

サルモネラの生態に関する調査研究

(第4報) ヒト由来サルモネラの血清型と薬剤感受性

金子通治 中村美奈子

Studies on *Salmonella* in Yamanashi Prefecture

IV. Antimicrobial Agents Susceptibility of *Salmonella* Isolated from Human Sources

Michiharu Kaneko and Minako Nakamura

わが国のサルモネラ食中毒は、毎年食中毒病因物質のうち約10%を占め、約100件の割合で発生し、腸炎ビブリオ、ブドウ球菌食中毒に次いで第3位の座にある。また、乳幼児を中心とした散発性下痢症患者や海外渡航の下痢症患者からの分離報告例^{1~4)}も増えてきている。諸外国への渡航機会の増大、さらには輸入食品等の増加にともないサルモネラの輸入例も増え、サルモネラ汚染の機会が多くなってきている現況にある。それらを憂慮し、各所において由来別のサルモネラの分離報告^{5~7)}が多数なされている。それらによれば、*S. typhimurium*の分離例が最も多いが、それを含めた流行血清型のほかに従来みられなかった血清型も増え、多彩化しているといわれている。

山梨県においても、公衆衛生上の見地からサルモネラ感染症等を予防するための基礎的資料を得るため、由来別のサルモネラの血清型、薬剤感受性等を中心に検討しそれら結果を報告^{3,7,8)}してきた。

今回は、1984年4月から1987年3月までの3年間に分離した株および分与を受けた株について、とくに、ヒト由来株を中心にその血清型、薬剤感受性等を検討したので報告する。

材料および方法

1. 供試菌株

1984年4月から1987年3月までの3年間に当所で分離した126株および分与を受けた医療施設の散発性下痢症患者由来137株の計263株である。由来別には、ヒト由来190株、食品由来30株および河川水等環境由来43株である。当所で分離したヒト由来株の内訳は、この3年間で発生したサルモネラ食中毒由来株および県内の検査機関等から同定依頼を受けた株である。

2. サルモネラの分離同定法

前回の方法³⁾と同様に、増菌培地は検査材料によってセレナイト、SBGスルファ、セレナイトシスチンおよびEEMブイオン培地を用いた。分離培地にはSSB、DHLおよびMLCB培地を使用した。分離されたサルモネラおよび分与を受けたサルモネラは、常法に従って生化学的および市販抗血清を用いての血清学的性状検査を行なって同定した。

3. 薬剤感受性試験

すでに報告⁷⁾した方法と同様に、薬剤感受性測定用ブイオンおよび寒天培地を用いて、寒天平板希釈法によって最小発育阻止濃度(MIC)を測定した。使用薬剤はサルファ剤(SA)、ストレプトマイシン(SM)、ドキシサイクリン(DOXY)、クロラムフェニコール(CP)、カナマイシン(KM)、アミノペンシルペニシリン(ABPC)、セファロチン(CET)、セフォキシチン(CFX)、ラモキシセフ(LMOX)およびナリジキシン酸(NA)の10薬剤である。薬剤濃度はSA、ABPCについては3.1~3,200 $\mu\text{g/ml}$ 、SM、CP、KM、CET、CFXおよびNAは3.1~200 $\mu\text{g/ml}$ 、DOXYは1.6~200 $\mu\text{g/ml}$ 、LMOXは0.8~50 $\mu\text{g/ml}$ である。薬剤耐性菌と判定したMIC値は、SAは800 $\mu\text{g/ml}$ 以上でその他の9薬剤はすべて50 $\mu\text{g/ml}$ 以上とした。

