

Salmonella Infantis の疫学的解析

芝 美和 矢野恵子*¹ 松浦孝治*¹ 重松徹利*²
田中 博 大瀬戸光明 浅井忠男 井上博雄

Epidemiological Analysis of *Salmonella* Infantis

Miwa SHIBA Keiko YANO Koji MATSUURA Tetsutoshi SHIGEMATU
Hiroshi TANAKA Mitsuki OSETO Tadao ASAI Hiroo INOUE

From September, 1999 to January, 2000, *Salmonella* Infantis (*S. Infantis*) were predominantly isolated from chicken at a meat processing plant in Ehime. Seventy five *S. Infantis* strains were isolated from chicken meat and seventeen strains were from cloacal swab. Antibiotic resistance test and pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) were used for comparison with chicken and human origin strains. The strains tested were divided into eight patterns in the antibiotic resistance test, and divided into nine patterns in PFGE. One strain of chicken origin and two strains of human origin showed the almost same pattern.

These results showed that it was useful to use a antibiotic resistance test and PFGE simultaneously in epidemiological investigation of *S. Infantis*.

Keyword : *Salmonella* Infantis, chicken, human, antibiotic resistance test, pulsed-field gel electrophoresis

はじめに

Salmonella Infantis (*S. Infantis*) は従来から食中毒及び散発性下痢症の原因菌として報告され¹⁾, また食鳥処理場における材料からも高率に分離されている²⁾. 今回, ヒトと鶏肉との *S. Infantis* の疫学的関連を検討するために, 愛媛県内の食鳥処理場及びヒトから検出された *S. Infantis* について, 生化学的性状, 薬剤耐性試験及びパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) による DNA 解析を実施したので報告する.

材料と方法

1. 材 料

1999 年 9 月～2000 年 1 月までの期間, 愛媛県内の A 食鳥処理場に搬入されたブロイラーの鶏肉 (ムネ肉) 100 検体, クロアカスワブ 70 検体からサルモネラの分離を試みた. 一方で 1998 年 1 月～1999 年 5 月までの期間に愛媛県内の病院及び民間臨床検査所 6 施設で患者から分離されたサルモネラの菌株を収集し, 供試菌株とした.

2. *S. Infantis* の分離・同定

愛媛県立衛生環境研究所 松山市三番町 8 丁目 234 番地

*1 松山中央保健所 *2 大洲保健所

鶏肉及びクロアカスワブは増菌培養, 分離培養を実施し, 生化学的性状試験の後, 血清型別試験を行った. 収集したヒト由来株は生化学的性状を確認後, 血清型別試験により *S. Infantis* を同定した.

3. 供試菌株

鶏肉及びクロアカスワブ由来の *S. Infantis* 92 株のうち, 出荷農家及び採取月を考慮し, 鶏肉由来 19 株, クロアカスワブ由来 9 株 (ニワトリ由来株) の合計 28 株を使用した. ヒト由来の *S. Infantis* は 7 株であった.

4. 薬剤耐性試験

薬剤耐性試験はセンシディスク (日本ベクトン) を用い 1 濃度法にて実施した. 薬剤はアンピシリン (ABPC), セフトキシム (CTX), カナマイシン (KM), ゲンタマイシン (GM), ストレプトマイシン (SM), テトラサイクリン (TC), クロラムフェニコール (CP), シプロフロキサシン (CIP), トリメトプリム (TMP), ナリジクス酸 (NA), ホスホマイシン (FOM), スルファメトキサゾール/トリメトプリム (ST) の 12 剤を使用した.

5. PFGE による DNA 解析

被検菌株をハートインフュージョンブイヨンで 37°C, 一昼夜培養した. 菌液 75 μl を 1000 G, 15 分間遠心後

表1 食鳥肉からのサルモネラ月別分離状況

	1999年			2000年		計
	9月	10月	11月	12月	1月	
<i>S. Infantis</i> (07)	6	16	24	16	13	75
<i>S. Newport</i> (08)		3	1		3	7
<i>S. Virchow</i> (07)					1	1
検出数	6	19	25	16	17	83
検査数	10	20	30	20	20	100

表2 クロアカスワブからのサルモネラ月別分離状況

	1999年		2000年	計
	11月	12月	1月	
<i>S. Infantis</i> (07)	6	5	6	17
<i>S. Newport</i> (08)			2	2
検出数	6	5	8	19
検査数	30	20	20	70

