

# 下痢症患者から分離された *Salmonella* Fluntern の感染源調査

黒木真理子 吉野修司 大浦裕子

## An investigation into a source of infection of *Salmonella* Fluntern isolated from a patient with diarrhea.

Mariko KUROGI, Shuji YOSHINO, Yuko OHURA

### 要旨

2012年11月、下痢、嘔気、嘔吐等の胃腸炎症状を呈した男児から *Salmonella* 属菌が分離され、血清型別試験の結果、ヒトからの検出報告が稀な *Salmonella* Fluntern(O18:b:1,5)と同定された。*S.* Fluntern は爬虫類から分離報告があるため、家庭で飼育されていた爬虫類が感染源と推定された。そこで、飼育されていた爬虫類10匹(ヤモリ類5匹、ヘビ類3匹、トカゲ類2匹)の検体及び拭き取り8検体について、サルモネラ属菌の調査を行った。検査の結果、ヤモリ類1匹、トカゲ類1匹から *S.* Fluntern が分離された。患児由来株と2種類の爬虫類由来株を用いて Pulsed field gel electrophoresis (PFGE) を行ったところ、ほぼ同一のバンドパターンを呈した。また、12薬剤による薬剤感受性試験の結果、供試した薬剤すべてに感受性を示したことから、耐性菌の出現には至っていないと考えられた。

キーワード：*Salmonella* Fluntern, PFGE, 薬剤感受性, 爬虫類

### はじめに

サルモネラ属菌は食中毒及び人獣共通感染症の起因菌であるが、ペットとして飼育されている爬虫類からの感染も報告されている<sup>1)</sup>。

近年、我が国でも欧米諸国と同様、爬虫類の人気が高まっている。2011年に輸入された個体数は30万頭を超えており<sup>2)</sup>、ペットとして多数の爬虫類が輸入されている状況が示唆される。また、国内では家庭で飼育されていたカメやイグアナが感染源と推定される乳児下痢症、敗血症、髄膜炎等のサルモネラ症の報告があり<sup>3)4)</sup>、宮崎県でもカメが感染源として疑われた発熱、下痢及び血便を伴う2歳の患児から *S.* Matadi (O17:k:e,n,x)が分離されている。

2012年11月、1歳の男児が下痢、嘔気、嘔吐等の胃腸炎症状を呈し、ヒトからの検出報告が稀な *S.* Fluntern が分離同定された。翌週以降も菌の検出が続いたため主治医を通じて家族に確認したところ、感染源として患児の家庭で

飼育していた複数の爬虫類が疑われた。

今回、患児の家庭で飼育されていた爬虫類についてサルモネラ属菌の保有状況を調査し、併せて患児の行動範囲を中心に拭き取り検査を行い、感染源の推定を試みたので報告する。

### 材料と方法

#### 1 材料

①爬虫類の検体として、3種類、計10匹(ヤモリ類:ヒョウモントカゲモドキ5匹、ヘビ類:コーンスネーク3匹、トカゲ類:フトアゴヒゲトカゲ2匹)の便、脱皮殻、尿酸及び飼育水、②患児の行動範囲にあったメキシコサラマンダー2匹の飼育水、③患児の行動範囲にあったゲージ、ゲージを載せたラック、爬虫類の温浴に用いる洗面器及び餌箱の拭き取り材料を用いた(表1)。

#### 2 検体からの *Salmonella* 属菌分離

便、脱皮殻及び尿酸は1mlのPBSを加え

vortex した乳剤を試料とした。試料，飼育水及び拭き取り材料は各試料液 100  $\mu$ l を緩衝ペプトン水 10 ml に加え，37°C で 18 時間前増菌後，培養液 1 ml をラパポート・バシリディウス (RV)，テトラチオネート(TT)の選択増菌培地 9 ml に接種した。RV は 42°C，TT は 37°C で 18 時間培養した後，増菌した各培養液を DHL 及び CHROMagar Salmonella 培地に塗抹し，37°C で 24 時間好気培養を行った。

### 3 同定

平板培地上に典型的なサルモネラ属菌のコロニーを形成したのものについて，5~100 コロニーを釣菌した。生化学性状は TSI, LIM, Simmons Citrate, マロン酸塩培地，及び 3 種類の糖分解性試験(dulcitate, cellobiose, salicin)により行った。

### 4 血清型別試験

血清型別は市販抗血清(デンカ生研)を用いて，定法により決定した。

### 5 薬剤感受性試験

分離時期の異なる患児由来株 3 株，及び *S. Fluntern* が分離されたヒョウモントカゲモドキ

キ C, フトアゴヒゲトカゲ B の分離株を用いた。薬剤感受性試験は，市販の感受性ディスク(センシディスク, BD)を用い，アンピシリン(ABPC)，セファロチン(CET)，セフォタキシム(CTX)，イミペネム(IPM)，カナマイシン(KM)，ゲンタマイシン(GM)，テトラサイクリン(TC)，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)，スルファメトキサゾール・トリメトプリム(ST)，ナリジクス酸(NA)の 12 薬剤を用いて KB 法により測定した。