4. 伝達性Rプラスミドの検出

既報⁷⁾と同様に、大腸菌にNA耐性を付与した*E. coli* 58-161 NA^rを受容菌として用い、37°C、18時間の混合培養法によった。

成 績

1. 由来別の血清型と分離頻度

表1に由来別の血清型と分離頻度を示した。計263株

表1 由来別の血清型分離頻度

O群	血清型	由来			計 (%)	
		ヒト	食品	環境		
02	<i>S. paratyphi</i> A	1			1(0.4)	
04	<i>S. typhimurium</i>	56	4	3	63(24.0)	
	<i>S. agona</i>	8	4	5	17(6.5)	
	<i>S. paratyphi</i> B	10			10(3.8)	
	<i>S. derby</i>	2	6	1	9(3.4)	
	<i>S. bredeney</i>	1		1	2(0.8)	
	<i>S. heidelberg</i>	1	1		2(0.8)	
	<i>S. chester</i>	1			1(0.4)	
	<i>S. saintpaul</i>	1			1(0.4)	
	<i>S. brandenburg</i>	1			1(0.4)	
	<i>S. schwarzengrund</i>	1			1(0.4)	
	b:-, <i>S. II</i> (<i>S. sofia</i>)		1		1(0.4)	
	07	<i>S. infantis</i>	9	10	8	27(10.3)
		<i>S. oranienburg</i>	13		1	14(5.3)
<i>S. tennessee</i>		2		9	11(4.1)	
<i>S. braenderup</i>		6	1		7(2.7)	
<i>S. virchow</i>		7			7(2.7)	
<i>S. thompson</i>		5		1	6(2.3)	
<i>S. bareilly</i>		3			3(1.1)	
<i>S. montevideo</i>		1			1(0.4)	
<i>S. ohio</i>				1	1(0.4)	
<i>S. mbandaka</i>				1	1(0.4)	
NT				1	1(0.4)	
08		<i>S. litchfield</i>	31	1	1	33(12.5)
	<i>S. newport</i>	2		3	5(1.9)	
	<i>S. bovis</i> morbificans	2			2(0.8)	
	<i>S. manhattan</i>	1			1(0.4)	
	<i>S. nagoya</i>			1	1(0.4)	
09	<i>S. typhi</i>	4			4(1.5)	
	<i>S. enteritidis</i>	10		1	11(4.1)	
03, 10	<i>S. muenster</i>		2		2(0.8)	
01, 3	<i>S. senftenberg</i>	1	1	1	3(1.1)	
	19 <i>S. krefeld</i>	1			1(0.4)	
0 13	<i>S. havana</i>	1		2	3(1.1)	
0 18	<i>S. cerro</i>	2			2(0.8)	
	NT	6	1		7(2.7)	
	計 (%)	190 (72.2)	32 (12.2)	41 (15.6)	263	

表2 *S. typhi* 4株の由来とファージ型

分離年月日	由来	性別	年齢	ファージ型
1984. 9. 18	糞便	女	71	D 2
1985. 2. 13	血液	女	12	M 1
1985. 9. 11	胆汁	男	86	D 2
1986. 12. 27	血液	男	29	E 1

のサルモネラはO群別では9群に分類され、34種の血清型に型別された。最多血清型は*S. typhimurium*であり、63株、24%と首位を占めた。主要血清型は*S. litchfield*、*S. infantis*が10%以上を占め、他に*S. agona*、*S. oranienburg*などであった。1984年4月からの3年間で発生したサルモネラ食中毒は7件であり、原因菌の血清型は*S. typhimurium* 2件と*S. infantis*、*S. litchfield*、*S. virchow*、*S. agona*および*S. enteritidis*が各々1件づつであった。

ヒト由来株のうち04群の*S. chester*、*S. saintpaul*および*S. brandenburg*また、02群の*S. paratyphi* Aは、県内において1969年以降の調査では由来の別にかかわらず初めて型別された血清型であった。これらの株はすべて散発性下痢症患者由来であり、潜在的にはまだ多くの新血清型株が存在すると思われる。また、*S. montevideo*は1975年の環境(下水)由来株として1度分離されたがそれ以降は全くなく、1986年に11年ぶりに分離された株で、ヒト由来としては初めての分離例であった。

*S. typhi*はこの3年間では表2のとおり4株分離されたが、すべて散発事例でしかも感染源は不明であった。ファージ型はD2 2株のほかE1、M1と3型に分類された。

