

【調査研究】

## 感染症及び食中毒起因菌の汚染実態に関する研究（令和2年度）

Investigation of Contamination Concerning Infectious Disease and Food Poisoning Related Bacteria  
(FY2020)

狩屋英明, 河合央博, 岡田達郎, 中嶋 洋

KARIYA Hideaki, KAWAI Hisahiro, OKADA Tatsuro, NAKAJIMA Hiroshi

### 要 旨

令和2年度も、令和元年度に引き続き、レジオネラ、サルモネラ、エルシニアによる感染症の感染源となる食品等の汚染状況や流行株の汚染実態を把握するため調査を行った。レジオネラについて県内のアスファルト道路上の水溜り30か所の汚染状況を調査したところ、その汚染率は61.1% (22/36検体) で160の分離株が得られ、レジオネラ症に関連する汚染源としての可能性が推測された。サルモネラについて、県南3系列のスーパーで販売されている国産生食肉及び野生動物等の汚染状況を調査した。国産生食肉は、牛肉0% (0/9)、豚肉0% (0/21)、牛豚ミンチ0% (0/12)、鶏肉17.4% (8/46)の汚染率であり、前回の調査と同様に、今回の調査においても、鶏肉の汚染が認められた。また、野生動物等からは検出されなかった。エルシニア感染症の発生実態把握のため、患者血清のエルシニア抗体価を測定した結果、エルシニア症を疑う患者58名のうち陽性は26名で、30名は陰性であり、2名は判定保留となった。

[キーワード：レジオネラ、水溜り、サルモネラ、エルシニア、抗体価]

[Key words : *Legionella*, Puddles, *Salmonella*, *Yersinia*, Antibody titer]

## 1 はじめに

レジオネラ症、腸管出血性大腸菌（以下「STEC」という。）、サルモネラ等の感染症について、患者の増加リスクに大きく寄与する感染源となる食品等の汚染状況や流行株の汚染実態を把握することは、感染症や食中毒の発生予防及びまん延の防止のため重要と考えられる。そこで、令和2年度も、令和元年度<sup>1)</sup>に引き続き、レジオネラの県内道路水溜りでの汚染状況、ヒト由来STEC株の収集と血清型別等（ヒト由来STECについては別報にて報告）、サルモネラの県南で市販された国産生食肉及び野生動物等の汚染状況を調査した。また、川崎病との関連が疑われるものの感染実態が不明であるエルシニア感染症の調査のため、疑い患者の血清抗体価を測定した。なお、エルシニア抗体価調査は、平成30年度に当センターの倫理審査委員会に諮り、承認を得て実施した。

## 2 材料及び方法

### 2.1 検体

レジオネラは、県内のアスファルト道路上の水溜り30か所の汚染状況を調査した。サルモネラの検査は、岡山県南3系列のスーパーで販売された国産生食肉（牛肉9検体、豚肉21検体、牛豚ミンチ12検体、鶏肉46検体）、

市販ハチミツ3検体、ニホンヤモリのふん便7検体（数匹分をまとめた0.2g~0.3gを1検体とした）、鳥のふん便11検体（ヒヨドリ4検体、ムクドリ4検体、ツバメ3検体、数羽分をまとめた1gを1検体とした）、イタチ又はテンのふん便1検体、アナグマの直腸内容物1検体を用いた。エルシニアの抗体価測定は、全国の医療機関の小児科等の外来患者又は入院患者のうち、エルシニア感染症又は川崎病との鑑別のため、抗体価測定の依頼があった58名の患者血清について実施した。

### 2.2 検査法

各菌種の検査は、以下の方法で実施した。

#### 2.2.1 レジオネラ

##### 2.2.1.1 道路上の水溜りからの分離

定法<sup>2)</sup>に準じて、GVPN培地等を用いて実施し、分離株がレジオネラ属菌であることは、血液寒天培地に発育しないこと、また斜光法における特徴的な外観構造を有することで確認した。検体100 mLから直接塗抹及びろ過濃縮法による分離試験を行った。

##### 2.2.1.2 PCR法によるレジオネラ菌種の同定

16S rRNA遺伝子を標的としたレジオネラ属菌を特異的に検出するPCR法を実施した。また、陽性を示した株については、*mip*遺伝子を標的とした*Legionella*

*pneumophila* を特異的に検出するPCR法を実施した。

## 2.2.2 サルモネラ属菌

### 2.2.2.1 分離

令和2年4月から令和3年2月まで分離試験を行った。食肉、ハチミツ、アナグマの腸内容物並びにヒヨドリ、ムクドリ、ツバメ及びイタチ又はテンのふん便はそれぞれ1g、ニホンヤモリのふん便は0.2g~0.3gを使用し、定法<sup>3)</sup>に従いサルモネラ分離試験を行った。前増菌にBPW(OXOID)、選択増菌にRV培地(OXOID)、分離培地にDHL寒天培地(日水製薬)又はX-SAL寒天培地(日水製薬)を使用し、TSI寒天培地(日水製薬)及びLIM培地(栄研化学)で性状を確認し、同定キットで菌種同定し、血清型別試験を行った。なお、食肉等の食品以外の検体では前増菌は行わなかった。