### 6 分子疫学的解析

患児由来株 3 株，ヒョウモントカゲモドキ C 及びフトアゴヒゲトカゲ B の分離株各 4 株，計 11 株の *S. Fluntern* を用いた。PFGE は 2003 九州ブロック統一迅速法マニュアルを一部改変して行った。制限酵素は *Xba* I および *Bln* I (各 30U/ブロック, Roche)を使用し，37°C で 16hr 消化した。泳動は CHEF DR III(Bio-Rad)で，6V/cm，パルス時間 2.2-63.8 秒，14°C，20 時間の条件で行った。泳動後，エチジウムブロマイドで染色した画像を，解析ソフト(FPQuest, Bio-Rad)を用い，トレランス 1.0%で解析した。

表 1 検体の種類別サルモネラ属菌分離状況

種類	飼育数	供試検体	検体数	陽性	
爬虫類	ヒョウモントカゲモドキ	便	6	4	
		尿酸	3	0	
		飼育水	3	0	
	コーンスネーク	便	5	3	
		脱皮殻	1	1	
	フトアゴヒゲトカゲ	便	2	2	
尿酸		1	0		
脱皮殻		1	0		
両生類	メキシコサラマンダー	2	飼育水	1	0
その他	ゲージ，ラック等		拭き取り	8	0

## 結果

### 1 生化学性状試験および血清型別試験

ヒョウモントカゲモドキの便並びにコーンスネークの便，脱皮殻から 7 種類のサルモネラ属料からサルモネラ属菌は検出されなかった。

菌が分離され，分離株はいずれもサルモネラ属菌の生化学性状と一致した。血清型別試験の結果，2 匹から *S. Fluntern* および *S. Muenchen* (O8(O6):d:1, 2)が，1 匹から *S. Beaudesert* (O6, 14:e,h:1,7)が同定されたが，他は血清型別不明であった。なお，尿酸，飼育水及び拭き取り材(表 2)。

## 2 薬剤感受性試験

検査を実施した薬剤すべてに感受性であった(表 3)。

## 3 分子疫学的解析

解析の結果, *Xba* I, *Bln* I 共にフトアゴヒゲトカゲ B と患児のバンドパターンは一致し, ヒョウモントカゲモドキ C も 1~2 バンド以内の違いであった(図 1)。

## 考察とまとめ

家庭で飼育されていたヒョウモントカゲモドキ及びフトアゴヒゲトカゲから分離された *S. Fluntern* は, 生化学性状および薬剤感受性に差がみられなかったこと, PFGE 法における解析結果がほぼ一致したことから, フトアゴヒゲトカゲ, ヒョウモントカゲモドキ共に患児との関連性が示唆され, 患児の感染源は爬虫類であると推測された。しかし, 当所に過去に分離され

た *S. Fluntern* の分離株及び標準株がないことから, PFGE が *S. Fluntern* の分子疫学的解析に有用か否かは慎重に判断する必要があると考えられた。

爬虫類における糞便中のサルモネラ保菌率は 50~90% と高いことが知られている<sup>5)6)7)8)</sup>。今回の調査では, 13 検体中 9 検体でサルモネラ属菌が分離された。一方, 飼育水や拭き取り材料から菌は分離されず, 家族からの聞き取りで頻繁に飼育水を交換していること, ゲージ内への紫外線照射やアルコール消毒を行っていることから, 菌が分離されなかった可能性が高いと考えられた。

なお, 爬虫類から分離されるサルモネラ属菌は様々な血清型が報告されており, 中には抗血清が市販されていない血清型もある。今回の事例でも複数の血清型のサルモネラ属菌が分離された爬虫類からは, 二種類の血清型不明のサルモネラ属菌が検出された。

表 2 陽性検体情報と検出状況

検体	Salmonella O 抗原	血清型
ヒョウモントカゲモドキ	A 便 O8(O6)群	<i>S. Muenchen</i> (O8(O6):d:1,2)
	B 便 O11 群	不明
	C 便 O18 群	<i>S. Fluntern</i> (O18:b:1,5)
コーンスネーク	A 便 O7 群	不明
	脱皮殻 O7 群	不明
	B 便 O8(O6)群	<i>S. Muenchen</i> (O8(O6):d:1,2)
フトアゴヒゲトカゲ	A 便 O6, 14 群	<i>S. Beaudesert</i> (O6,14:e,h:1,7)
	O18 群	<i>S. Fluntern</i> (O18:b:1,5)
	B 便 O 群不明	<i>Salmonella</i> II 群 (OUT:1,z13,z28:z6) 不明
患児	便 O18 群	<i>S. Fluntern</i> (O18:b:1,5)

表 3 *S. Fluntern* の分離状況と薬剤感受性

分離年月日	ABPC	CET	CTX	IPM	KM	GM	TC	NFLX	FOM	CP	ST	NA
ヒョウモントカゲモドキ C	2013.1.23	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
フトアゴヒゲトカゲ B	2013.1.23	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	2012.11.20	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
患児	2012.12.3	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	2013.12.13	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