2. 薬剤感受性

供試した263株すべてのMIC分布およびそのうちのヒト由来190株のそれを図に示した。たて軸は、その薬剤におけるMICの占める割合を%であらわしたものである。使用した10種類の薬剤のうち、LMOXは供試した263株すべてがMIC 0.8μg/ml以下であり、CFXは12.5μg/mlが2株(0.8%)、6.3μg/mlが2株(0.8%)のほか259株(98.5%)は3.1μg/ml以下であったので、両薬剤のMIC分布図は省略した。

SAのMIC分布をみると、200~400μg/mlにピークがあるが、これは環境由来の成績^{7,9)}の100μg/mlのピークと異なり1段階高い値であった。また、3,200μg/ml以上のMIC値を示した株も河川水由来株の40%⁷⁾に比し、半分の20%と減少し異なっていた。SAの感受性菌の占める割合は80.6%であった。SMに対しては約85%

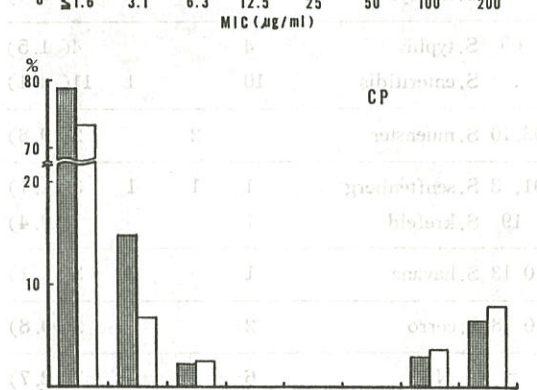
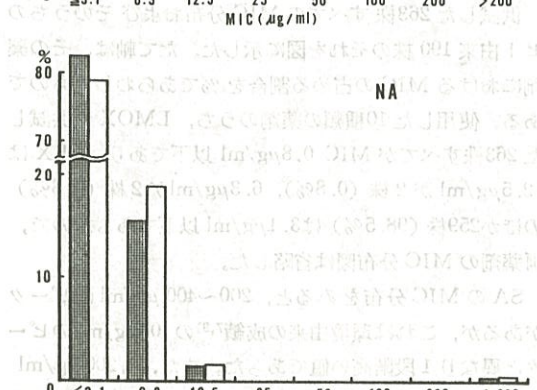
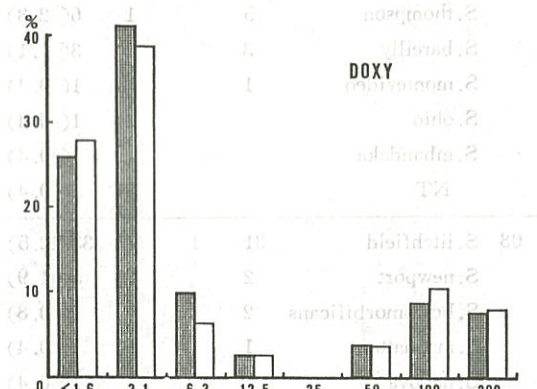
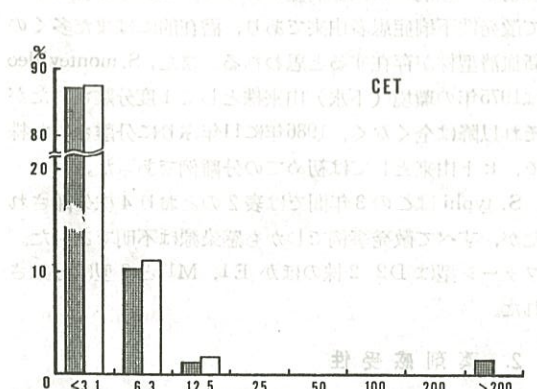
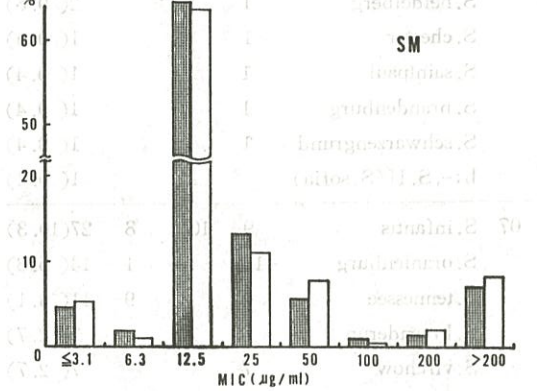
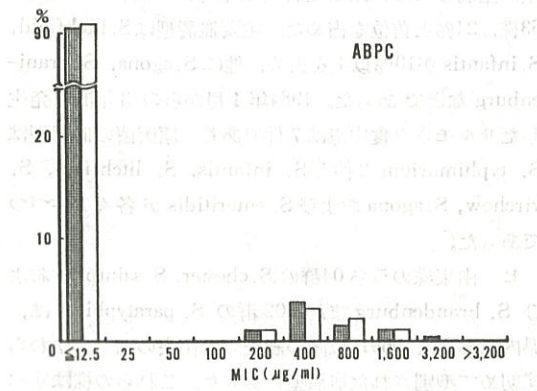
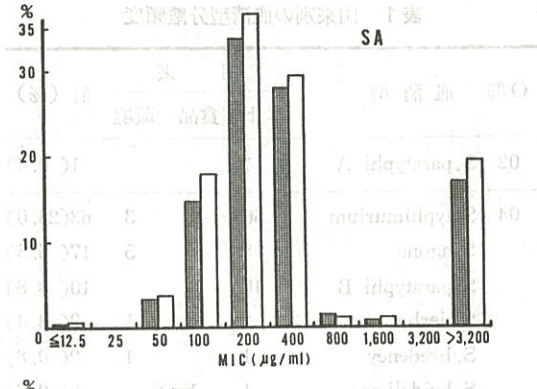
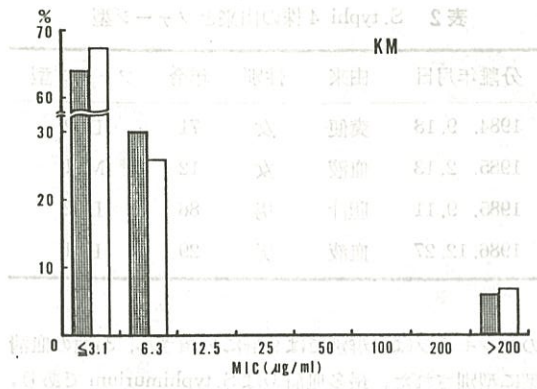