上清を除去，菌体に50 μ lの蒸留水と1%低融点アガロース (Bio Rad) 50 μ lを加え混合し，ゲルブロックを作成した。溶菌及び酵素処理等は国立感染症研究所の方法³⁾に準拠して行った。制限酵素は*Xba I*, *Bln I*, *Not I* (ベーリンガー)を用いた。電気泳動はCHEF Mapper (Bio Rad) システムで，0.5 \times TBE buffer, 1%アガロースゲルを用い，泳動条件は10 $^{\circ}$ C 6V/cm 4~8秒 (linear ramp) 12時間，8~50秒 (linear ramp) 10時間に設定した。サイズマーカーは λ ladderを用い，0.5 μ g/mlのエチジウムブロマイド染色後，紫外線光源下でDNA断片を観察した。

結 果

1. サルモネラの分離状況

鶏肉 100 検体中 83 検体からサルモネラが分離され，

そのうち *S. Infantis* は 75 株 (90.4%) であった。その他，*S. Newport* 7 株 (8.4%)，*S. Virchow* 1 株 (1.2%) が分離された (表 1)。また，クロアカスワブ 70 検体中 19 検体からサルモネラが分離され，その内訳は *S. Infantis* が 17 株 (89.5%) で，*S. Newport* が 2 株 (10.5%) であった (表 2)。また，ヒト由来株では，*S. Enteritidis* を含む O 9 群が最も多く収集されたが，イカ菓子事件⁴⁾に関連して一過性の増加をみた *S. Oranienburg* および *S. Chester* を除けば *S. Infantis* がヒトからも多く分離された。

2. 薬剤耐性試験

ニワトリ由来株 28 株は，6つの薬剤耐性パターンに分類された。一方，ヒト由来の7株では，5パターンに分類され，その中にはニワトリ由来株と共通したパターンがそれぞれ1株ずつ3パターン認められた。表4に示すとおり供試した合計37株は8パターンに分類された。

3. PFGEによるDNA解析結果

薬剤耐性パターンの結果から，ニワトリ由来株13株，ヒト由来株7株を選択し，PFGE型別を実施したところ *Xba I* ではニワトリ由来株は3パターン，ヒト由来株は5パターンを示した。*Bln I* ではニワトリ由来株は4パターン，ヒト由来株は5パターンを示し，*Not I* ではニワトリ由来株は2パターン，ヒト由来株は3パターンであった。

以上の結果，ニワトリ由来株13株のPFGEパターンはI~VIの6パターンとなり，薬剤耐性パターンを加えて解析した *S. Infantis* 型別は，9タイプであった (表5)。同様にヒト由来株7株のPFGEパターンはI, VII, VIII, IX, Xの5パターンとなり薬剤耐性パターンを加えた *S. Infantis* 型別は5タイプであった (表6)。

この *S. Infantis* 型別において，ニワトリ由来株2株とヒト由来株1株の計3株が同じタイプ (タイプ1) であった (図1)。

表3 患者からのサルモネラ分離状況

	1998年					1999年					計							
	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月		11月	12月					
<i>S. Infantis</i> (07)				1	2					2			7					
<i>S. Oranienburg</i> (07)											1	2	11	4	18			
<i>S. Montevideo</i> (07)						1	3	1							5			
<i>S. Virchow</i> (07)														1	1			
07:HUT											1			1	2			
<i>S. Chester</i> (04)													1	5	6			
<i>S. Typhimurium</i> (04)			1					1							2			
<i>S. Agona</i> (04)								1						1	2			
<i>S. Schwarzengrund</i> (04)										1					1			
08				1	1			2							4			
09	1			3	1	5	7	9	10	12	7	3	2		2	64		
03,10			1	1				1								3		
OUT										1						1		
	1	2	1	6	3	6	10	15	10	16	7	3	4	2	13	14	3	116

表4 薬剤耐性パターン

	株数	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII
ニワトリ由来	30	19	3	5	1	1	1		
ヒト由来	7	1	1	1				2	2
計	37	20	4	6	1	1	1	2	2

(耐性を示した薬剤)

パターンI: KM, SM, TC, TMP, ST パターンV: KM, SM, TC, NA
 パターンII: KM, SM, TC パターンVI: SM, TC, TMP, ST
 パターンIII: SM, TC パターンVII: ABPC
 パターンIV: SM, TC, NA パターンVIII: 薬剤耐性なし

表5 ニワトリ由来 S. Infantis 型別(薬剤耐性+PFGE)

タイプ	株数	薬剤耐性	PFGE	切断パターン		
				Bln I	Xba I	Not I
1	2	I	I	A	A	A
2	3	I	II	A	B	A
3	2	II	III	B	A	A
4	1	II	IV	B	C	A
5	1	III	V	C	A	A
6	1	III	VI	D	A	B
7	1	IV	V	C	A	A
8	1	V	III	B	A	A
9	1	VI	I	A	A	A
計	13					

