

徳島県内における胃腸炎患者由来 *Salmonella* Enteritidis の分子疫学的検討

徳島県保健環境センター

宇佐美 実・石田 弘子・下野 生世・澤田千恵子¹⁾

Molecule epidemiological Examination of *Salmonella* Enteritidis Isolated from Patients with Gastroenteritis in Tokushima Prefecture

Minoru USAMI, Hiroko ISHIDA, Ikuyo SHIMONO and Chieko SAWADA

Tokushima Prefectural Institute of Health and Environmental Sciences

要 旨

2005年1月から2007年12月の期間に徳島県内医療機関で分離された *Salmonella* Enteritidis (以下 SE) の菌株、及び食中毒や集団感染症の原因菌として当所で分離した SE 菌株について、パルスフィールド電気泳動 (以下 PFGE) を実施し、泳動パターンの比較を行った。また、あわせてファージ型別との関連性について検討した。その結果 PFGE パターンは2種類に大別され、ファージ型別との関連性においてはファージタイプ(以下 PT)14b, 21, 36, 47, 59, RNDC でほぼ同様のパターンを示し、PT 1 で様々な異なるパターンを示した。なお、PT と薬剤感受性、PFGE パターンの明確な関連性は認められなかった。

Key words : *Salmonella* Enteritidis, パルスフィールド電気泳動 (PFGE)

I はじめに

Salmonella は *Campylobacter* と並び細菌性食中毒の代表的な原因菌であり、患者数は毎年上位を占めている¹⁾。なかでも SE は1989年以降、分離される *Salmonella* の血清型で最も多い割合を占め、卵類及びその加工品を介する食中毒の原因菌として注目された。その後1998年11月の食品衛生法施行規則及び食品、添加物等の規格基準の一部改正により鶏の卵についての表示基準、液卵についての規格基準等が設定されたことにより、サルモネラ食中毒は減少したが、現在でも SE は分離される *Salmonella* の血清型の1位を占めている²⁾。

Salmonella の感染症状の多くは、下痢、発熱、腹痛、嘔吐 *Salmonella* を主症状とする急性胃腸炎である。しかし、SE による感染症の症状は胃腸炎にとどまらず、敗血症等の腸管外感染をおこし全身感染に移行して重篤な結果を招く事もある³⁾。また、少量でも発症し、食中毒のみならず、集団感染症の原因菌となりうる⁴⁾ ことから注意を払う必要がある。

従来、食中毒及び感染症の集団発生の原因究明には、喫食調査などの疫学調査の方法を統計学的に解析する手法と細菌学的検索による原因菌の特定が行われ、特に SE について

は、その細菌学的疫学手法としてファージ型別が用いられてきた。しかし、ファージ型別は国立感染症研究所 (以下感染研) 等、限られた機関でしか実施することができない。

一方、PFGE 法は、腸管出血性大腸菌の分子疫学的解析法として広く普及し、また、サルモネラ、カンピロバクター、レジオネラ等についても現在各地方衛生研究所で検討が行われている⁵⁾。

今回、徳島県内で発生した SE 食中毒、集団感染事例、及び散発感染事例から分離された SE 菌株について PFGE を実施し、泳動パターンの比較を行った。また、あわせてファージ型別との関連性、薬剤感受性試験も含めた疫学関連性を検討したので報告する。

II 材料および方法

1 材料

2005年から2007年の間に県内の医療機関から感染性胃腸炎の起炎菌として当所に送付された SE の菌株、食中毒、集団感染症の行政依頼検査により当所で分離した菌株63株を用いて調査を実施した。

2 検査方法

PFGE は、国立感染症研究所の大腸菌 New Protocol に準

¹⁾ 現徳島県立中央病院

じて実施したが、制限酵素には Bln I (Takara) を使用し、泳動条件は、バッファー温度14℃、6.0V/cm、パルスタイム2.2～63.8秒、泳動時間19時間で行った。

なお、ファージ型別は、国立感染症研究所に依頼して実施した。

また、薬剤感受性試験はペニシリン (PC)、アンピシリン (ABPC)、カルベニシリン (CPC)、セファゾリン (CEZ)、カナマイシン (KM)、ゲンタマイシン (GM)、テトラサイクリン (TC)、ドキシサイクリン (DOT)、エリスロマイシン (EM)、クロラムフェニコール (CP)、リンコマイシン (LCM)、コリスチン (CL)、ナリジクス酸 (NA)、オフロキサシン (OFLX)、ホスホマイシン (FOM)、レボフロキサシン (LVX) の16剤を用い KB ディスク (栄研) による1濃度ディスク法で実施した。

Ⅲ 結果及び考察

図-1 に示すとおり PFGE パターンは、17パターンに分類され、これらは2種類のグループに大別された。そのうちグループAは2～3バンドの違いはあるが、ほぼ同一の PFGE パターンを示した。一方、グループBは、多様な PFGE パターンを示した。このことから、感染源として少なくとも2つ以上の経路があることが考えられた。

