

ノート

福井県内の下水流入水におけるサルモネラの血清型および薬剤感受性

宇都宮央子・石畝 史・中村 雅子・浅田 恒夫*¹・堀川 武夫Serovars and Drug Susceptibility of *Salmonella* isolated from sewage in Fukui Prefecture

Chikako UTSUNOMIYA, Fubito ISIGURO, Masako NAKAMURA, Tsuneo ASADA, Takeo HORIAKAWA

1 はじめに

サルモネラは動物や自然界に幅広く分布する細菌性食中毒の原因菌であり、国内では食中毒の事件数および患者数で常に上位を占めている。我々は、環境中におけるサルモネラの動向を探り、ヒトにおける流行状況を把握する目的で、下水の定点観測を実施している。

2 材料および方法

2.1 材料

福井県坂井郡三国町池見の九頭竜川浄化センター（以下、浄化センター）（処理対象人口は約12万人）およびその関連施設の竹田川ポンプ場（以下、ポンプ場）の2定点での下水流入水（以下、下水）。調査期間は1999年9月から2003年3月までで、各定点につき月1検体ずつ計77検体を検査した。

2.2 方法

2.2.1 分離方法

下水900mlをセレナイト・シスチン培地で増菌後（42℃18時間）、クロモアガーサルモネラ6枚に塗抹し、35℃20時間培養した。サルモネラと推定されるコロニーを1検体あたり約60個ずつTSIおよびLIM培地に接種し、サルモネラの性状を示した株について免疫血清「デンカ生研」を用いて、O抗原およびH抗原（第1相、第2相）を定法により調べ、血清型別を行った。

2.2.2 薬剤感受性試験

感受性試験用ディスク（センシディスク：BBL）を用いて444株についてKB法により行った。試験はアンピシリン（ABPC）、ストレプトマイシン（SM）、テトラサイクリン（TC）、シプロフロキサシン（CIP）、カナマイシン（KM）、セフトキサシム（CTX）、クロラムフェニコール（CP）、ST合剤（SXT）、トリメトプリム（TMP）、ゲンタマイシン（GM）、ナリジクス酸（NA）およびホスホマイシン（FOM）の12剤について行い、多剤耐性を示した株についてはスルフィソキサゾール（Su）を追加した。

2.2.3 ファージ型別

多剤耐性を示した*S. Typhimurium*のファージ型別は国立感染症研究所に依頼した。

3 結果および考察

3.1 血清

3.1.1 下水由来の血清型

サルモネラは浄化センター39検体およびポンプ場38検体の計77検体の下水すべてから検出され、合計1,486株について血清型別試験を行った。1検体あたり2～9種類、延べ52種類の血清型が検出された。血清型の年度別の検出数を表1に示した。

1999年9月～2003年3月までで最もよく検出した血清型は、*S. Enteritidis*（51/77検体：66.2%）で、以下*S. Agona*（37/77：48.1%）、*S. Mbandaka*（34/77：44.2%）、*S. Typhimurium*（20/77：26.0%）および*S. Saintpaul*（16/77：20.8%）の順となった。他県での下水におけるサルモネラの調査^{1)～4)}の結果と比較すると、ほぼ同じあるいは我々の調査結果の方が検出数は多かった。*S. Typhimurium*が、比較的高頻度で検出した点についても上記の報告と一致したが、今回の下水で最も多く検出した*S. Enteritidis*においては、^{1)～4)}の報告と結果は一致せず、むしろそれらの報告ではあまり検出されていない。

3.1.2 年度別における比較

年度別でみると、1999年度は年間を通して検査を実施しなかったため、2000年度から2002年度の3年間で比較すると、年間に検出される血清型の種類は2002年度では2001年より4種類増加した。今後の調査でも種類数の変化も注目すべき点である。2000年度および2001年度ではいずれも*S. Enteritidis*が多く検出されたが2002年度は*S. Mbandaka*が最も多く、次に*S. Agona*、*S. Enteritidis*の順で検出された。

