による患者の他に、市中では散発下痢症患者としてサルモネラ感染者が存在している。また、検出される菌種も従来のパンデミック型であるSE以外に多くの血清型が分離され、薬剤耐性菌の増加も指摘されている。当所では食中毒やdiffuse outbreakを早期に探知する目的で2005年から散発下痢症株の分与を受け、菌の同定および薬剤感受性試験を行ってきた²⁾。本研究では、過去10年間の宮城県における散発下痢症株の検出状況および、2014年散発下痢症株と食中毒由来株を比較した。また、牛・豚の盲腸内容物の保菌調査を行ったので報告する。

2 対象および検査方法

2.1 対象

2005年から2014年までに宮城県医師会健康センターより分与された散発下痢症株400株を精査した。また2012年から2014年に宮城県食肉衛生検査所で処理された県内産の牛108頭、豚294頭の盲腸内容物402検体についてサルモネラ属菌の分離を試みた。

PFGEは、2014年散発下痢症SE9株および2014年

食中毒関連調査由来SE4株の合計13株について実施した。

2.2 方法

分与された散発下痢症株は、SS寒天培地（栄研化学）で再分離し、疑わしい集落はTSI寒天培地（栄研化学）、LIM培地（栄研化学）、VP半流動培地（栄研化学）に接種して生化学性状を確認後、サルモネラ免疫血清（デンカ生研）を用いてスライド凝集法によりO抗原を、試験管凝集法によりH抗原を決定し、菌を同定した。

盲腸内容物は、SS寒天培地及びMLCB寒天培地（日水製薬）に塗抹、RV培地（MERCK）10mlに接種、36±1℃、24±2時間培養後、さらにRV培地培養液をSS寒天培地およびMLCB寒天培地に塗抹した。

分離株の薬剤感受性試験は、NCCLS法規格に準拠した一濃度ディスク拡散法（KBディスク：栄研化学）を用いた。すなわち、菌株をトリプトソイブイオン（栄研化学）で35℃で培養しMcFarland0.5になるよう滅菌生理食塩水で調整したものを被検菌液とし、ミューラーヒントン寒天培地（OXOID）に滅菌綿棒で塗抹した。アンピシリン（ABP:10μg）、ホスホマイシン（FOM:50μg）、ノルフロキサシン（NFX:10μg）、トスフロキサシン（TFX:5μg）、レボフロキサシン（LVX:5μg）、セファロチン（CET:30μg）、セフォタキシム（CTX:30μg）、セフトジジム（CAZ:30μg）、セフェピム（CFP:30μg）、セフォキシチン（CFX:30μg）、カナマイシン（KM:30μg）、テトラサイクリン（TC:30μg）、イミペネム（IPM:10μg）の13剤のディスクを、35℃で16～18時間培養し、添付文書記載の基準に従って判定を行った。

2014年散発下痢症株及び2014年食中毒関連調査由来株のSE株について、PFGE法による遺伝子解析を行

*1 現 北部保健福祉事務所

った。分離 SE 株は、ハートインフュージョンブイヨン培地 (栄研化学) で 37℃ 一夜振盪培養し、Ribot ら 4) の方法に準じてプラグを作成し、制限酵素 Bln I で 37℃ 一晚処理した。泳動条件は電圧 6.0V/cm、パルスタイム 2.2~63.8sec、泳動時間 19h で、CHFF Mapper (BIO RAD 社) を用いて行った。泳動後、エチジウムブロマイドで染色し、切断パターンを比較した。系統樹解析は Finger-Printing II, Dice 係数により行った。

3 結果

3.1 散発下痢症株の血清型

分与を受けた散発下痢症株 400 株のうち血清型が判明した 369 株は、61 菌種に型別された。SE が最も多く 64 株 (16%)、次いで ST40 株 (10%)、SI32 株 (8.0%) でこの 3 菌種で全体の 34.0% を占めた。SE は概ね毎年検出されたが、他は年によって検出された血清型に特徴があった。2007 年、2008 年は ST が多く、2010 年~2013 年は、これまで検出のなかった S.Rissen が多く検出された (表 1)。

3.2 薬剤感受性試験

2005~2014 年散発下痢症株の薬剤耐性出現状況を表 2 に示した。散発下痢症株 400 株のうちいずれかの薬剤に耐性をもつものは 93 株で、耐性率は 23.3% であった。1 剤耐性が 60 株、2 剤耐性が 29 株、3 剤耐性が 3 株、4 剤耐性が 1 株あった。薬剤別にみると TC に耐性がある株は 69 株、ABP 耐性が 34 株、KM 耐性が 11 株、FOM 耐性が 10 株であった (表 3)。