### 2.2.2.2 血清型別

サルモネラ免疫血清「生研」(デンカ)及びサルモネラ相誘導免疫血清「生研」(デンカ)を用いて血清型別試験を実施し、Kauffmann-Whiteの様式により血清型を確認した。

### 2.2.2.3 薬剤感受性試験

アンピシリン(ABPC)、カナマイシン(KM)、セフメタゾール(CMZ)、セフォタキシム(CTX)、セフェピム(CFPM)、セファゾリン(CEZ)、イミペネム(IMP)、メロペネム(MEPM)、ナリジクス酸(NA)、ST合剤、ノルフロキサシン(NFLX)、ホスホマイシン(FOM)、クロラムフェニコール(CP)、レボフロキサシン(LVFX)、ストレプトマイシン(SM)、テトラサイクリン(TC)の計16剤について、センシ・ディスク(日本ベクトン・ディッキンソン株式会社)を用いて寒天平板拡散法(ディスク法)で行った。

### 2.2.3 エルシニアの抗体価測定

患者血清を56℃、30分間非働化後、PBSで10倍希釈し、これを2倍段階希釈した希釈系列を、使用する抗原数と同数作成した。抗原液として、当センターが保有する*Yersinia pseudotuberculosis* 血清群1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 2c, 3, 4a, 4b, 5a, 5b, 6, 7, 10, 15株と*Y. enterocolitica* 血清群O3, O5, O8, O9株を25℃、2日間培養し、菌体をPBSに浮遊して121℃で1時間加熱し、洗浄後にマックファーランドNo.0.7の濃度に調整したものを使用した。各希釈系列にそれぞれ1種類の抗原液を同量ずつ加え、混和して50℃で2時間反応後、室温で1晩静置後に判定し、1:160以上を陽性とした。

## 3 結果及び考察

### 3.1 レジオネラ

県内の道路の水溜り30か所を調べたところ、レジオネラ汚染率は61.1%(22/36検体)であり、昨年度の調査(53.8%)と同様に高い汚染率であった。検体はアスファルト道路上の水溜りで、アスファルト上の水溜りは重要な環境中の汚染源との指摘もあることから<sup>4)</sup>、今後、水溜り由来株と患者由来株との関連の調査が必要と考えられた。

### 3.2 サルモネラの食肉等の汚染状況

岡山県南で販売される市販国産生食肉のサルモネラ汚染状況を調べた。牛肉9、豚肉21、牛豚ミンチ12、鶏肉46の計88検体を調べた。牛肉、豚肉及び牛豚ミンチからはサルモネラは検出されず、国産鶏肉8検体(17.4%)から*Salmonella* Schwarzengrund(O4:d:1,7)が7株、*S. Infantis*(O7:r:1,5)が1株分離された。昨年度の調査(平成31年4月~令和2年1月)に引き続き、鶏肉からサルモネラが検出され、衛生管理の重要性が認識された。昨年度の調査では、国産鶏肉40検体中3検体(7.5%)の各検体からそれぞれ1種類の血清型菌が分離された。内訳は*S. Schwarzengrund*(O4:d:1,7)が2株、*S. Yovokome*(O8:d:1,5)が1株であった。今回は、8株中7株が*S. Schwarzengrund*であった。東京都健康安全研究センターの調査では、国産鶏肉は*S. Infantis*、*S. Schwarzengrund*の順に多く検出され、平成21年~平成29年の年次推移としては*S. Infantis*の減少と*S. Schwarzengrund*の増加が認められたとの報告もある<sup>5)</sup>。また、病原微生物検出情報(IASR)<sup>6)</sup>でも、近年は*S. Schwarzengrund*がヒトから分離されたサルモネラ血清型の上位5位内に入っており、注目すべき血清型と考えられた。

ニホンヤモリ、ヒヨドリ、ムクドリ、ツバメ、イタチ又はテンのふん便及びアナグマの腸内容物並びにハチミツからはサルモネラは検出されなかった。爬虫類はサルモネラを保菌することが知られており、昨年度に比較してニホンヤモリのふん便をより多く検査したが、サルモネラは検出されなかった。今後は更に野生のカメ等の検査も必要と考えられた。

サルモネラの薬剤耐性状況は、分離株全てがSM及びTCに耐性だった。さらに、KMにも耐性の株が5株あった。また、*S. Schwarzengrund*の7株中2株はSM、TC、KM、NA及びST合剤の全てに耐性だった。薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書(2020)では、食品由来の非チフス性サルモネラはSM及びTCに耐性の株が多いことが報告されている。また、国産食鳥肉由来の*S.*

