

山梨県の散発下痢症患者由来のサルモネラの 細菌・疫学的検討 (2000年～2001年)

野田裕之 大沼正行 泉谷秀昌* 金子通治

Epidemiological and Bacteriological Studies on
Salmonella Strains Isolated from Patient with
Sporadic Diarrhea in Yamanashi Prefecture
(2000～2001)

Hiroyuki NODA, Masayuki OHNUMA, Hidemasa IZUMIYA and Michiharu KANEKO

わが国では1989年以降サルモネラ・エンテリティディス (*Salmonella* serovar Enteritidis, 以下SEと略す)を中心にサルモネラによる食中毒が多発しており, 事件数, 患者数とも常に食中毒の上位を占めている。とくに, 1996年～1999年は患者数が10,000人以上で1998年以外は病因物質として第1位であった¹⁾。ところが, 2000年は患者数が6,940人と減少し, 黄色ブドウ球菌による加工乳等の大規模食中毒があった年ではあるが, 黄色ブドウ球菌, 小型球形ウイルスに次いで第3位となった²⁾。そして, 2001年は速報値であるが, 患者数が4,912人とさらに減少しており, サルモネラによる食中毒はここ2年減少傾向にある。

当所では, サルモネラ食中毒を未然に防止するため, 1985年以降山梨県のサルモネラ症の原因血清型を中心に分離株の諸性状を検討してきた^{3)～13)}。前報¹³⁾では1996年～2000年に散発下痢症から分離されたサルモネラについて検討し, 本県ではサルモネラによる散発下痢症が依然増加傾向にあること, 分離株の約8割がSEであることなどを報告した。しかし, 2001年になって, 散発下痢症から分離されるサルモネラの菌株数が2000年の分離数の半数以下に減少した。

今回, 分離数減少の状況を細菌・疫学的にみるため, 2000年と2001年に山梨県内で分離された散発下痢症株について, 両年を比較しながら, 年別・月別分離株数, 患者の年齢・性別分離頻度および血清型, 薬剤感受性, フェージ型, プラスミドプロフィールなどの疫学マーカーを検討したので報告する。

材料および方法

1. 散発下痢症の供試菌株

2000年1月から2001年12月までの2年間に山梨県

内の7つの医療・検査機関からサルモネラの同定依頼を受けた400株を供試した。

2. サルモネラの同定法

サルモネラの同定は常法¹⁴⁾に従い, 生化学的および血清学的性状からサルモネラを同定するとともに, その血清型を決定した。

3. 薬剤感受性試験法

NCCLS法の規格に準拠し, 一濃度ディスク法(BBLセンシディスク)によって測定した。使用薬剤はサルファ剤がスルフイツキサゾール(SA), 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), カナマイシン(KM), アミノベンジルペニシリン(ABPC), セファロチン(CET), セフォキシチン(CFX), ラタモキシセフ(LMOX), スルファメトキサゾールとトリメトプリムの合剤(ST), ノルフロキサシン(NFLX), ホスホマイシン(FOM), ゲンタマイシン(GM), トリメトプリム(TMP), ドキシサイクリン(DOXY), セフォタキシム(CTX), シプロフロキサシン(CPFX)およびナルジクス酸(NA)の18薬剤である。

4. プラスミドプロフィール

KadoとLiuの方法¹⁵⁾に準拠し, 実施した。プラスミドDNAを抽出後, 0.65%のアガロースを使用し, 約2時間30分電気泳動してエチジウムブロマイドで染色後, 紫外線照射下で撮影し, プラスミドを観察した。