3.3 PFGE による遺伝子解析

2014 年 SE 株 13 株を制限酵素 Bln I で処理し、Dice 係数で解析した結果を示す (図 1)。解析した菌株は 2 つのグループに分けられ、75% の相同性を示した。A グループには 2014 年散発下痢症株 3 株と 2014 年 6 月発生の食中毒株 1 株が入った。B グループには食中毒関連調査株 3 株およびこれらと同時期に分離された 2014 年散発下痢症株 6 株が入り、この 9 株の相同性は 100% であった。

表 2 散発下痢症株の薬剤耐性出現状況 (2005~2014 年)

血清型	耐性株数 (%)	耐性パターン			
		1剤	2剤	3剤	4剤
Enteritidis	2 (3.1)	ABP			
Typhimurium	6 (15.0)	TC			
	1 (2.5)	ABP			
	5 (12.5)		ABP,TC		
	1 (2.5)		FOM,TC		
Infantis	10 (31.3)	TC			
	2 (6.3)	KM			
	4 (12.5)		KM,TC		
Agona	2 (20.0)	FOM			
Bareilly	7 (63.6)	FOM			
Braenderup	1 (7.7)	ABP			
Bredeney	1 (100.0)	ABP			
Hader	4 (100.0)	TC			
Heidelberg	1 (33.3)	ABP			
	1 (33.3)		ABP,TC		
Istanbul	7 (36.8)	TC			
Isangi	1 (100.0)		KM,TC		
Kottbus	1 (50.0)	ABP			
Neumuenster	1 (100.0)	TC			
Orion	1 (100.0)	NA			
Panama	1 (100.0)		ABP,TC		
Saintpaul	4 (20)	TC			
Schwarzengrund	1 (33.3)	TC			
	1 (33.3)		KM,TC		
Yovokome	1 (100.0)	TC			
O4:-	1 (100.0)				ABP,CET,TC,NA
O4i:-	2 (9.0)	ABP			
	2 (9.0)	TC			
	12 (54.5)		ABP,TC		
	1 (4.5)		ABP,KM		
	1 (4.5)			ABP,KM,TC	
	1 (33.3)	TC			
Manhattan	1 (33.3)		TC,NA		
	1 (33.3)		ABP,CET		
	1 (33.3)				
Newport	1 (50.0)	TC			
Muenchen	1 (100.0)			ABP,CET,CAZ	
Virchow	1 (11.1)	TC			
	93	60	29	3	1

表 3 散発下痢症株の薬剤別耐性株数

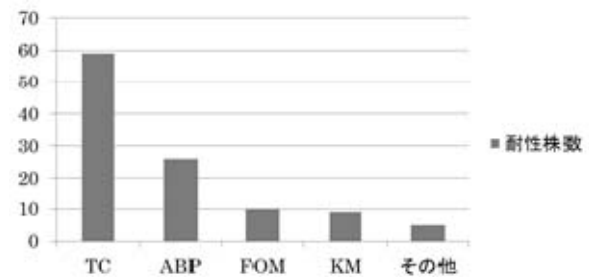


表 1 散発下痢症株の血清型別

合計	2005年	2006年	2007年	2008年	2009年	2010年	2011年	2012年	2013年	2014年	
Enteritidis	64	Enteritidis 12	Enteritidis 9	Typhimurium 8	Typhimurium 13	Enteritidis 14	Rissen 15	Rissen 3	Rissen 4	Rissen 8	Enteritidis 9
Typhimurium	40	Istanbul 12	Typhimurium 5	Istanbul 7	Bareilly 7	Infantis 3	Enteritidis 8	Nagoya 3	Litchfield 3	Infantis 2	Infantis 5
Infantis	32	Typhimurium 6	Infantis 4	Infantis 5	Braenderup 6	Typhimurium 2	Infantis 5	Enteritidis 3	Enteritidis 3	Enteritidis 2	Thompson 5
Rissen	31	Saintpaul 5	Agona 3	Saintpaul 4	Infantis 4	Saintpaul 2	Nagoya 3	Typhimurium 2	Infantis 2	Agona 1	Chester 5
Saintpaul	20	London 3	Saintpaul 2	Hader 4	Virchow 2	その他 6	Agona 2	Thompson 2	Saintpaul 1	Saintpaul 1	Saintpaul 3
Istanbul	19	Agona 3	Stanly 2	Bareilly 3	Carvallis 2		Thompson 2	Agona 1	Typhimurium 1	Typhimurium 1	Colindale 3
Thompson	15	Braenderup 3	Virchow 2	Montevideo 2	Kottbus 2		Braenderup 1	Saintpaul 1	Braenderup 1	Thompson 1	Typhimurium 2
Braenderup	13	Montevideo 3	Thompson 1	Thompson 2	Nagoya 2		その他 9	Braenderup 1	Thompson 1	その他 16	Singapore 2
Bareilly	11	Bareilly 1	Nagoya 1	Enteritidis 2	Enteritidis 2			Infantis 1	Nagoya 1		Manhattan 2
Nagoya	11	Infantis 1	その他 12	Braenderup 1	Saintpaul 1			その他 5	その他 8		Rissen 1
Agona	10	Thompson 1		その他 8	その他 5						Nagoya 1
その他	134	その他 13									その他 15
計	400	63	41	46	46	27	45	22	25	32	53