3.1.3 2定点における比較

2定点における検出した血清型の内訳は表2に示したとおり、浄化センターでは45種類（延べ220種類）およびポ

*¹ 自然保護センター

表1 下水由来のサルモネラの血清型および年度別検出状況

血清型	1999*	2000	2001	2002	計	
<i>S. Agona</i>	1	13	11	12	37	48.1%
<i>S. Albany</i>		8	3		11	14.3%
<i>S. Anatum</i>		1		8	9	11.7%
<i>S. Bareilly</i>	1	4	2	1	8	10.4%
<i>S. Blockley</i>				1	1	1.3%
<i>S. Braenderup</i>				1	1	1.3%
<i>S. Brandenburg</i>	1	2		1	4	5.2%
<i>S. Bredeney</i>	1	1			2	2.6%
<i>S. Cerro</i>		2	3	1	6	7.8%
<i>S. Chester</i>	1	1	2		4	5.2%
<i>S. Corvallis</i>	1		1	5	7	9.1%
<i>S. Derby</i>	1				1	1.3%
<i>S. Enteritidis</i>	10	17	14	10	51	66.2%
<i>S. Escanaba</i>			1		1	1.3%
<i>S. Give</i>	1				1	1.3%
<i>S. Hadar</i>	3	1	9	2	15	19.5%
<i>S. Haifa</i>		4			4	5.2%
<i>S. Havana</i>		4	1	6	11	14.3%
<i>S. Heidelberg</i>			1		1	1.3%
<i>S. Hvitvingfoss</i>			1		1	1.3%
<i>S. Infantis</i>	1	4	3	6	14	18.2%
<i>S. Javiana</i>		1			1	1.3%
<i>S. Kentucky</i>				1	1	1.3%
<i>S. Kiambu</i>				1	1	1.3%
<i>S. Lexington</i>				1	1	1.3%
<i>S. Litchfield</i>	2		1		3	3.9%
<i>S. Livingstone</i>			2	1	3	3.9%
<i>S. Lockleaze</i>				2	2	2.6%
<i>S. Manhattan</i>	1				1	1.3%
<i>S. Mbandaka</i>	6	8	7	13	34	44.2%
<i>S. Montevideo</i>	1	8	2	4	15	19.5%
<i>S. Muenchen</i>	3	2	4	2	11	14.3%
<i>S. Muenster</i>				2	2	2.6%
<i>S. Narashino</i>			6	1	7	9.1%
<i>S. Newport</i>		2	1	2	5	6.5%
<i>S. Ohio</i>	1	2	4		7	9.1%
<i>S. Oranienburg</i>	7	4		1	12	15.6%
<i>S. Panama</i>				2	2	2.6%
<i>S. ParatyphiB</i>	1				1	1.3%
<i>S. Regent</i>			2		2	2.6%
<i>S. Saintpaul</i>		2	11	3	16	20.8%
<i>S. Schwarzengrund</i>	4				4	5.2%
<i>S. Senftenberg</i>	2		2	7	11	14.3%
<i>S. Stanley</i>	1	2		1	4	5.2%
<i>S. Stormont</i>			1		1	1.3%
<i>S. Tallahassee</i>		1			1	1.3%
<i>S. Tennessee</i>	1	6		1	8	10.4%
<i>S. Thompson</i>	1	3	3	2	9	11.7%
<i>S. Typhimurium</i>	2	10	8		20	26.0%
<i>S. Virchow</i>	3		1		5	6.5%
<i>S. Weltevreden</i>		4		1	5	6.5%
<i>S. Worthington</i>	4	2			6	7.8%
計	62	119	107	103	391	
血清型の種類	27	28	28	32		

*1999年度は、1999.9月～2000.3月までの結果を示した。

表2 2地点におけるサルモネラの血清型

	浄化センター	ポンプ場
血清型の種類	45	38
(延べ数)	220	171

表3 下水およびヒト(全国)由来株においてともに高頻度に検出される血清型(上位10位まで)

