

宮城県内で分離されたヒト由来サルモネラの血清型 および薬剤感受性 (2005 ~ 2007)

Serovars and Drug Susceptibility of *Salmonella* strain Isolated from Human in Miyagi (2005 ~ 2007)

小林 妙子 高橋 恵美 谷津 壽郎
齋藤 紀行*¹

Taeko KOBAYASHI, Emi TAKAHASHI, Juro YATSU
Noriyuki SAITO

2005年から2007年までに、宮城県内で分離された散発下痢症由来サルモネラ148株および食中毒由来サルモネラ38株について血清型別および薬剤感受性試験を実施した。散発下痢症由来株の血清型は32種類に型別され、血清型別では *Salmonella* Enteritidis (以下 *S. E*) 22株 (14.9%), *S. Typhimurium* 19株 (12.8%), *S. Istanbul* 9株 (12.8%) で全体の約40%を占めた。薬剤感受性試験の結果、薬剤別ではテトラサイクリンの耐性率が高かった。散発下痢症由来株の耐性株は31株確認され、うち *S. Typhimurium* 6株中1株は3剤耐性を示した。感染性胃腸炎の治療に有効なホスホマイシンに対する耐性株が2株確認された。また分離した *S. E* のパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法による遺伝子解析の結果、2007年食中毒分離株と2005年、2006年散発下痢症由来株に同一パターンが認められた。

キーワード：サルモネラ；散発下痢症；血清型；薬剤感受性

Key words : *Salmonella* ; Sporadic Diarrhea ; Serovars ; Drug Susceptibility

1 はじめに

サルモネラは代表的な食中毒原因菌の一つである。2000年以降サルモネラ食中毒発生件数は減少傾向を示しているが、2006年の厚生労働省「食中毒統計」では患者数で第1位を占めている^{1), 2)}。ここ数年は大規模食中毒は減少しているものの、学校、福祉施設、病院等での発生が多くみられる。

宮城県では、2005年に介護老人保健施設のグリーンサラダによる *S. Montevideo* 食中毒³⁾ が、2007年には仕出し弁当が原因の *S. E* 食中毒が発生している。また近年、分離されるサルモネラの血清型が多様化傾向にあることや薬剤耐性菌の増加が社会問題となっている。特に欧米では多剤耐性を獲得した *Salmonella* Typhimurium ファージ型 DT104 による食中毒の発生が注目され、その予防対策が課題となっている⁴⁾。

そこで、県内で発生した散発下痢症患者の実態を把握するとともに疫学調査の資料とするため、宮城県医師会健康センターの協力を得て、サルモネラ分離株の血清型および薬剤感受性試験を実施した。さらに分離した *S. E* については遺伝子解析を行い関連性を検討した。

2 材料および方法

2.1 供試菌株

2005年5月から2007年3月までに、宮城県医師会健康センターより分与された散発下痢症由来サルモネラ148株 (2005年度61株, 2006年度41株, 2007年度46

株) および食中毒由来サルモネラ38株を供試菌株とした。また病原微生物検出情報によるサルモネラ検出状況で第一位を占める²⁾ *S. E* 27株についてパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) 法による解析を実施し遺伝子パターンを比較した。

2.2 血清型別試験

市販のサルモネラ診断用免疫血清 (デンカ生研) を用い、スライド凝集反応により O 抗原を、試験管凝集法により H 抗原を決定した。

2.3 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は、NCCLS法の規格⁵⁾ に準拠した一濃度ディスク法 (KB ディスク: 栄研化学) によって行った。使用薬剤は、アンピシリン (ABP), セフトラジウム (CAZ), セファロチン (CET), セフェピム (CFP), セフォキシチン (CFX), セフォタキシム (CTX), ホスホマイシン (FOM), イミペネム (IPM), カナマイシン (KM), ノルフロキサシン (NFX), テトラサイクリン (TC) の11薬剤について実施した。

2.4 PFGEによる遺伝子解析

HI ブイヨンで一夜培養し Ribot ら⁴⁾ の方法に準じてプラグを作成した。 *Bln I* および *Xba I* で 37°C, 2時間処理した。電気泳動は、1%アガロースゲルを用い泳動時間21時間で CHEF Mapper (BIO-RAD) を用いて行った。泳動後エチジウムブロマイドで染色しバンドパターンを比較した。

