

氏 名 (本 籍)	Sumalee BOONMAR (タイ王国)
学 位 の 種 類	博士 (獣医学)
学 位 記 番 号	獣医博乙第 28 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 11 年 3 月 15 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 題 目	Epidemiological Studies on the Significance of Broiler Chicken Meat as a Food Vehicle for Salmonellosis in Thailand
審 査 委 員	主査 東京農工大学 助教授 金 子 賢 一 副査 帯広畜産大学 教 授 品 川 森 一 副査 岩 手 大 学 教 授 品 川 邦 汎 副査 東京農工大学 教 授 本 多 英 一 副査 岐 阜 大 学 教 授 平 井 克 哉

論 文 の 内 容 の 要 旨

1979 年以降、鶏卵およびその加工品による *S. Enteritidis* 感染症が世界的に急増している。近年、タイ国においても *S. Enteritidis* 感染症が報告されているが、媒介食品として鶏卵以外に鶏肉が関与しているかどうかについては、まだ十分検討されていない。

そこで本論文では、タイ国におけるサルモネラ感染による下痢患者の臨床材料および各種食品由来サルモネラについて血清型別を行うとともに、鶏肉および養鶏場のブロイラー鶏におけるサルモネラの汚染状況を解析した。次いで、患者および鶏肉由来サルモネラについてディスク法による薬剤感受性、ファージ型別およびパルスフィールドゲル電気泳動による遺伝子解析を行い、*S. Enteritidis* 感染症との関連性を検討した。

第 1 章では、1993 年から 1996 年に、患者の臨床材料 18,722 検体 (糞便 16,122 検体、血液 2,172 検体およびその他の材料 428 検体)、食鳥処理場から採取された鶏肉 7,285 検体、ready-to-eat 食品 1,014 検体および加工工場から採取された生エビ 476 検体から分離されたサルモネラ 27,497 株について血清型別を行うとともに、小売店および食鳥処理場から採取された鶏肉 (100 および 200 検体) ならびに養鶏場のブロイラー鶏 (285 検体) におけるサルモネラの汚染状況を解析した。患者の臨床材料由来サルモネラは 72 血清型に型別され、特に、糞便から *S. Weltevreden*、*S. Derby* および *S. Enteritidis* が、血液などからは *S. Enteritidis* が最も多く型別された。一方、各種食品由来サルモネラは 81 血清型に型別され、特に、エビから *S. Weltevreden* が、ready-to-eat 食品から *S. Anatum* および *S. Derby* が、鶏肉から *S. Enteritidis* が最も多く型別された。小売店の鶏肉の 72%、食鳥処理場の鶏肉の 10% および養鶏場のブロイラー鶏の糞便の 6.6% がサルモネラ陽性を示し、これらのサルモネラは 22 血清型に型別され、なかでも *S. Enteritidis* が最も多く、小売店の鶏肉の 28%、食鳥処理場の鶏肉の 4.5% およびブロイラー鶏の糞便の 6.6% から検出された。これらのことから、ヒトの *S. Enteritidis* 感染症と鶏肉との関連性が示唆された。

第 2 章では、1993 年および 1994 年に得られた患者 1,308 検体および鶏肉 407 検体から分離された

サルモネラについて、抗菌・抗生剤10種（セフトリアキソン、アミカシン、カナマイシン、クロラムフェニコール、アンピシリン、スルファメトキサゾール、トリメトプリム、ナリジキ酸、ゲンタマイシンおよびオフロキサシン）に対する耐性を調べた。1994年に患者から分離された *S. Enteritidis*、*S. Derby*、*S. Weltevreden*、*S. 1,4,5,12:i:-*、*S. Anatum* および *S. Typhimurium* はセフトリアキソン、アミカシンおよびカナマイシンに対し耐性を示すものが多く、その耐性率は1993年に分離されたものより有意な上昇を示した ($P<0.01$)。同様に1994年に鶏肉から分離された *S. Enteritidis* のこれら3薬剤に対する耐性率も1993年に分離されたものより有意な上昇を示した ($P<0.01$)。これらのことから、タイ国において患者および鶏肉由来の *S. Enteritidis* の薬剤耐性率は、1994年に上昇を示したことが明らかにされた。