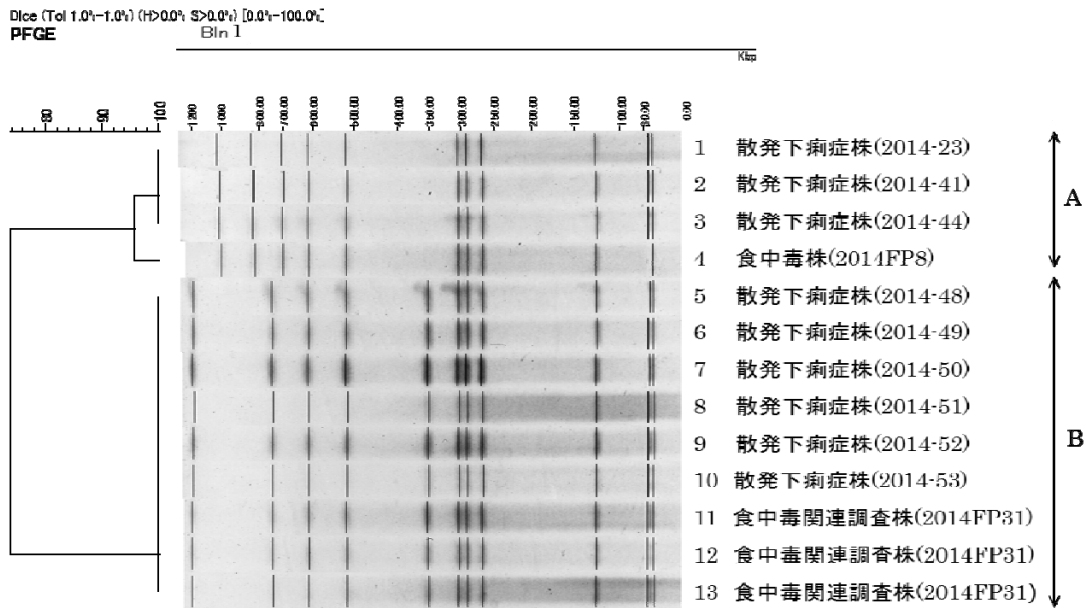


図1 *S. Enteritidis* の PFGE パターン (Bln I 処理)

3.4 サルモネラ汚染状況

県内の牛及び豚の盲腸内容物 402 検体から、サルモネラ属菌は検出されなかった(表4)。

表4 牛・豚盲腸内容物サルモネラ属菌汚染状況

検体	検体数	検出数(%)
牛盲腸内容物	108	0(0.0)
豚盲腸内容物	294	0(0.0)

4 考察

サルモネラ食中毒発生件数は減少傾向にあるが、全国的に夏期を中心に多発している。本県のサルモネラ発症例も、例年夏期に多い傾向がみられるが、冬期に発生した例もあり、季節にかかわらず発生が確認されている。本県の過去10年間の散発下痢症株はSE, ST, SIで全体の34.0%を占めている。その内訳は国立感染症研究所感染症情報センターの2005年から2014年までの全国集計と比べて、SEは32.5%であるのに対し本県は16.0%で、SEの全体に占める割合は少なかった。一方、STは全国のおよそ倍で10%、SIは全国とほぼ同じで8.0%であった。全国的なSEの検出率の低下に伴って、SE以外の血清型の分離率が高くなっている。

