

【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3年度）

Investigation of Living Environment Contamination
Concerning Infectious Disease and Food Poisoning Related Bacteria (FY2021)

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3年度も、令和2年度に引き続き、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。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% (0/12)、豚肉0% (0/19)、牛豚ミンチ0% (0/8)、鶏肉16.1% (5/31)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、野生のカメ（アカミミガメ）1匹からサルモネラO8群が検出された。エルシニア感染症の発生実態把握のため、エルシニア症又は川崎病を疑う患者血清のエルシニア抗体価を測定した結果、患者51名のうち陽性は20名で、23名は陰性であり、8名は判定保留となった。

[キーワード：汚染, サルモネラ, エルシニア, 抗体価]

[Key words : Contamination, *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「EHEC」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3年度も、令和2年度¹⁾に引き続き、ヒト由来EHEC株の収集と血清型別等（ヒト由来EHECについては別報にて報告）、県内道路水たまりや患者由来のレジオネラ株の遺伝子型別等（別報にて報告）、県南で市販された国産生食肉及び野生動物等のサルモネラ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

サルモネラの検査は、食品については、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12検体、豚肉19検体、牛豚ミンチ8検体、鶏肉31検体）及び、市販ハチミツ3検体とした。また、周辺環境の汚染を広く

検知するため、野生動物は、鳥類、ほ乳類、は虫類を対象とすることとし、鳥のふん便3検体（ツバメ1検体、カラス1検体、スズメ1検体、検体は数羽分をまとめた1gを1検体とした）、イタチ又はテンのふん便1検体、ヘビ（アオダイショウ）の直腸内ふき取り2検体、カメ（クサガメ又はニホンイシガメ）体表ふき取り2検体、野生のアカミミガメ（体長約5cm、捕獲直後の体表ふき取り及び1晩水道水に浸漬後の体表ふき取り並びに1晩浸漬した水の各1検体）1匹由来の計3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51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 サルモネラ属菌

2.2.1.1 分離

令和3年4月から12月まで分離試験を行った。食肉、ハチミツ、ふん便（ツバメ、カラス、スズメ及びイタチ又はテン）はそれぞれ1gを試験に用いた。ヘビ及びカメのふき取りは滅菌綿棒を使用し、当該綿棒をそのまま試験に用いた。野生のアカミミガメは、捕獲直後に総排泄腔を中心に周辺の体表をふき取った綿棒と、水道水を

入れたプラスチック製の箱（内面をアルコール消毒）に1晩浸漬した後の体表ふき取り綿棒と浸漬水1 mLを試験に用いた。分離試験は定法²⁾に従い、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, IDテスト・EB-20「ニッスイ」(日水製薬) で菌種を同定した。なお, 食品以外の検体の前増菌は行わなかった。

2.2.1.2 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用免疫血清「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。

2.2.1.3 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) を用い, 寒天平板拡散法 (ディスク法) により薬剤感受性試験を行った。

2.2.2 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倍階段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* (以下「*Y.p.*」という。) 血清群1a, 1b, 1c, 2a, 2b, 2c, 3, 4a, 4b, 5a, 5b, 6, 7, 10, 15 株及び *Y. enterocolitica* (以下「*Y.e.*」という。) 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 サルモネラの食肉等の汚染状況

サルモネラの調査結果を表1に示す。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の調査として, 牛肉12, 豚肉19, 牛豚ミンチ8, 鶏肉31の計70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5検体 (16.1%) から *Salmonella* Schwarzengrund (以下「S.S.」という。) (O4:d:1,7) が5株分離された。昨年度の調査に引き続き, 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。近年, 国産鶏肉から分離される血清型はS.S.が増加傾向にある^{1), 3), 4)}。また, 病原微生物検出情報 (IASR)⁵⁾でも, 2018年, 2019年, 2021年はS.S.がヒトから分離されたサルモネラ血清型の第1位となっており, 注目すべき血清型と考えられる。

ハチミツ並びにツバメ, カラス, スズメ, イタチ又はテンのふん便及びヘビの腸内容ふき取りからはサルモネラは検出されなかった。今回の調査では1晩水道水に浸漬した野生のアカミミガメ1匹の体表からサルモネラO8群が検出されたが, 捕獲直後のカメの体表からは分離されなかった。また, カメを1晩浸漬した水からも同じO8群が分離され, この浸漬水はカメのふん便によって混濁していた。このことから, 捕獲直後のカメの体表は, サルモネラが付着していない, 又は, その菌数が非常に少ないが, 1晩水道水に浸漬することによって, 体表及び浸漬水がカメのふん便中のサルモネラに汚染されたものと考えられた。アカミミガメから分離されたサルモネラの血清型は不明であったが, O及びH抗原はO8:e:h:第2相不明であり, 人に対する病原性は高い可能性も考えられる。厚生労働省「ミドリガメ等のは虫類の取扱いQ&A」⁶⁾にも, 国内では虫類が原因と判明したサルモネラ症の事例がほぼ毎年発生し, 子ども又は高齢者が感染していること, カメ等のは虫類のふん便中のサルモネラ保菌率が50~90%であることが示されている。また, ミドリガメ (アカミミガメ) に起因する小児のサルモネラ感染症事例も発生しており^{7), 8)}, カメ等のは虫類等の動物を触った後や, 飼育水の交換時には, 必ず手指を石けん等を用いて十分に洗浄することがサルモネラ等による感染症を防止する上で重要である。