5. フェージ型別

SEのフェージ型(PT)別は国立感染症研究所・細菌部に依頼した。

* : 国立感染症研究所

表1 2000年と2001年のサルモネラ散発下痢症株の血清型と分離株数

血清型	2000年	2001年	合計
S.Enteritidis	244	80	324
S.Typhimurium	12	7	19
S.Saintpaul	1	7	8
S.Infantis	3	2	5
S.Newport	2	3	5
S.Agona	2	1	3
S.Montevideo	1	2	3
S.Weltevreden	—	3	3
S.Virchow	1	1	2
S.Braenderup	1	1	2
S.Bareilly	1	1	2
S.Thompson	—	2	2
S.Hadar	—	2	2
S.Surat	—	2	2
S.Dublin	—	2	2
S.Nagoya	—	2	2
S.Rissen	1	—	1
S.Mbandaka	1	—	1
S.Derby	—	1	1
S.Hvitittingfoss	—	1	1
S.Manhattan	—	1	1
S.Bovismorbificans	—	1	1
S.paratyphi B	—	1	1
S.Heidelberg	—	1	1
S.Brandenburg	—	1	1
S.Anatum	—	1	1
S.Livingstone	—	1	1
O4:i:-	1	—	1
O8:z4,z23-	1	—	1
O4:d:-	1	—	1
合計	273	127	400

結果および成績

1. 分離株の血清型と年次別分離株数

表1に2000年と2001年のサルモネラの血清型と分離株数を示した。年間分離株数は2000年の273株に対して、2001年は127株と半数以下に減少した。血清型で見ると2年間とも最多分離血清型であるSEが2000年の244株から2001年には80株と約1/3に減少している。

表2 2000年のサルモネラ散発下痢症患者の年齢・性別分布

性	年齢群 (歳)									合計 (%)
	0~9	10~19	20~29	30~39	40~49	50~59	60~69	70~79	≥80	
男	64	22	16	13	9	11	11	2	1	149 (54.6)
女	53	9	12	18	7	9	8	4	4	124 (45.4)
合計	117	31	28	31	16	20	19	6	5	273
(%)	(42.9)	(11.4)	(10.3)	(11.4)	(5.9)	(7.3)	(7.0)	(2.2)	(1.8)	

表3 2001年のサルモネラ散発下痢症患者の年齢・性別分布

性	年齢群 (歳)									合計 (%)
	0~9	10~19	20~29	30~39	40~49	50~59	60~69	70~79	≥80	
男	32	10	13	4	4	8	6	3	0	80 (63.0)
女	20	5	2	7	2	6	4	1	0	47 (37.0)
合計	52	15	15	11	6	14	10	4	0	127
(%)	(40.9)	(11.8)	(11.8)	(8.7)	(4.7)	(11.0)	(7.9)	(3.1)	(0)	

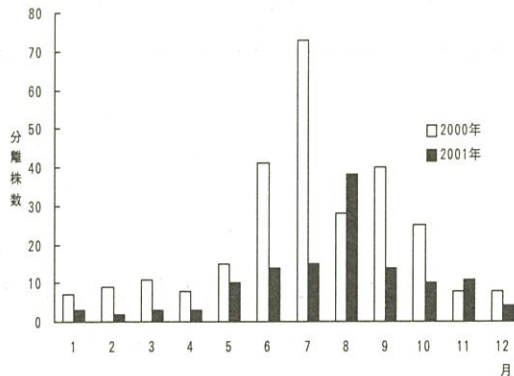


図1 月別の分離頻度

た。これに対しSE以外の血清型は2000年の11種類29株から2001年は23種類47株とむしろ増加した。また、2001年には県内でヒトから初めてS.Surat, S.Dublin, S.Manhattanの3血清型が分離された。

2. 月別分離株数

月別の分離株数を2000年と2001年に分けて図1に示した。2000年は7月に73株と顕著に多く分離され、次いで6月41株、9月40株、8月28株の順であった。2001年は8月に38株と最も多く分離され、以下7月15株、6月と9月14株の順であったが、2000年と比較すると8月以外は分離株数が半数以下だった。2年間の合計では、7月88株、8月66株、6月55株、9月54株の順で、6~9月が65.8%と分離が多かった。