3 結果

3.1 分離株の血清型と分離株数

各年度のサルモネラ血清型および分離株数を表1-1,

* 1 現 東北生活文化大学

表1-2に示した。散発下痢症由来株148株のO群別分離株数は、O3, 10群7株, O4群45株, O7群37株, O8群33株, O9群25株, O13群1株であった。血清型は32種類に型別され、S. Enteritidis (22株, 14.9%) が最も多く、次いでS. Typhimurium (19株, 12.8%), S. Istanbul (19株, 12.8%) であった。S. London, S. Typhimurium, S. Saintpaul, S. Infantis, S. Virchow, S. Tompson, S. E の7血清型はいずれの年度にも分離されたが、その他は年度によって違いがみられた。

また既知の血清表にない血清型 (O4:d:-, O4:i:-, O7:e, h:-等) が7株分離された。食中毒2事例からは、2005年にS. Montevideo 28株, 2007年にS. E 8株が分離された。

3.2 分離株の薬剤感受性試験

散発下痢症由来株の血清型別による薬剤耐性パターンと耐性株数を表2-1に示した。

表 1-1 年度別散発下痢症由来株の血清型および分離株数

O抗原	血清型	分離株数 (%)	年度別		
			2005	2006	2007
O3, 10	London	5 (3.4)	3	1	1
	Zanzibar	1 (0.7)			1
	Welterveden	1 (0.7)			1
O4	Typhimurium	19 (12.8)	6	5	8
	Agona	6 (4.1)	3	3	
	Saintpaul	10 (6.8)	4	2	4
	Stanley	2 (1.4)		2	
	Heidelberg	2 (1.4)		1	1
	Schwarzengrund	1 (0.7)	1		
	Schleissheim	1 (0.7)			1
	UT	4 (2.7)	1	2	1
O7	Infantis	10 (6.8)	1	4	5
	Virchow	5 (3.4)	2	2	1
	Tompson	4 (2.7)	1	1	2
	Isangi	1 (0.7)		1	
	Braenderup	4 (2.7)	3		1
	Montevideo	5 (3.4)	3		2
	Postsdam	1 (0.7)	1		
	Bonn	1 (0.7)	1		
	Bareilly	4 (2.7)	1		3
	Livingstone	1 (0.7)			1
	UT	1 (0.7)	1		
	O8	Istanbul	19 (12.8)	12	
Pakistan		3 (2.0)	2	1	
Hindmarsh		2 (1.4)	2		
Korbol		1 (0.7)	1		
Chomedey		1 (0.7)	1		
Bardo		1 (0.7)		1	
Nagoya		1 (0.7)		1	
Hadar		4 (2.7)			4
UT		1 (0.7)		1	
O9		Enteritidis	22 (14.9)	11	9
	Goettingen	1 (0.7)		1	
	Gallinarm	1 (0.7)		1	
	UT	1 (0.7)		1	
O13	Poona/Farmsen	1 (0.7)		1	
計		148	61	41	46

分離した148株のうち、使用した11薬剤のいずれかに耐性を示したのは31株で、耐性率は20.9%であった。血清型別耐性率では、S. Istanbul 9株中7株(36.8%), S. Typhimurium 19株中6株(31.6%), S. Saintpaul 10株中3株(30.0%), S. Infantis 10株中3株(30.0%) などであった。耐性株31株のうち単剤耐性は22株(71.0%), 2剤耐性は8株(25.8%), 3剤耐性は1株(3.2%) で、薬剤耐性パターンは6種類認められ、S. Hadar, S. Isangi は分離された菌株すべてが耐性を示した。S. Agona 2株は感染性胃腸炎の治療に使用されるFOMに対する耐性であった。

食中毒由来株の薬剤耐性パターンと耐性株数を表2-2に示した。

2007年のS. E 8株のうち1株がFOM, CET, CAZ, CFX, KMの5剤耐性を示した。薬剤別の耐性率を表3に示した。使用した11薬剤のうちTCが18.9%と最も高い耐性率を示し、次いでABP (4.7%), KM (2.7%)