鶏肉から分離されたS.S. 5株及びアカミミガメから分離されたサルモネラO8群1株について薬剤耐性状況を調査したところ (表2), S.S.では, 1株はKM, NA, ST合剤, SM, TCの5剤に耐性, 2株はKM, ST合剤, SM, TCの4剤に耐性, 残り2株はそれぞれKM及びTCの2剤又はSM及びTCの2剤に耐性であり, 今回分離したS.S.は, KM, SM, TCに対する耐性が多かった。他方カメから分離のサルモネラO8群はすべての薬剤に対して感性であった。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

表1 サルモネラ調査結果

検体	検査数	サルモネラ陽性数	汚染率(%)
牛肉	12	0	0
豚肉	19	0	0
牛豚ミンチ肉	8	0	0
鶏肉	31	5 ※	16.1
ハチミツ	3	0	0
鳥ふん便 (ツバメ)	1	0	0
鳥ふん便 (カラス)	1	0	0
鳥ふん便 (スズメ)	1	0	0
イタチ (テン) ふん便	1	0	0
ヘビ (アオダイショウ, 直腸内ふき取り)	2	0	0
アカミミガメA (捕獲直後の体表ふき取り)	1	0	0
アカミミガメA (1晩水道水浸漬後の体表ふき取り)	1	1 ※※	100
アカミミガメA (1晩浸漬後の水)	1	1 ※※	100
カメ (クサガメ又はニホンイシガメ) 体表ふき取り	2	0	0

※ : 5検体全て *S. Schwarzengrund*

※※ : 08:e, h: 第2相不明

表2 サルモネラの薬剤感受性パターン

	菌株No.					
	347	373	381	390	420	428
血清型	<i>S. S</i>	<i>S. S</i>	<i>S. S</i>	<i>S. S</i>	UT	<i>S. S</i>
由来	鶏肉	鶏肉	鶏肉	鶏肉	野生カメ	鶏肉
薬剤						
アンピシリン	S	S	S	S	S	S
カナマイシン	R	R	R	S	S	R
セフメタゾール	S	S	S	S	S	S
セフォタキシム	S	S	S	S	S	S
セフェピム	S	S	S	S	S	S
セファゾリン	S	S	S	S	S	S
イミペネム	S	S	S	S	S	S
メロペネム	S	S	S	S	S	S
ナリジクス酸	R	S	S	S	S	S
ST合剤	R	R	S	S	S	R
ノルフロキサシン	S	S	S	S	S	S
ホスホマイシン	S	S	S	S	S	S
クロラムフェニコール	S	S	S	S	S	S
レボフロキサシン	S	S	S	S	S	S
ストレプトマイシン	R	R	I	R	S	R
テトラサイクリン	R	R	R	R	S	R

S: 感受性 R: 耐性 I: 中間

S. S : *S. Schwarzengrund*

UT : 型別不能 (08:e, h: 第2相不明)

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.S.はKM, SM及びTCに耐性の株が多いとの報告もあることから⁹⁾、今後も食鳥肉由来のサルモネラの薬剤耐性状況に注視していくことが重要と考えられた。

3.2 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51名のうち陽性は20名(*Y.p.* 17名, *Y.e.* 3名)で、23名は陰性であり、8名は複数の抗原との反応が見られた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た。これまでの調査により、*Y.p.*感染を疑う患者の33%が抗体陽性であったこと、抗体陽性により*Y.p.*感染の可能性が示唆された患者はほぼ年間を通して確認されたこと、*Y.p.*感染を疑う患者と川崎病の診断基準を満たす患者の抗体陽性率に有意差はなかったがそれぞれにのみ陽性を示す血清群が確認されたこと、そして、臨床症状で紅斑、膜様落屑、莓舌が抗体陽性群で有意に高く認められたことなど¹⁰⁾、一定程度のエルシニア症の感染実態及びエルシニア抗体価調査の意義が示されたものとする。

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, 岡田達郎, 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(令和2年度), 岡山県環境保健センター年報, 45, 25-28, 2021
- 2) 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
- 3) 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
- 4) 京都市衛生環境研究所: 鶏肉から分離されたサルモネラの血清型および薬剤耐性について, 京都市衛生環境研究所年報, 84, 91-95, 2018
- 5) 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> (2022.2.28アクセス)

- 6) 厚生労働省: 「ミドリガメ等のハ虫類の取扱いQ&A」(平成17年12月22日作成, 平成25年8月12日更新), https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou19/salmonella_qa.html (2022.2.28アクセス)
- 7) 長野則之, 小穴慎二, 長野由紀子, 荒川宜親: ミシシッピーアカミミガメ(ミドリガメ)との関連が強く疑われた小児重症サルモネラ感染症の2症例, 病原微生物検出情報(IASR), 26(12), 342-343, 2005
- 8) 船越康智, 渡辺 聡, 森 創, 木下史子, 得雄一郎ら: ミドリガメが感染源と考えられる小児サルモネラ感染症事例-長崎市, 病原微生物検出情報(IASR), 27(3), 71-72, 2006
- 9) 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
- 10) 中嶋 洋, 河合央博, 岡田達郎, 狩屋英明, 望月 靖: 加熱抗原を用いた血清抗体価測定による *Yersinia pseudotuberculosis* 感染症の発生状況調査, 感染症学雑誌, 96(1), 8-14, 2021