3. 年齢・性別の分離頻度

表2に2000年の、表3に2001年の患者の年齢・性別の分離頻度を10歳間隔で示した。2000年、2001年とも

表4 2000年サルモネラ散発下痢症患者9歳以下の年齢・性別分布

性	年 齢 (歳)										合 計 (%)	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
男	2	10	7	12	6	5	9	3	4	6	64	(54.7)
女	2	9	7	8	7	5	4	3	3	5	53	(45.3)
合計	4	19	14	20	13	10	13	6	7	5	117	
(%)	(3.4)	(16.2)	(12.0)	(17.1)	(11.1)	(8.5)	(11.1)	(5.1)	(6.0)	(9.4)		

表5 2001年サルモネラ散発下痢症患者9歳以下の年齢・性別分布

性	年 齢 群 (歳)										合 計 (%)	
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9		
男	1	3	9	1	4	4	5	3	1	1	32	(61.5)
女	1	2	4	4	2	0	3	2	0	2	20	(38.5)
合計	2	5	13	5	6	4	8	5	1	3	52	
(%)	(3.8)	(9.6)	(25.0)	(9.6)	(11.5)	(7.7)	(15.4)	(9.6)	(1.9)	(5.8)		

9歳以下の年齢群から分離頻度が高く、117人(42.9%)、52人(40.9%)と40%以上を占めていた。次いで10～19歳、20～29歳、30～39歳の年齢群の分離が多く、ほとんど差がなく分離された。性別では男性からの分離が多く、とくに2001年は63.0%と多くみられた。年齢群で多かった9歳以下の乳幼児、小児の1歳ごとの分離頻度を表4、表5に示した。表4が2000年、表5が2001年である。2000年は3歳児の20人が最も多く、以下1歳児19人、2歳児14人、4歳児と6歳児13人と前報¹⁰⁾と同様に1～4歳児からの分離が多かったが、2001年は分離にばらつきがみられた。

4. 分離株の薬剤感受性

分離株の血清型別耐性率を表6に示した。使用した18薬剤のいずれかに耐性を示した株は、2000年が273

株のうち218株で、耐性率は79.9%であり、2001年が127株のうち64株で耐性率は50.4%と2000年より大幅に低下していた。最多血清型のSEも2000年の耐性率84.8%が2001年は60%に低下していた。

5. 耐性株の耐性型と血清型

表7に2000年の耐性株218株と2001年の耐性株64株の耐性型と血清型を示した。2000年はSM1剤耐性型が205株と耐性株の94.0%を占めたが、うち204株がSEであった。2001年もSM1剤耐性型が最も多い耐性型であったが、株数は40株と耐性株の62.5%であり、NA1剤耐性型のSE6株、SA・SM・TC・CP・ABPC・DOXYの多剤耐性型のS.Typhimurium6株など他の耐性型の割合が多くなっていた。

表6 分離株の血清型別耐性率

血 清 型	2000年			2001年		
	分離株数	耐性株数	耐性率 (%)	分離株数	耐性株数	耐性率 (%)
S.Enteritidis	244	207	84.8	80	48	60
S.Typhimurium	12	4	33.3	7	6	85.7
S.Infantis	3	3	100	2	2	100
S.Saintpaul	1	1	100	7	1	14.3
S.Virchow	1	1	100	1	1	100
S.Rissen	1	1	100	—	—	—
O4:d:-	1	1	100	—	—	—
S.Hadar	—	—	—	2	2	100
S.Dublin	—	—	—	2	2	100
S.Derby	—	—	—	1	1	100
S.Manhattan	—	—	—	1	1	100
Sensitive	10	0	0	24	0	0
合 計	273	218	79.9	127	64	50.4