図 各種薬剤における MIC 分布 ■ 全 263 株 □ ヒト由来 190 株

表3 ヒト由来190株の各薬剤における耐性率

薬剤	耐性株数	耐性率
SA	41	21.6
SM	36	18.9
DOXY	46	24.2
CP	22	11.6
KM	13	6.8
ABPC	14	7.4
NA	1	0.5
CET	0	0
CFX	0	0
LMOX	0	0

表4 耐性型と由来別の株数

耐性型	由来 ヒト	環境 食品	計
SA	5	5	10
SA・SM	1	1	2
SA・SM・DOXY	9	1	10
SA・SM・DOXY・CP	12	1	13
SA・SM・DOXY・KM	1	1	2
SA・SM・DOXY・ABPC	3	3	6
SA・SM・DOXY・CP・KM・ABPC	10	1	11
SA・DOXY	1	1	2
SA・DOXY・ABPC	1	1	2
SA・KM	1	1	2
SA・ABPC・CET	1	1	2
DOXY	7	1	8
DOXY・KM	2	2	4
DOXY・NA	1	1	2
ABPC	1	1	2
ABPC・CET	3	3	6
計	53	6	59

が感受性菌で、そのうち65%が12.5 µg/mlに分布された。使用濃度3.1~200 µg/mlのすべてのMICに分布がみられたが、これは使用した10薬剤のうちこのSMに対してのみであった。MICの測定に従来使用してきたクロルテトラサイクリン(CTC)に代えて、臨床で使用頻度の高いDOXYを使用した。そのMIC分布は由来こそ異なるがCTCの場合⁷⁾とパターンはほとんど同じであった。CP, KMに対するMICの分布は、12.5 µg/ml以下の感受性域を占めた割合は、90.5%, 93.9%