順位	2000		2001		2002	
	下水	ヒト(全国)	下水	ヒト(全国)	下水	ヒト(全国)
1	<i>S. Enteritidis</i>	<i>S. Enteritidis</i>	<i>S. Enteritidis</i>	<i>S. Enteritidis</i>	<i>S. Agona</i>	<i>S. Enteritidis</i>
2	<i>S. Agona</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>S. Thompson</i>	<i>S. Mbandaka</i>	<i>S. Newport</i>
3	<i>S. Montevideo, S. Oranienburg</i>	<i>S. Infantis</i>	<i>S. Agona</i>	<i>S. Typhimurium</i>	<i>S. Enteritidis</i>	<i>S. Infantis</i>
4	—	<i>S. Nagoya</i>	<i>S. Saintpaul</i>	<i>S. Infantis</i>	<i>S. Senftenberg, S. Saintpaul</i>	<i>S. Thompson</i>
5	<i>S. Tennessee</i>	<i>S. Thompson</i>	<i>S. Hadar, S. Mbandaka</i>	<i>S. Saintpaul</i>	—	<i>S. Typhimurium</i>
6	<i>S. Albany, S. Mbandaka</i>	<i>S. Virchow</i>	—	<i>S. Braenderup</i>	<i>S. Montevideo, S. Infantis, S. Hadar</i>	<i>S. Saintpaul</i>
7	—	<i>S. Saintpaul</i>	—	<i>S. Tennessee</i>	—	<i>S. Agona</i>
8	<i>S. Typhimurium, S. Infantis, S. Muenchen</i>	<i>S. Oranienburg</i>	<i>S. Thompson</i>	<i>S. Hadar</i>	—	<i>S. Montevideo</i>
9	—	<i>S. Montevideo</i>	<i>S. Montevideo, S. Bareilly, S. Senftenberg</i>	<i>S. Agona</i>	<i>S. Corvallis</i>	<i>S. Hadar</i>
10	<i>S. Bareilly</i>	<i>S. Agona</i>	—	<i>S. Corvallis</i>	<i>S. Typhimurium, S. Newport</i>	<i>S. Bareilly</i>

・ヒト由来株の成績は、国立感染症研究所感染症情報センター病原微生物情報⁵⁾より抜粋 ・下線は重複して検出された血清型

ンプ場では38種類(延べ171種類)検出され、浄化センターの方がポンプ場よりも検出された血清型の種類が多かった。差がみられたのは、ポンプ場へ流入する流域の面積が小さくまた人口が少ないことが原因と考えられる。

3. 1. 4 ヒト(全国)との比較

2000年～2002年において、下水由来株と全国のヒト由来株(国立感染症研究所感染症情報センター病原微生物情報より抜粋⁵⁾)の検出頻度の上位10位までを比較したものを表3に示した。ヒト由来の結果が年別であるため、下水の結果についてもここでは年別で比較した。2000年は6種類、2001年は7種類および2002年は8種類の血清型が重複した(下線を引いた血清型)。検出頻度の高い血清型の種類が重複する傾向がみられることから、下水の定点観測はヒトにおける流行状況を把握する上で有効な指標となり得ると考えられる。

3. 1. 5 家畜由来(全国)との比較

表4は、下水由来株と秋庭らの家畜由来でのサルモネラの血清型(検出頻度の上位10位まで)の報告⁶⁾とを比較したものである。*S. Enteritidis*など7種類の血清型が重複した。下水の結果と比較すると、*S. Enteritidis*、*S. Agona*、*S. Mbandaka*、*S. Typhimurium*、*S. Hadar*および

表4 下水および家畜(全国)由来株においてともに高頻度に検出される血清型(検出頻度上位10位まで)

下水由来		家畜由来		畜種		
順位	血清型	順位	血清型	牛	豚	鶏
1	<i>S. Enteritidis</i>	1	<i>S. Typhimurium</i>	○	○	○
2	<i>S. Agona</i>	2	<i>S. Dublin</i>	○	○	○
3	<i>S. Mbandaka</i>	3	<i>S. Enteritidis</i>	○		
4	<i>S. Typhimurium</i>	4	<i>S. Agona</i>	○		○
5	<i>S. Saintpaul</i>	5	<i>S. Hadar</i>	○	○	○
6	<i>S. Montevideo</i>	6	<i>S. Infantis</i>	○		○
	<i>S. Hadar</i>	7	<i>S. Cholerasuis</i>		○	
8	<i>S. Infantis</i>	8	<i>S. Mbandaka</i>	○	○	○
9	<i>S. Oranienburg</i>	9	<i>S. Sofia</i>			○
10	<i>S. Havana</i>	10	<i>S. Havana</i>			○
	<i>S. Albany</i>					
	<i>S. Muenchen</i>					
	<i>S. Senftenberg</i>					