表7 2000年耐性株(218株)と2001年耐性株(64株)の耐性型と血清型

耐性型	2000年		2001年	
	株数(%)	血清型(株数)	株数(%)	血清型(株数)
SM	205(94.0)	S.Enteritidis(204) S.Saintpaul(1)	40(62.5)	S.Enteritidis(40)
NA	2(0.9)	S.Enteritidis(1) S.Virchow(1)	6(9.4)	S.Enteritidis(6)
KM	1(0.5)	S.Typhimurium(1)	—	—
TC・DOXY	2(0.9)	S.Typhimurium(1) S.Infantis(1)	1(1.6)	S.Enteritidis(1)
SA・SM	1(0.5)	O4:d:-(1)	—	—
SM・TC・DOXY	1(0.5)	S.Rissen(1)	1(1.6)	S.Hadar(1)
KM・ABPC・NA	1(0.5)	S.Enteritidis(1)	—	—
SA・SM・TC・DOXY	1(0.5)	S.Infantis(1)	3(4.7)	S.Infantis(1) S.Derby(1) S.Manhattan(1)
SM・TC・KM・DOXY	1(0.5)	S.Enteritidis(1)	1(1.6)	S.Hadar(1)
SA・SM・TC・NA・DOXY	—	—	1(1.6)	S.Enteritidis(1)
SA・SM・TC・CP・ABPC・DOXY	—	—	6(9.4)	S.Typhimurium(6)
SM・TC・KM・ABPC・NA・DOXY	—	—	2(3.1)	S.Dublin(2)
SM・TC・CP・KM・ABPC・DOXY	1(0.5)	S.Typhimurium(1)	—	—
SA・SM・TC・KM・NA・DOXY	1(0.5)	S.Infantis(1)	—	—
SA・SM・TC・CP・ABPC・NA・DOXY	1(0.5)	S.Typhimurium(1)	—	—
SA・SM・TC・KM・ST・TMP・DOXY	—	—	1(1.6)	S.Infantis(1)
SA・TC・CP・NA・ST・TMP・DOXY	—	—	1(1.6)	S.Virchow(1)
SA・SM・TC・CP・KM・ST・TMP・DOXY	—	—	1(1.6)	S.Saintpaul(1)

6. SEのプラスミドプロファイルとフェージ型

2000年と2001年に分離されたSE 324株について、プラスミドプロファイルとフェージ型を検討した。

プラスミドプロファイルは、表8に示したように60kb単独保有が2000年、2001年とも多く、96.3%、88.8%とほとんどを占めていた。

表9にフェージ型の分布を示した。2000年はPT4が163株と66.8%を占めていた。次いで、RDNCが30株、PT1が27株の順であった。2001年はPT1が26株と2000年とほとんど同数であったが、PT4は33株で41.3%と株数、割合とも顕著に減少していた。

7. 3種類の疫学マーカーのパターン

SEの疫学マーカーであるフェージ型、薬剤耐性型、プラスミドプロファイルの相互関係と株数を表10に2000年分離株、表11に2001年分離株として示した。2000年で最も多いパターンはPT4、SM1剤耐性、60kbプラスミド単独保有で134株(54.9%)であった。次いでPT4、薬剤感受性、60kbプラスミド保有が26株(10.7%)、PT1、SM1剤耐性、60kbプラスミド保有が22株(9.0%)と多かった。これは、1998年⁹⁾、1999年¹¹⁾と同様の成績であった。これに対して、2001年の

表8 SEの2000年分離株(244株)と2001年分離株(80株)のプラスミドプロファイル

プラスミドプロファイル(kb)	2000年株数(%)	2001年株数(%)	合計(%)
60	235(96.3)	71(88.8)	306(94.4)
94.5, 60	1(0.4)	3(3.8)	4(1.2)
88, 60	3(1.2)	—	3(0.9)
70	—	3(3.8)	3(0.9)
60, 46	1(0.4)	—	1(0.3)
130, 60, 50, 46	1(0.4)	—	1(0.3)
150, 70, 60	1(0.4)	—	1(0.3)
60, 50	—	1(1.3)	1(0.3)
—	2(0.8)	2(2.8)	4(1.2)
合計	244(100)	80(100)	324(100)