表 1-2 年度別食中毒由来株の血清型および分離株数

O抗原	血清型	分離株数	年度別		
			2005	2006	2007
O7	Montevideo	28	28		
O9	Enteritidis	8			8
計		36	28	0	8

表 2-1 散発下痢症由来分離株の薬剤耐性パターンと耐性株数

血清型	分離株数	耐性株 (%)	耐性パターン			耐性株数
			1剤	2剤	3剤	
Enteritidis	22	1 (4.5)	ABP			1
Typhimurium	19	6(31.6)	TC			4
				ABP,TC		1
					ABP,KM,TC	1
Istanbul	19	7(36.8)	TC			7
Saintpaul	10	3(30.0)	TC			3
Infantis	10	3(30.0)	TC			1
				KM,TC		2
Agona	6	2(33.3)	FOM			2
Hadar	4	4(100)	TC			4
Heidelberg	2	1(50.0)		ABP,TC		1
Isangi	1	1(100)		KM,TC		1
O4:i:-	3	3(100)		ABP,TC		3
計	96					31

表 2-2 食中毒由来分離株の薬剤耐性パターンと耐性株数

血清型	分離株数	耐性株 (%)	耐性パターン
			5剤
Montevideo	28	0	
Enteritidis	8	1(12.5)	FOM,CET,CAZ,CFX,KM

であった。3年間の耐性株の推移をみると、2005年に4株、2006年に9株が確認され2007年には28株確認された。

3.3 PFGE 解析結果

散発下痢症由来株および食中毒由来株の *S. E* 27 株について PFGE 解析を行い、*Bln I* によるバンドパターンを比較した。

分離した *S. E* の代表的泳動パターンを図1に示した。

2005年および2006年の散発下痢症由来4株(レーン4, 5, 6, 7)と2007年食中毒由来7株(レーン9~15)は同一パターンを示した。またバンドが1本違う類似したパターンを示した、2005年散発下痢症由来の2株(レーン1, 2), さらに2006年の2株(レーン3, 8)はそれぞれ同一パターンを示したが、その他はすべて異なるパターンであった。しかし、同一パターンを示した散発下痢症由来と食中毒由来の関係は不明である。

表3 散発下痢症由来株の各薬剤における耐性率

薬剤	耐性株数	年度別			耐性率 (%)
		2005	2006	2007	
ABP	7	1	3	3	4.7
CAZ	0				0
CET	0				0
CFP	0				0
CFX	0				0
CTX	0				0
FOM	2	1	1	0	1.4
IPM	0				0
KM	4	1	1	2	2.7
NFX	0				0
TC	28	1	4	23	18.2
計	41	4	9	28	

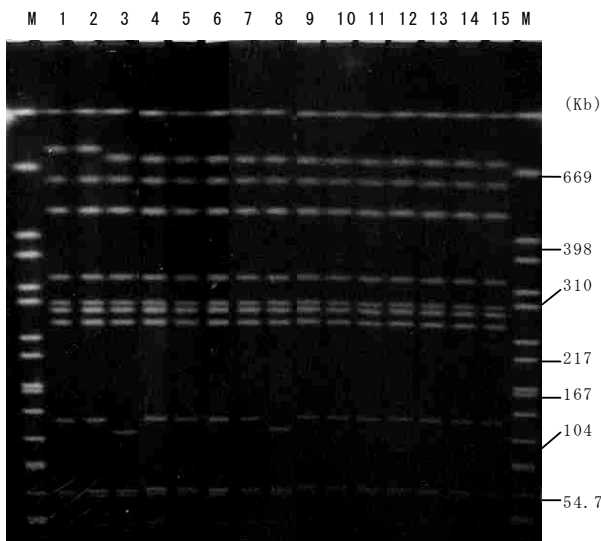


図1 *Salmonella Enteritidis* の PFGE パターン(*Bln I*処理)

レーン 1, 2: 散発下痢症由来株 (2005)
 レーン 3, 8: 散発下痢症由来株 (2006)
 レーン 4: 散発下痢症由来株 (2005)
 レーン 5, 6, 7: 散発下痢症由来株 (2006)
 レーン 9~15: 食中毒患者由来株 (2007)
 M: DNA マーカー Braendrup