と、河川水由来株⁷⁾との差は全くみられなかった。ABPCの場合も感受性菌の占める割合は90%以上とCP, KMと同様であったが、50 µg/ml以上の耐性域では200~3,200 µg/mlと広範に分布された。なかでも400 µg/mlのMIC値を示したのが10株、3.8%と最も多かった。セフェム系薬剤のCET, CFX, LMOXについてもMICの検討を行なった。その結果、CETは図にみられるように263株のうち4株、1.5%に耐性がみられたほかはすべて感受性を示し、ABPCとは大きく異なった。しかも、ヒト由来株ではすべての株が感受性を示しCFX, LMOXと同様に試験管内実験では非常に有効であることが認められた。NAにおいては263株中、ヒト由来の1株が200 µg/ml以上の耐性を示したほかはすべてが感受性であった。

3. 薬剤耐性型

263株のうちいずれかの薬剤に耐性であったのは66株、25.1%であった。河川水由来株の耐性菌分離頻度31.3%に比し、若干低い傾向にあった。薬剤ごとの耐性率は、高い順にDOXY 20.2%, SA 19.4%, SM 15.6%, CP 9.5%, ABPC 8.0%, KM 6.1%, CET 1.5% およびNA 0.4%であった。これをヒト由来190株のみについてみたのが表3で、ABPCを除いた各薬剤の耐性率は約1~4%ほど上昇しており若干高い傾向にあった。

耐性型と由来別の株数を表4に示した。耐性型は1~4剤および6剤耐性に分類され、16種にわたった。そのうち最も多かった耐性型はSA・SM・DOXY・CPで13株、19.7%で次いでSA・SM・DOXY・CP・KM・ABPC型が12株、18.2%、SA・SM・DOXY型10株、15.2%であった。DOXY 1剤耐性も8株、12.1%と比較的多くみられた。環境由来7株の耐性菌のうち、ABPC・CET型が3株、SA・ABPC・CET型が1株とABPC・CET耐性を示したが、ヒト由来株にはCET耐性株はなかった。

耐性株と血清型の関係を検討したが、その結果、SA・SM・DOXY・CP・KM・ABPCの6剤耐性型はヒト由来10株のうち9株までがS. typhimuriumで、残りの1株はS. agonaであった。食品由来の1株はS. infantis、環境(河川水)由来株はS. ohioとヒト由来の血清型とは異なった。SA・SM・DOXY・CPの4剤耐性型ではヒト由来12株のうち、S. typhimurium, S. litchfieldが5株ずつで、他の2株はS. thompson, S. paratyphi Bであった。食品由来株の血清型もS. typhimuriumであった。サルモネラに多いとされるSA・SM・DOXYの3剤耐性型ではヒト由来9株のうち、S. litchfieldが7株も占めた。これらの結果から、多剤耐性をもつサルモネラの血清型は、とくにヒト由来株の場合S. typhimu-

rium と *S. litchfield* であり、31株のうち両血清型で26株、83.9%も占め、耐性型と血清型に特徴がみられるという報告^{9,10)}と同様であった。

耐性株66株のRプラスミド保有状況を検討したところ49株が伝達性Rプラスミドを保有し、74.2%の保有率であった。伝達がみられなかった耐性型はDOXY, SAおよびABPC 1剤耐性型のほかABPC・CET耐性型であった。

考 察

ヒト由来株のサルモネラを中心に血清型と薬剤感受性について検討した。

S. typhimurium が依然として圧倒的に多く24%を占め、次いで*S. litchfield*, *S. infantis* も数多く分離され近年の流行血清型であった。また、*S. agona*, *S. oranienburg* さらに以前から多い*S. enteritidis* も比較的多く分離された。アメリカのヒトからの分離頻度¹¹⁾をみると、やはり、*S. typhimurium* が33.9%と首位を占め、*S. heidelberg*, *S. enteritidis* が次いでいた。