パターンは、最も多かったのがPT1、SM1剤耐性、60kbプラスミド保有で20株(25%)、次いでPT4、薬剤感受性、60kbプラスミド保有の18株(22.5%)、PT4、SM1剤耐性、60kbプラスミド保有の15株(18.8%)の順であった。2001年は今まで多かったパターンであるPT4、SM1剤耐性、60kbプラスミド保有株の減少が顕著であった。

表9 SEの2000年分離株(244株)と2001年分離株(80株)のフェージ型分布

年	フェージ型																合計	
	1	3	4	4a	5a	7	7a	8	9	12	14b	21	28	31	47	UT		RDNC
2000	27	1	163	1	—	12	3	—	—	—	—	—	—	2	3	2	30	244
2001	26	—	33	—	2	1	—	1	1	2	1	3	2	—	6	—	2	80
合計	53	1	196	1	2	13	3	1	1	2	1	3	2	2	9	2	32	324

表10 SE 2000年分離株(244株)のフェージ型、薬剤耐性型、プラスミドプロファイル

フェージ型	薬剤耐性型	プラスミドプロファイル(kb)	株数	%
	SM	60	134	54.9
	感受性	60	26	10.7
4	KM・ABPC・NA	150, 70, 60	1	0.4
	SM	—	1	0.4
	感受性	—	1	0.4
	SM	60	22	9.0
1	感受性	60	3	1.2
	SM	88, 60	1	0.4
	NA	60	1	0.4
	感受性	60	10	4.1
7	SM	88, 60	1	0.4
	感受性	60	1	0.4
7a	SM	60	3	1.2
47	感受性	60	2	0.8
	SM	60	1	0.4
31	SM	60	1	0.4
	感受性	60	1	0.4
3	SM	60, 46	1	0.4
4a	SM	60	1	0.4
UT	感受性	60	1	0.4
	SM・TC・KM・DOXY	130, 60	1	0.4
	SM	60	26	10.7
RDNC	感受性	60	2	0.8
	SM	88, 60	1	0.4
	SM	94.5, 60	1	0.4

表11 SE 2001年分離株(80株)のフェージ型、薬剤耐性型、プラスミドプロファイル

フェージ型	薬剤耐性型	プラスミドプロファイル(kb)	株数	%
	SM	60	20	25
1	NA	60	4	5
	SM	—	1	1.3
	SA・SM・TC・NA・DOXY	—	1	1.3
4	感受性	60	18	22.5
	SM	60	15	18.8
47	感受性	60	5	6.3
5a	SM	94.5, 60	2	2.5
12	NA	60	2	2.5
28	感受性	70	2	2.5
	SM	60	1	1.3
21	感受性	60	1	1.3
	TC・DOXY	60, 50	1	1.3
7	SM	60	1	1.3
8	感受性	70	1	1.3
9	感受性	60	1	1.3
14b	感受性	60	1	1.3
47	感受性	60	1	1.3
RDNC	感受性	60	2	2.5

考 察

当所では1985年以降県内の散発下痢症から分離されるサルモネラを検討してきたが³⁻¹³⁾、分離株数は1989年に238株と急増した後、一時減少したが、1993年から増加し始め、1996年に過去最高の305株が分離され、続いて1999年、2000年と2番目、3番目の分離数の283株、273株が分離されており¹³⁾、2000年まではサルモネラによる散発下痢症は増加傾向にあった。ところが、2001年になってサルモネラの分離数が前年の半数以下の127株に減少した。今回、この減少の状況を細菌・疫学的に検討した。