表1 サルモネラ汚染率

検体	検査数	サルモネラ陽性数	汚染率(%)
牛肉	9	0	0
豚肉	21	0	0
牛豚ミンチ肉	12	0	0
鶏肉	46	8 ※	17.4
ハチミツ	3	0	0
ニホンヤモリふん便	7	0	0
鳥ふん便（ヒヨドリ）	4	0	0
鳥ふん便（ムクドリ）	4	0	0
鳥ふん便（ツバメ）	3	0	0
イタチ（テン）ふん便	1	0	0
アナグマ（直腸内容物）	1	0	0

※7検体*S. Schwarzengrund* 陽性, 1検体*S. Infantis* 陽性

表2 サルモネラの薬剤感受性パターン

	菌株No.							
	245	246	255	266	274	275	318	340
血清型	<i>S.S</i>	<i>S.S</i>	<i>S.I</i>	<i>S.S</i>	<i>S.S</i>	<i>S.S</i>	<i>S.S</i>	<i>S.S</i>
薬剤								
アンピシリン	S	S	S	S	S	S	S	S
カナマイシン	S	R	R	S	R	R	R	S
セフメタゾール	S	S	S	S	S	S	S	S
セフォタキシム	S	S	S	S	S	S	S	S
セフェピム	S	S	S	S	S	S	S	S
セファゾリン	S	S	S	S	S	S	S	S
イミペネム	S	S	S	S	S	S	S	S
メロペネム	S	S	S	S	S	S	S	S
ナリジクス酸	S	S	S	S	R	S	R	S
ST合剤	S	R	S	S	R	R	R	S
ノルフロキサシン	S	S	S	S	S	S	S	S
ホスホマイシン	S	S	S	S	S	S	S	S
クロラムフェニコール	S	S	S	S	S	S	S	S
レボフロキサシン	S	S	S	S	S	S	S	S
ストレプトマイシン	R	R	R	R	R	R	R	R
テトラサイクリン	R	R	R	R	R	R	R	R

S: 感受性 R: 耐性  
*S.S*: *S. Schwarzengrund*  
*S.I*: *S. Infantis*

*Schwarzengrund* は SM, TC 及び KM に耐性の株が多いとの報告もあることから<sup>7)</sup>, 今後も広く食鳥肉由来のサルモネラの薬剤耐性状況を継続調査することが必要と考えられた。

### 3.3 エルシニアの抗体価

エルシニア症又は川崎病を疑う患者 58 名のうち陽性は 26 名 (*Y. pseudotuberculosis* 23 名, *Y. enterocolitica* 3 名) で, 30 名は陰性であり, 2 名は非特異反応が見られた。

め判定保留となった。原因不明の川崎病との鑑別やエルシニア症の感染実態把握のために, 令和 3 年度末まで調査を実施していく予定である。

### 謝 辞

本調査の実施に際して, 各種の菌株の分与や検体採取に御協力いただきました関係機関の先生方に深謝いたします。

## 文 献

- 1) 狩屋英明, 河合央博, 森本晃司, 仲 敦史, 中嶋 洋:  
感染症及び食中毒起因菌の汚染実態に関する研究,  
岡山県環境保健センター年報, 44, 45-48, 2020
- 2) 国立感染症研究所: 病原体検出マニュアル レジオ  
ネラ症, 平成23年10月7日改訂
- 3) 公益社団法人日本食品衛生協会: 食品衛生検査指針  
微生物編, 269~283, 2015
- 4) Kanatani J, Isobe J, Kimata K, Shima T, Shimizu  
M, et al.: Close Genetic Relationship between  
*Legionella pneumophila* Serogroup 1 Isolates from  
Sputum Specimens and Puddles on Roads, as  
Determined by Sequence-Based Typing, *Appl.*  
*Environ. Microbiol.*, 79(13), 3959-3966, 2013
- 5) 下島 優香子, 西野 由香里, 福井 理恵, 黒田 寿美,  
鈴木 淳ら, 東京都内に流通する食肉から分離された  
サルモネラの血清型および薬剤耐性, *食品衛生学雑  
誌*, 61(6), 211-217, 2020
- 6) 国立感染症研究所: IASR速報集計表 サルモネラ  
血清型 年別上位15血清型, [https://nesid4g.mhlw.  
go.jp/Byogentai/Pdf/data81j.pdf](https://nesid4g.mhlw.go.jp/Byogentai/Pdf/data81j.pdf) (2021.8.30アクセ  
ス)
- 7) 吉原 純子, 野本 さとみ, 篠田 亮子, 佐々木 彩華,  
石橋恵美子ら: 食鳥肉におけるカンピロバクターと  
サルモネラの検出状況と分離菌株の薬剤感受性, *千  
葉市環境保健研究所年報*, 26, 70-75, 2019