表6 ヒト由来 S. Infantis 型別(薬剤耐性+PFGE)

タイプ	株数	薬剤耐性	PFGE	切断パターン		
				Bln I	Xba I	Not I
1	1	I	I	A	A	A
10	1	II	X	G	F	A
11	1	III	VII	C	B	A
12	2	VII	VIII	E	D	C
13	2	VIII	IX	F	E	D
計	7					

考 察

鶏肉の83%からサルモネラが分離され、そのうち S. Infantis は約90%を占めていた。この要因として、ブロイラーが農場ですでに高率にサルモネラに汚染されていたことよりも、処理場のチラー水等による S. Infantis 汚染が疑われた。実際、今回の検査と併行してチラー水のサルモネラ検査を行ったところ S. Infantis が分離されたことから、今後この段階での本菌の汚染対策が必要であると思われた。

一方、1998年1月から1999年5月までの期間に収集したヒト由来のサルモネラの血清型では、O9群(S. Enteritidis とされる)が最も多く分離され、次いで、S. Oranienburg, S. Infantis であった。菌株を収集した期間は、S. Oranienburg に汚染されたイカ菓子による全国的な食中毒があった時期であったため、S.

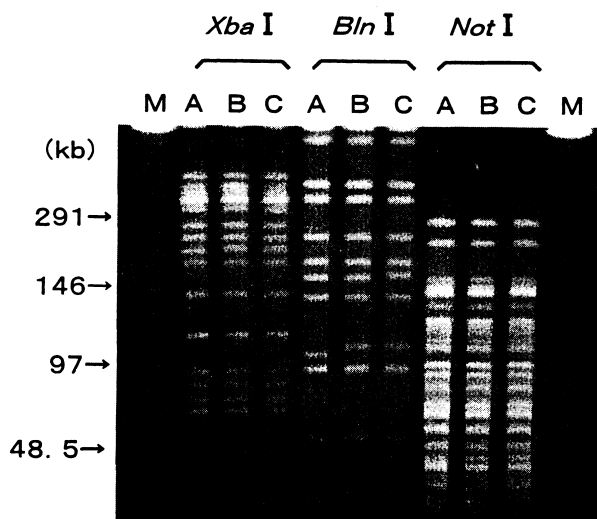


図1 S. InfantisのPFGEパターン

A: ヒト由来
 B: 鶏肉由来
 C: クロアカスワブ由来
 M: 分子量マーカー(λ ladder)

Oranienburg が多く分離されたと思われた。S. Infantis は S. Enteritidis に次いで、サルモネラによる散发性胃腸炎の主要血清型菌であると推察された。

食中毒をはじめとする感染症の疫学調査には、分離菌株の薬剤耐性パターン、生化学的性状所見、PFGEによるDNA解析パターン、プラスミドプロファイル、RAPD (Random-amplified polymorphic DNA)、ファージ型別などが疫学マーカーとして用いられている。特に、PFGEによるDNA解析は、近年その手法が確立され、O157やサルモネラのdiffuse outbreakの疫学調査に用いられ、その有効性が示されている。今回、我々はS. Infantisの疫学解析に薬剤耐性試験とPFGEを併用した。その結果、S. Infantisがより詳細に型別され、ニワトリ由来株とヒト由来株で類似性を持つ菌株が見い出された。

今回、供試したニワトリ由来のS. Infantisの菌株は1ヶ所の食鳥処理場から分離された菌株のみで、また、ヒト由来株も7株のみであった。今後調査範囲の拡大と菌株を増やし、解析することとしたい。

ま と め

1. 分離されたサルモネラのうち S. Infantis の割合は、鶏肉で90.4%、クロアカスワブで89.5%であった。
2. 薬剤耐性試験では、ニワトリ由来株は6パターン、ヒト由来株では5パターンを示した。そのうち、共通のパターンが3株認められた。
3. PFGEによるDNA解析においては、ニワトリ由来株は6パターン、ヒト由来株は5パターンであった。
4. 薬剤耐性パターンを加えて解析した S. Infantis 型

別は、ニワトリ由来株が9タイプ、ヒト由来株が5タイプを示し、ニワトリ由来株2株とヒト由来株1株が同じタイプであった。

5. 薬剤耐性試験とPFGEによるDNA解析を併用したことにより、より詳細に *S. Infantis* が型別できた。

文 献

- 1) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報，21，162 - 163 (2000)
- 2) 石原佑弋ほか：鶏病研報，36，33 - 36 (2000)
- 3) 国立感染症研究所：腸管出血性大腸菌 O157 の検出・解析等の技術研修会マニュアル (1996)
- 4) 田中博ほか：愛媛衛環研年報，2，1 - 5 (1999)