2000年と2001年を血清型で比較すると、最多血清型であるSEが244株から80株と大幅に減少していた。そしてSE以外の血清型は2001年の方が多かったことから、2001年の分離株数減少はSEの大幅な減少によるものであった。これを疫学マーカーである薬剤感受性、プラスミドプロファイル、フェージ型の結果でみると、2001年のSEは薬剤感受性菌の増加、SM1剤耐性株の減少、PT4の減少とプラスミドプロファイル以外は大きな変化がみられた。さらに、疫学マーカーの組み合わせの検討から、PT4、SM1剤耐性、60kbプラスミド保有のパターンの菌株が2000年の134株から2001年の15株と顕著に減少していた。PT4、SM1剤耐性、60kbプラスミド保有の菌株は、1985年～1995年⁵⁾が167株(27.7%)、1998年⁹⁾が80株(55.6%)、1999年¹⁰⁾が81株

(42.2%)、そして2000年が134株(54.9%)と近年の山梨県で最も分離されるパターンであり、このパターンの菌の減少が2001年のサルモネラによる散発下痢症減少の大きな要因であった。

月別では2000年、2001年とも6月から9月に分離数が多かったが、2001年は8月以外は2000年の半数以下と全体的に分離数が少なく、原因としてサルモネラによる汚染食品等の減少も考えられた。また、2000年の7月のように患者数が急増する場合があります、やはり夏期には食品の温度管理等注意が必要である。

年齢別では2000年、2001年とも9歳以下の乳幼児、小児に多く、2000年はとくに1～4歳から多く分離され、前報¹³⁾と同様の結果であったが、2001年は分離株数が少ないためかばらつきがみられた。しかし、2000年と2001年で年齢分布に大きな違いはみられなかった。

2001年のサルモネラによる散発下痢症の減少は、SEのなかでも近年最も分離されるパターンであるPT4、SM1剤耐性、60kbプラスミド保有の菌株が減少したことによった。散発下痢症の原因食品は判明していないが、前報¹³⁾ではSEが分離株の8割を占めていることから、鶏卵の関与が疑われた。2001年のSEの減少、それも最も分離されるパターンの菌株の減少の原因として、鶏卵のSE汚染の低下も考えられる。鶏卵によるサルモネラ食中毒を防止するため、厚生省(当時)は食品衛生法施行規則等を改正し、鶏卵の卵の表示基準、液卵の規格基準等を定め、1999年11月から施行した。また、農林水産省はSE不活化ワクチンを1998年に認可し、ワクチ

ンが使用されるようになった。これらの対策が徐々に効果を発揮してきているのか、あるいは1次的な状況か、今後の発生動向を注意する必要がある。また、PT4は1996年～1999年の全国のSEの集団発生由来SE株でも第1位のフェージ型である¹⁾ので、PT4の減少が全国的に起こっているのか、今後注目していきたいと考えている。

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) 厚生労働省医薬局食品保健部監視安全課：食品衛生研究，51(9)，110～195（2001）
- 3) 金子通治：感染症誌，65，1533～1540（1991）
- 4) 金子通治：感染症誌，69，1294～1301（1995）
- 5) 金子通治，中村明子：感染症誌，70，792～800（1996）
- 6) 金子通治：山梨衛公研年報，39，39～44（1995）
- 7) 高橋照美，金子通治：山梨衛公研年報，40，17～20（1996）
- 8) 金子通治：山梨衛公研年報，41，22～26（1997）
- 9) 野田裕之ら：山梨衛公研年報，42，25～32（1998）
- 10) 浅川洋美ら：山梨衛公研年報，42，33～39（1998）
- 11) 野田裕之ら：山梨衛公研年報，43，14～20（1999）
- 12) 浅川洋美ら：山梨衛公研年報，43，30～33（1999）
- 13) 野田裕之ら：山梨衛公研年報，44，30～34（2000）
- 14) 厚生省監修：微生物検査必携細菌・真菌検査，第3版 p.D43～D54，日本公衆衛生協会，東京（1987）
- 15) Kado,C.I. & Liu,S.T.：J.Bacteriol.，145，1365～1373（1981）