我々が2010年に実施した調査³⁾では、国産鶏肉の約30%からサルモネラが分離され、そのほとんどがSIであった。このことから、本県でもSIの原因食品の多くは鶏に関連すると推察され、農場でのサルモネラ排除が重要な食品衛生対策となると思われる。

今回、県内産の牛及び豚の盲腸内容物402検体からは、サルモネラは検出されなかった。

薬剤耐性の状況は血清型によって特徴があった。

SE3.1%, ST35%, SIは50%が耐性菌であった。これは竹田ら¹³⁾の報告60.3%, 100%, 83.3%とは大きく異なった。特に本県の状況では、サルモネラの治療薬として臨床的に有効性があると認められているABP, FOMに耐性をもつ株も分離されているので今後の動向を注視することが必要である。ニューキノロン系薬剤NFX, TFX, LVXに耐性の株はなかった。

PFGEによる遺伝子解析の結果、SEは制限酵素Bln Iで2つのグループに分けられ75%の相同性となった。Bグループの食中毒関連調査株と散発下痢症株は同時期に分離され、パルスパターンで高い相同性がみられたことから汚染源が同一であった可能性が示唆された。散発下痢症の場合は採材された地域、時期が異なるにもかかわらず、類似のパターンを示す株による感染が確認された。このことから特定の菌株が広く環境を汚染し、食品を介したdiffuse outbreakがあると示唆された。

これまでのSE対策では鶏卵、鶏卵加工品の取扱いや製品の規格基準、表示などを策定し、様々な分野で汚染の減少化に力を注いだことが食中毒防止に有効に働いている。しかし、SE以外の血清型のサルモネラについては、SEのように感染源対策が講じられていない。STやSIについては鶏に特化した施策が必要で、農場の清浄化から流通、販売、家庭での取扱いを含めた対策が必要であろう。また、今回牛及び豚のサルモネラ汚染は確認できなかったが、総合的な体系で衛生行政を推進していくことが重要と考える。

謝辞

菌株を分与していただいた宮城県医師会健康センターならびに牛・豚の盲腸便を採取提供いただいた宮城県食

肉衛生検査所の関係各位に感謝いたします。

参考文献

- 1) 厚生労働省 HP (食中毒統計資料) <http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/04.html>
- 2) 小林妙子, 高橋恵美, 谷津壽郎, 齋藤紀行: 宮城県保健環境センター年報, 26, 44-47 (2008)
- 3) 渡邊節, 中居真代, 宮崎麻由, 有田富和, 那須務, 沖村容子: 宮城県保健環境センター年報, 29, 46-49 (2011)
- 4) Original Article : N Engl J Med, 341, 1420-1425 (1999)
- 5) 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課長通知 “平成 22 年度食品の食中毒菌汚染実態調査について” 平成 23 年 3 月 30 日, 食安監発 0330 第 1 号 (2011)
- 6) 久高潤, 近藤海和, 嘉数浩, 中村正治, 平良勝也, 糸数清正, 安里龍二: 沖縄県衛生環境研究所年報, 40, 65-70 (2006)
- 7) 中嶋洋, 狩屋英明, 大島律子, 国富泰二: 岡山県環境保健センター年報, 28, 63-67 (2004)
- 8) 永田暁洋, 山崎史子, 石畝史, 大村勝彦: 福井県衛生環境研究センター年報, 10, 128 (2011)
- 9) 大饗英章, 岡田和子, 芝美和, 田中博: 愛媛県食肉衛生検査センター平成調査研究報告(2002), 平成 14 年度日本獣医公衆衛生学会講演要旨集
- 10) 森田幸雄, 壁谷英則, 石岡大成, 阪脇廣美, 長井章, 鈴木宣夫他: 日本獣医師会雑誌 57, 393-397(2004)
- 11) 仁和岳史, 高馬洋之, 岡田峰幸, 武田憲生, 朝原幸穂, 小野寺功, 西阪めぐみ, 岡野肇: 千葉県東総食肉衛生検査所調査研究報告(2010)
- 12) 小野聡美, 吉岡幸信, 小野寺瑞穂, 齋藤直: 宮城県食肉衛生検査所調査研究報告(2008)
- 13) 竹田義弘, 東久保靖, 小川博美: 広島県保健環境センター研究報告, 10, 19-27 (2002)
- 14) 松島桂子, 中居真代, 宮崎麻由, 有田富和, 那須務, 小林妙子, 渡邊節, 佐藤俊郎: 宮城県保健環境センター年報, 31, 23-26 (2013)