ファージ型別との比較では、表-1 に示すとおり、PT14b, PT47, PT36, PT21, PT59及びRDNCがグループAに属し、グループBはすべてPT1であった。この結果は、谷脇

らの報告⁶⁾と同様であった。

病原微生物検出情報²⁾によれば全国的には、2002年にはPT4が最も多く、次いでPT1, PT47が多く分離されていたが2005年にかけてこれらのファージ型は減少し、一方2002年には少なかったPT14bが増加の傾向にある。図-2に示すとおり本県においては、PT1は2005年に多く分離され、2006年以降分離されていない。一方PT14およびPT47は、2005年～2007年にかけて継続して分離されており、全国の状況を反映するものと考えられた。

表-2に示すとおり、食中毒と断定された2事例由来のファージ型別は、PT1及びPT21であり、PFGEパターンはB-3及びA-1であった。また、表-3に示すとおり2005年7月の集団感染事例ではA-1を示すものが5株、A-2を示すものが4株であり、ファージ型別はPT14bであった。

63株中、薬剤耐性を示した18株について、DNAパターンとファージ型別も含めて疫学関連性を検討したが、各パターンの多様性が少ないことから、これら散発事例の関連性を推察することはできなかった。(表-2)

大腸菌 O157と比較して、SEはDNAパターンの多様性に乏しいといわれており、薬剤感受性を組み合わせることにより疫学関連性を推察するのに有効であるとの報告もあるが、今回の調査ではDNAパターンと薬剤感受性から疫学関連性を推察することはできなかった。

今回の調査は、すべて臨床株であったが、今後輸入鶏肉や

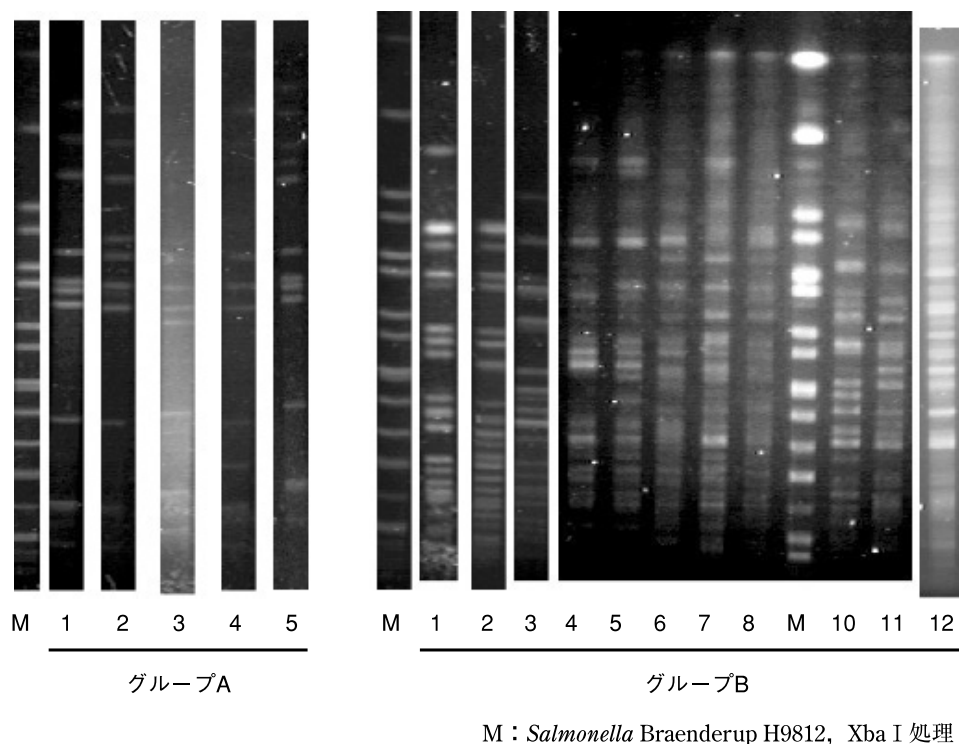


図-1 徳島県内で分離された *Salmonella* Enteritidis の PFGE パターン

国産鶏肉等の食材についても、PFGEパターン、ファージ型別等を実施し時系列で比較することにより、SEによる感染源が明らかになると考えられる。

また、薬剤感受性試験の使用薬剤として、輸入鶏肉由来SEで耐性が多く認められるストレプトマイシン (SM) スルファメトキサゾール/トリメトプリム (ST) を加え、今後とも調査を続けていく必要があると考えられた。

IV まとめ

徳島県内の胃腸炎患者由来SEのPFGEパターンは、2グループに大別され、感染起源として少なくとも2つの経路があることが考えられた。

ファージ型別との関連性においては、PT14b, PT47, PT36, PT21, PT59及びRDNCが同様のPFGEパターンを示し、分類が困難であったが、PT1は異なるPFGEパターンを示した。

大腸菌O157と比較して、SEはPFGEパターンの多様性に乏しいが、組み合わせる薬剤感受性試験を工夫することにより、疫学的に有効な情報が得られる可能性が考えられる。