*家畜由来株の成績は1996年秋庭らの家畜衛生試験報告⁶⁾より抜粋
・下線は重複して検出された血清型

S. Infantisは家畜においても高頻度に検出される血清型であり、今回下水からも高頻度で検出された。同様秋庭らの家畜由来株の報告⁶⁾で、検出頻度11位から29位までの結果も含んで下水由来と比較すると、さらに17種類の血清型が重複した。また小野らの報告⁷⁾によれば、S. Infantisは食鳥処理場、鶏肉卸店、鶏肉小売店などからまた、平塚らの報告⁸⁾によれば、S. Derby、S. Typhimurium、S. AgonaおよびS. Infantisが豚糞便および養豚場においても高頻度で検出されている。今回の下水の流入域には牛、豚および鶏などの飼育施設が多い。これらのことから下水の処理形態は分流式ではあるが、家畜を飼育している施設からの汚染された廃水の流入が、下水から菌が検出される一因として考えられる。

表5 1剤以上に耐性を示した下水由来株の血清型およびその耐性率

血清型	分離株	耐性株(1剤以上)	耐性率(%)
S. Hadar	15	14	93.3
S. Corvallis	9	8	88.9
S. Typhimurium	31	26	83.9
S. Albany	10	8	80.0
S. Enteritidis	87	64	73.6
.	.	.	.
.	.	.	.
.	.	.	.
計	444	197	44.4

表6 3剤以上に耐性を示した下水由来株の血清型およびその耐性率

血清型	分離株	耐性株	耐性率(%)
S. Typhimurium	31	22	71.0
S. Hadar	15	7	46.7
S. Muenchen	11	4	36.4
S. Corvallis	9	2	22.2
S. Infantis	14	1	7.1
S. Enteritidis	87	1	1.1
S. Virchow	5	1	20.0
S. Oranienburg	12	1	8.3
S. Stormont	1	1	100.0
S. Blockley	1	1	100.0

表7 S. Typhimurium の薬剤耐性パターン

薬剤耐性パターン	株数	ファージ型別:(菌株数)
ABPC・SM・TC・CP・Su	14	45.2% 104(2)、104B(5)、104L(3)、U302(4)
ABPC・SM・TC・CP	1	3.2% NT ^{*1}
ABPC・SM・TC・CP・KM	3	9.7% not ^{*2} (1)、NT(2)
ABPC・SM・TC・CP・KM・NA・Su	1	3.2% not(1)
ABPC・SM・TC・CP・NA(I) ^{*3} ・Su	3	9.7% 104B(2)、NT(1)
NA	1	3.2% NT
SM(I)	1	3.2% NT
TC	2	6.5% NT
感受性	5	16.1% NT
計	31	100.0%

・中村らの北陸公衆衛生学会誌(第29巻第1号)の報告⁹⁾より抜粋

^{*1} 試験せず ^{*2} DT104、DT104B、DT104LおよびU302以外 ^{*3} 耐性と感受性の中間

3. 1. 5 薬剤感受性試験およびファージ型別

下水由来株444株についてKB法を用いて薬剤感受性試験を行った。薬剤耐性パターンは34パターンに分かれ(耐性と感受性の中間のパターンでは別パターンとみなした)、197株がいずれかの薬剤に耐性を示した(耐性率44.7%)。最も多くみられた薬剤耐性パターンはSM単剤(93株/444株:耐性と感受性の中間も含む)で、20.9%を占め、そのうち、58株がS. Enteritidisであった。

表5では分離株が2株以上の血清型において、耐性率が高い血清型(上位5位まで)を示した。表6は3剤以上に耐性を示した10種類の血清型および耐性パターンを示した。S. Typhimuriumは31株中22株(71.0%)が3剤以上に耐性を示し、そのうちABPC・SM・TC・CP・Suの薬剤耐性パターンが45.2%を占めた(表7)。