第3章では、1990年から1997年に患者および鶏肉・ブロイラー鶏から検出された *S. Enteritidis* (302株) について、ファージ型別およびパルスフィールド電気泳動を行った。ファージ型別により10種に型別され、両由来株共にファージ型4が最も多く、患者由来株の73.9%、鶏肉・ブロイラー鶏由来株の76.2%に認められた。その他、患者由来株ではファージ型1 (8%) およびファージ型8 (3.6%) が、鶏肉・ブロイラー鶏由来株ではファージ型7a (4.9%) およびファージ型1 (3.7%) が多く認められた。

S. Enteritidis (53株:10種のファージ型に属する) について *Bln* Iで消化し、パルスフィールドゲル電気泳動を行った結果、8種のファージ型に属する45株は同一のパターン（パターンA）を示した。これに対し残りの8株は泳動パターンが多少異なっていた（2, 3本のバンドが異なっている）。これらのことから、ヨーロッパ諸国および日本で優位にみられるファージ型4がタイ国でも優勢であること、さらに、患者および鶏肉・ブロイラー鶏から分離される *S. Enteritidis* は遺伝的にはほとんど同一であることから、鶏肉がヒトの感染症に関与している可能性が示唆された。

以上のことから、タイ国において *S. Enteritidis* はサルモネラ感染症の患者の臨床材料から検出される主要な血清型であること、鶏肉から最も多く検出される血清型であること、患者および鶏肉由来 *S. Enteritidis* の薬剤耐性率が1993年に比べ1994年に急上昇したこと、さらに患者および鶏肉・ブロイラー鶏由来 *S. Enteritidis* は遺伝的に同一であることが明らかにされた。したがって、*S. Enteritidis* 感染症における媒介食品として、汚染鶏卵ばかりでなく、汚染鶏肉も役割を担う可能性が示唆された。

審 査 結 果 の 要 旨

申請者はタイ国 National Institute of Health およびカセサート大学獣医学部に勤務しながら、サルモネラ感染症の研究に取り組み、以下のように鶏肉がサルモネラ感染症の媒介食品として重要であることを指摘し、サルモネラ感染症の予防対策を確立する上で重要な知見が得られた。

第1章では、1993年から1996年に、患者の臨床材料18,722検体（糞便16,122検体、血液2,172検体およびその他の材料428検体）、食鳥処理場から採取された鶏肉7,285検体、ready-to-eat食品1,014検体および加工工場から採取された生エビ476検体から分離されたサルモネラ27,497株について血清型別を行うとともに、小売店および食鳥処理場から採取された鶏肉（100および200検体）ならびに養鶏場のブロイラー鶏（285検体）におけるサルモネラの汚染状況を解析した。患者の臨床材料由来サルモネラは72

血清型に型別され、特に、糞便から *S. Weltevreden*、*S. Derby* および *S. Enteritidis* が、血液などからは *S. Enteritidis* が最も多く型別された。一方、各種食品由来サルモネラは 81 血清型に型別され、特に、エビから *S. Weltevreden* が、ready-to-eat 食品から *S. Anatum* および *S. Derby* が、鶏肉から *S. Enteritidis* が最も多く型別された。小売店の鶏肉の 72%、食鳥処理場の鶏肉の 10% および養鶏場のブロイラー鶏の糞便の 6.6% がサルモネラ陽性を示し、これらのサルモネラは 22 血清型に型別され、なかでも *S. Enteritidis* が最も多く、小売店の鶏肉の 28%、食鳥処理場の鶏肉の 4.5% およびブロイラー鶏の糞便の 6.6% から検出された。これらのことから、ヒトの *S. Enteritidis* 感染症と鶏肉との関連性が示唆された。

第 2 章では、1993 年および 1994 年に得られた患者 1,308 検体および鶏肉 407 検体から分離されたサルモネラについて、抗菌・抗生剤 10 種（セフトリアキソン、アミカシン、カナマイシン、クロラムフェニコール、アンピシリン、スルファメトキサゾール、トリメトプリム、ナリジキ酸、ゲンタマイシンおよびオフロキサシン）に対する耐性を調べた。1994 年に患者から分離された *S. Enteritidis*、*S. Derby*、*S. Weltevreden*、*S. 1,4,5,12:i:-*、*S. Anatum* および *S. Typhimurium* はセフトリアキソン、アミカシンおよびカナマイシンに対し耐性を示すものが多く、その耐性率は 1993 年に分離されたものより有意な上昇を示した ($P < 0.01$)。同様に 1994 年に鶏肉から分離された *S. Enteritidis* のこれら 3 薬剤に対する耐性率も 1993 年に分離されたものより有意な上昇を示した ($P < 0.01$)。これらのことから、タイ国において患者および鶏肉由来の *S. Enteritidis* の薬剤耐性率は、1994 年に上昇を示したことが明らかにされた。