また、感染経路の究明には、今後臨床株の他、食材等についても菌株分離を行い、PFGE、ファージ型別等を実施して検討を加える必要があると考えられた。

謝辞

今回の調査を行うにあたり、ファージ型別を実施していただきました国立感染症研究所 泉谷秀昌先生に深謝いたしますと共に、菌株の提供にご協力いただきました医療機関関係者の皆様に感謝いたします。

文献

- 1) 厚生労働省 食中毒に関する情報
<http://www.mhlw.go.jp/topics/syokuchu/04.html#4-2>
- 2) <特集>サルモネラ症 2006年6月現在、病原微生物検出情報, 27, 191-192 (2006)
- 3) 相楽裕子: サルモネラ・エンテリティディス感染症, 臨床と微生物, 25, 173-178 (1998)
- 4) 森敏彦, 笹川知位子, 澤田千恵子: 介護老人保健施設で発生した *Salmonella* Enteritidis の集団感染事例-徳島

表-1 PFGEパターンとファージ型別の比較

PFGEパターン	Total	PT14b	PT47	PT36	PT21	PT59	RDNC	PT1	PT1b
A-1	36	27	7	1	1				
A-2	11	8	1	1			1		
A-3	1	1							
A-4	1	1							
A-5	1					1			
B-1	1							1	
B-2	2							2	
B-3~11	9							1*	
B-12	1								1

1*: 各1株

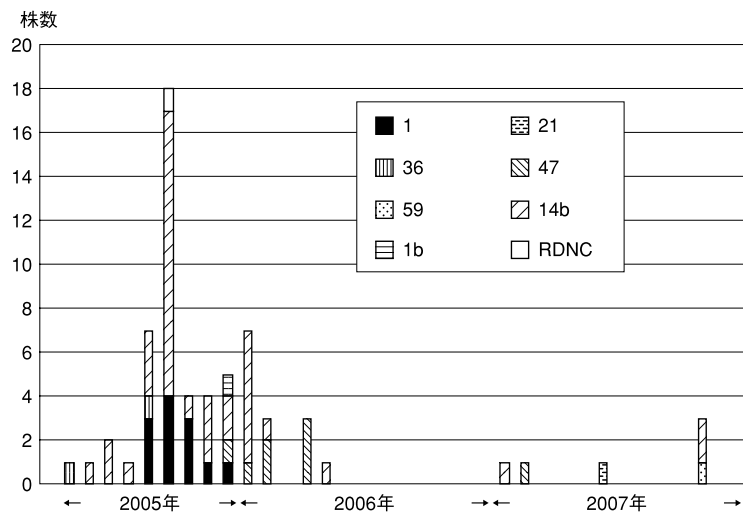


図-2 2005年~2007年に県内で分離されたSEのファージ型別

県. 病原微生物検出情報, 27, 193-195 (2006)

5) 主任研究者 寺嶋淳: 広域における食品由来感染症を迅速に探知するために必要な情報に関する研究 新興・再興感染症研究事業 平成18年度総括・分担報告書

6) 谷脇妙, 松本紀子, 絹田美苗: *Salmonella* Enteritidis に

おけるパルスフィールドゲル電気泳動像とフェージタイプ
の関連性について; 食品由来感染症の細菌学的疫学データ
ベース化に関する研究 平成16年度総括・分担研究報告
書, 165-168

表-2 PT と PFGE・薬剤感受性パターンの比較

採取年月日	年齢	性別	分類	PT	PFGE パターン	耐性薬剤
2005/3/3			散発	14b	A-1	ABPC
2005/4/18	42	男	散発	14b	A-1	ABPC
2005/4/21	17	男	散発	14b	A-1	ABPC
2005/5/26	65		散発	14b	A-1	ABPC, CPC, EM
2005/6/2	46	男	散発	14b	A-1	ABPC
2005/6/20	71	男	散発	36	A-1	ABPC, EM, DOT
2005/7/13	85	女	集団感染	14b	A-1	ABPC
2005/7/14	90	女	集団感染	14b	A-2	DOT
2005/7/25	47	男	散発	14b	A-1	CPC
2005/8/21	7	女	食中毒	1	B-3	DOT
2005/8/24	7	男	食中毒	1	B-3	DOT
2005/9/15	3	男	散発	14b	A-1	ABPC
2006/2/23	3	男	散発	47	A-1	ABPC
2006/2/23	11	女	散発	47	A-1	ABPC
2006/2/28	3	女	散発	47	A-1	ABPC, EM, DOT
2006/3/24	28	女	散発	14b	A-1	ABPC
2006/12/8	4	女	散発	14b	A-1	ABPC
2007/5/14	52	男	食中毒	21	A-1	ABPC

表-3 2005年集団感染事例

PT	PFGE パターン	耐性薬剤
14b	A-2	-
14b	A-1	-
14b	A-1	ABPC
14b	A-1	-
14b	A-1	-
14b	A-2	-
14b	A-2	-
14b	A-2	DOT
14b	A-1	-

薬剤感受性試験において, PC, EM, LCM に対しては全ての菌株が耐性を示したので記載を省略した (表-2, 3)