ファージ型別の結果、16株がDT104関連株(DT104が2株、DT104B株が7株、DT104Lが3株およびU302が4株)であった。その薬剤耐性パターンはABPC・SM・TC・CP・SuかABPC・SM・TC・CP・Su・Na(I)((I)は耐性と感受性の中間を示す)であった。中村らの報告⁹⁾によれば、DT関連株はいずれも病原性プラスミドと推測される約90 kbpのプラスミドを保持しており、また近縁度の高いPFGEパターンを示している。一方、S. Enteritidisは66.6%がSM単剤耐性を示した(表8)。下水由来株での薬剤感受性試験の報告は他に確認できなかったため、大沼らの河川水由来の報告¹⁰⁾と比較すると、SM単剤耐性はS. Enteritidisで最も多く分離されており、同じ傾向がみられた。

表8 S. Enteritidisの薬剤耐性パターン

薬剤耐性パターン	株数
ABPC	1
ABPC・SM・TC・CP	1
NA	3
SM	55
SM(I) [*]	3
SM・ABPC(I)	1
感受性	23
計	87
	100.0%

*耐性と感受性の中間

2002年度からは福井県内の8医療機関からサルモネラ菌株を分与いただき、下水調査同様に血清型および薬剤感受性試験を行っている。2002年4月から2003年3月までに71株分与していただいたが、そのうち55株(77.5%)がS. Enteritidisであり、55株中26株(47.3%)がSM単剤耐性株であった。ヒト由来においてはまだ十分な調査ができていないが、上記のデータだけで下水由来株とヒト由来株とを比較すると、S. Enteritidisの薬剤耐性パターンの傾向が一致した。三輪らの全国の食肉衛生検査機関で分離された鶏由来のサルモネラ287株についての薬剤感受性試験の報告¹¹⁾では、SM(耐性率64.7%)、KM(46.7%)およびオキシテトラサイクリン(OTC)(63.4%)に耐性を示す株が多いという結果である。我々は今回、OTCに対しての感受性試験を行っていないためわからないが、SMにおいては同様の結果が得られた。しかしKMについて結果は一致しなかった。今後、さらに下水およびヒトにおいてデータを蓄積し、汚染源の把握に結びつけていきたい。またプラスミドプロファイルおよびパルスフィールド電気泳動(PFGE)などの遺伝子レベルの解析もあわせて導入していきたい。

参 考 文 献

- 1) 齊藤志保子他：サルモネラ菌の生活環境汚染実態に関する調査研究(第6報)，秋田県衛生科学研究所報，25. 63-66 (1981)
- 2) 宮崎佳都夫他：Salmonellaの生態学的研究：都市水系環境と散発患者からの分離菌株の血清型の比較，広島県衛生研究所報告，29. 1-15 (1982)
- 3) 山脇徳美他：環境からのサルモネラ菌分離成績について，秋田県衛生化学研究所報，30. 57-61 (1986)
- 4) 須藤正英他：下水およびイヌ糞便からの腸管系病原微生物の検出，山形県衛研所報，35. 97 (2002)
- 5) 国立感染症研究所：サルモネラ症，感染症情報センター病原微生物情報
- 6) 秋庭正人他：家畜由来サルモネラの血清型，家畜衛試研究報告，102・103. 43-48 (1996)
- 7) 小野一見他：鶏肉のサルモネラ汚染調査および分離菌株の薬剤感受性，日獣会誌，55. 305-307 (2002)
- 8) 平塚正一郎他：健康な繁殖母豚のサルモネラ保菌状況とその血清型，日獣会誌，53. 533-536 (2000)
- 9) 中村雅子他：下水から分離されたSalmonella Typhimurium DT104の分子疫学的検討，北陸公衆衛生学会誌，29. 1. 17-21 (2002)
- 10) 大沼正人他：山梨県内河川水から分離したサルモネラの細菌学的検討(1998-2001)，山梨衛公研年報，44. 25-29 (2000)
- 11) 三輪憲永他：食肉等から分離された腸管出血性大腸菌O157およびサルモネラの薬剤耐性，獣医畜産新報，54. 9. 749-751 (2001)