4 考察

サルモネラの発生件数は減少傾向にあるが、7, 8月の夏季を中心に発生しており、食中毒事例では洋菓子など鶏卵を原因とする事例⁶⁾も多く、器具等を介した二次汚染による事例⁷⁾も依然として報告されている。

薬剤耐性パターンは血清型によって特徴的であり、竹田ら⁸⁾の報告等で60~76%の耐性を示している *S. E* は、今回の分離株では耐性率4.5%と低い値を示していた。感染性胃腸炎の治療に有効とされる FOM 耐性株は *S. Agona* 2株に認められたが、CTX 耐性株やニューキノロン系薬剤 NFX 耐性株は認められなかった。

また、多剤耐性株として注目されている *S. Typhimurium* ファージ型 DT104 (ABP, CP, SM, TC, Su の5剤耐性) について、さらに薬剤を追加確認する必要があると考えている。

同じ食中毒事例において1株のみが耐性を示し、その他の株はすべて感受性を示したことは興味深い。

近年、国内でも報告されている、*S. Typhimurium* の monophasic variant とされる *Salmonella* 04:i:-株が宮城県内でも3株分離された。この分離株はすべて ABP, TC に耐性であったことから、今後も血清型の分布や耐性菌の動向に注目したい^{9), 10)}。

サルモネラの薬剤耐性率は ABP に20~30%, FOM に10%未満、ニューキノロン系薬剤の耐性はほとんどみられないとされているが、2000年以降フルオロキノロン系耐性株の報告もあり注意する必要がある¹¹⁾。今回、感染性胃腸炎の治療に有効な FOM に耐性を示した株が2株認められたことから、さらに耐性遺伝子の解析やファージ型別について確認する必要があると考えている。

今後も検査機関と連携を取りながら、継続的に散発下痢症患者の実態を把握するとともに、食中毒予防対策に努めていきたい。

5 まとめ

- 1) 2005年5月から2007年3月までの散発下痢症患者から分離されたサルモネラは、*S. E*, *S. Typhimurium*, *S. Saintpaul*, *S. Infantis*が高率に分離された。*S. Infantis*の台頭は特徴的であった。
- 2) 2005年に *S. Montevideo* と2007年に *S. E* による食中毒事件があった。
- 3) 散発下痢症由来148株のうち、31株(20.9%)がいずれかの薬剤耐性を示し、血清型によってバラツキがあり薬剤耐性パターンも特徴的であった。
- 4) 薬剤耐性株数は年々増加傾向にあった。
- 5) *S. E* の PFGE 遺伝子解析では、2007年の食中毒由来株と2005年、2006年の散発下痢症由来4株が同一パターンを示した。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所, 厚生労働省食品安全部監視安全課:病原微生物検出情報「食中毒統計」, 27, 169 (2006)
- 2) 国立感染症研究所:病原微生物検出情報, 27, 191-192 (2006)
- 3) 渡邊節, 菅原直子, 小林妙子, 山田わか, 齋藤紀行, 谷津壽郎, 廣重憲生:保健環境センター年報, 24, 121-125 (2006)
- 4) Original Article:N Engl J Med, 341, 1420-5 (1999)
- 5) The National Committee for Clinical Laboratory Standards:Performance Standard for Antimicrobial Disk Susceptibility Test, Approved Standard 7th ed, 20(1), NCCLS, Wayne (2000)
- 6) 国立感染症研究所:病原微生物検出情報, 25, 79 (2004)
- 7) 国立感染症研究所:病原微生物検出情報, 24, 267 (2003)
- 8) 竹田義弘, 東久保靖, 小川博美:広島県保健環境センター研究報告, 10, 19-27 (2002)
- 9) 山田万希子, 原信行, 白木豊, 松川洋子, 野田伸司:岐阜県保健環境研究所報, 14, 23-28 (2006)
- 10) 国立感染症研究所:病原微生物検出情報, 24, 179-180 (2003)
- 11) 大阪府立公衆衛生研究所:病原微生物検出情報, 25, 99-100 (2004)