S : Susceptible

また、分離された *S. Fluntern* は検査を実施した薬剤すべてに感受性であった。このことから、今回の事例において、抗菌薬を投与されていたにもかかわらず、患児から菌が分離され続けた要因として、爬虫類からの反復感染の可能性が考えられた。

爬虫類の多くはサルモネラ属菌を高率に保菌

しているが、耐性菌の出現が懸念されるために抗菌薬投与は推奨されておらず、爬虫類愛好家の感染リスクが懸念される。

今後は抗菌薬投与以外の、サルモネラ属菌の安全かつ効果的な除菌方法を検討していきたいと考える。

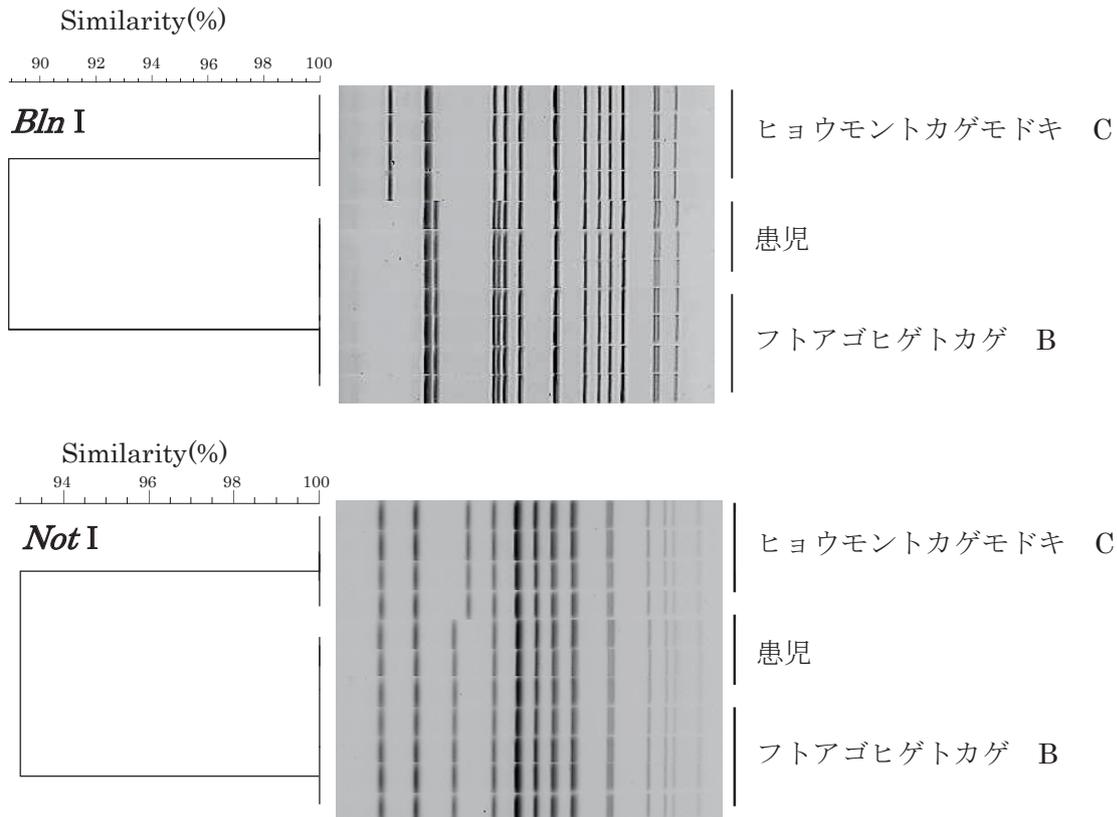


図 1. 患児および爬虫類から分離された *S. Fluntern* の PFGE パターン

### 謝辞

本調査にご協力いただいた宮崎市郡医師会臨床検査センター、永山小児科の皆様に深謝いたします。

### 参考文献

- 1) 山口県環境生活部生活衛生課：平成 23 年度動物由来感染症予防体制整備事業報告書
- 2) 財務省貿易統計：動物種別輸入状況，2011
- 3) 国立感染症研究所：病原体微生物情報，2005；26：342-345

- 4) 国立感染症研究所：病原体微生物情報，2006；27：71-72，203-204
- 5) 国立感染症研究所：病原体微生物情報，2009；30：212-213
- 6) 第 4 回人と動物の共通感染症研究会学術集会：4 野生並びに輸入爬虫類における *Salmonella* 保有状況
- 7) 亀山ら：山口県のペットショップで販売されている爬虫類のサルモネラ保有状況及び薬剤感受性；日獣会誌，2013；66：331-336
- 8) 瀬戸ら：カメを取り扱う動物取扱業施設におけるサルモネラ汚染実態調査；山形衛研所報，2010；8-13