第 3 章では、1990 年から 1997 年に患者および鶏肉・ブロイラー鶏から検出された *S. Enteritidis* (302 株) について、ファージ型別およびパルスフィールド電気泳動を行った。ファージ型別により 10 種に型別され、両由来株共にファージ型 4 が最も多く、患者由来株の 73.9%、鶏肉・ブロイラー鶏由来株の 76.2% に認められた。その他、患者由来株ではファージ型 1

(8%) およびファージ型 8 (3.6%) が、鶏肉・ブロイラー鶏由来株ではファージ型 7 a (4.9%) およびファージ型 1 (3.7%) が多く認められた。

S. Enteritidis (53 株：10 種のファージ型に属する) について *Bln I* で消化し、パルスフィールドゲル電気泳動を行った結果、8 種のファージ型に属する 45 株は同一のパターン（パターン A）を示した。これに対し残りの 8 株は泳動パターンが多少異なっていた（2, 3 本のバンドが異なっている）。これらのことから、ヨーロッパ諸国および日本で優位にみられるファージ型 4 がタイ国でも優勢であること、さらに、患者および鶏肉・ブロイラー鶏から分離される *S. Enteritidis* は遺伝的にはほとんど同一であることから、鶏肉がヒトの感染症に関与している可能性が示唆された。

以上のことから、タイ国において *S. Enteritidis* はサルモネラ感染症の患者の臨床材料から検出される主要な血清型であること、鶏肉から最も多く検出される血清型であること、患者および鶏肉由来 *S. Enteritidis* の薬剤耐性率が 1993 年に比べ 1994 年に急上昇したこと、さらに患者および鶏肉・ブロイラー鶏由来 *S. Enteritidis* は遺伝的に同一であることが明らかにされた。したがって、*S. Enteritidis* 感染症における媒介食品として、汚染鶏卵ばかりでなく、汚染鶏肉も役割を担う可能性が示唆された。

以上について、審査員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値あるものと認めた。

(基礎となる学術論文)

1. Epidemiological analysis of *Salmonella enteritidis* isolates from humans and broiler chickens in Thailand by phage typing and pulsed-field gel electrophoresis. J. Clin. Microbiol. 36:971-974 (1998)
2. Significant increase in antibiotic resistance of *Salmonella* isolates from human beings and chicken meat in Thailand. Vet. Microbiol. 62:73-80 (1998)
3. Predominant serovars of *Salmonella* in humans and foods from Thailand. J. Vet. Med. Sci. 60:877-880 (1998)
4. *Salmonella* in broiler chickens in Thailand with special reference to contamination of retail meat with *Salmonella* Enteritidis. J. Vet. Med. Sci. 60:1233-1236 (1998)

(既発表学術論文)

1. A cDNA fragment of hepatitis C virus isolated from an implicated donor of post-transfusion non-A, non-B hepatitis in Japan. Nucleic Acids Res. 17:10367-10372 (1989)
2. The putative nucleocapsid and envelope protein genes of hepatitis C virus determined by comparison of the nucleotide sequences of two isolates derived from an experimentally infected chimpanzee and healthy human carriers. J. Gen. Virol. 71:3027-3033 (1990)
3. Hepatitis C viral cDNA clones isolated from a healthy carrier donor implicated in post-transfusion non-A, non-B hepatitis. Gene 91:287-291 (1990)
4. Nucleotide sequence of core and envelope genes of the hepatitis C virus genome derived directly from human healthy carriers. Nucleic Acids Res. 18:4626 (1990)
5. Risk factors for hepatitis C virus infection among blood donors in an HIV-epidemic area in Thailand. J. Epidemiol. Communi. Hlth 50:174-177 (1996)