今まで山梨県では分離例のなかった*S. chester*, *S. saintpaul*, *S. brandenburg* および *S. paratyphi A* なども分離され、ますます多彩化する予想される。*S. typhi* は年令、性別を問わず3年間で散発的に4株分離されたがいずれも感染源は不明であった。

薬剤感受性試験の結果、供試した263株のうち耐性菌は66株、25.1%であったが、ヒト由来株のみについてみると、190株のうち53株が耐性菌で27.9%とわずかに高い傾向にあった。これは内村らの報告¹²⁾の32.7%より低い率であった。耐性株は多剤耐性型が多く、しかも*S. typhimurium*, *S. litchfield* に耐性株が多く、東京都の成績¹³⁾と一致している。また、環境(畜舎排水)由来であったが、ABPC・CET耐性株は伝達性Rプラスミドが検出されず、ビブリオ、大腸菌の場合のABPC・CET耐性^{14,15)}と同様に、その耐性機構も興味深く、今後追求したいと考える。

また、現在のMIC測定濃度の下限を3.1から0.4 μ g/mlまで下げ、さらに検討を加える予定である。

生化学的性状に異なりのある乳糖分解性の*S. paratyphi B* (SA・SM・DOXY・CP)も1株分離されたが、山崎¹⁶⁾、西尾¹⁷⁾の報告と同様に*lac*⁻株の分離があり、CP, DOXY耐性の脱落がみられた。Threlfall¹⁸⁾は*lac*⁺とCP, TC耐性は単一のプラスミドによると報

告しており、現在、伝達実験の追試を含め検討をつけたい。

稿を終るにあたり、分離菌株を送付して下さった医療機関、担当者の方々およびRプラスミド伝達実験に御協力をいただいた当所植松香星技師に感謝致します。

文 献

- 1) 高橋正樹, 伊藤 武, 斉藤香彦, 坂井千三: 東京衛研年報, **33**, 1~8 (1982)
- 2) 真子俊博, 村尾利光, 西本幸一: 福岡市衛試報, **9**, 64~66 (1984)
- 3) 金子通治: 山梨衛公研年報, **29**, 13~17 (1985)
- 4) 阿部久夫, 神田輝雄, 柳井慶明, 橋本 智, 小川良治, 宮田義人, 新保真澄, 原田七寛, 塚本定三, 木下喜雄, 有田美知子, 竹田美文, 三輪谷俊夫: 感染症誌, **55**, 679~690 (1981)
- 5) 野村 寛, 安形則雄, 森 正司, 本多忠善, 水野寿: 名古屋市衛研所報, **31**, 63~71 (1985)
- 6) 多田 博, 津田京子, 岩佐成明, 横山敬一, 矢野仁利: 徳保環七報, **3**, 1~7 (1985)
- 7) 金子通治: 日本公衛誌, **31**, 227~233 (1984)
- 8) 金子通治, 金丸佳郎, 春日徳彦: 山梨衛公研年報, **27**, 1~3 (1984)
- 9) 金子通治: 日本公衛誌, **32**, 602~608 (1985)
- 10) 市瀬正之, 天野祐次, 小野川 尊, 平石 浩, 寺山 武: 感染症誌, **57**, 946~955 (1983)
- 11) 病原微生物検出情報, **6** (3), 4 (1985)
- 12) 内村真佐子, 佐々木熙夫, 七山悠三: 千葉衛研報告, **1**, 33~35 (1978)
- 13) 東京都微生物検査情報, **7** (6), 1~8 (1986)
- 14) 金子通治, 岩下まさ子: 感染症誌, **61**, 9~16 (1987)
- 15) 中村美奈子, 金子通治: 山梨衛公研年報, **30**, 20~25 (1986)
- 16) 山崎茂一, 窪田弘文: メディアサークル, **27**, 333~342 (1982)
- 17) 西尾隆昌, 榊 美代子, 宮崎佳都夫, 海佐裕幸: メディアサークル, **31**, 485~493 (1986)
- 18) Threlfall, E. J., Hall, M. L. M., and Rowe, B.: FEMS Microbiol. Lett., **17**, 127~130 (1983)