

## 福井県におけるサルモネラ動向調査結果 (2007年度)

山崎史子・石畝史・村岡道夫\*<sup>1</sup>・浅田恒夫*Salmonella* research on the trend result in Fukui prefecture (2007)Fumiko YAMAZAKI, Fubito ISHIGURO,  
Michio MURAOKA\*<sup>1</sup>, Tsuneo ASADA

2007年4月から2008年3月に県内の医療機関で分離されたサルモネラおよび下水流入水由来株について血清型別試験、薬剤感受性試験を実施した。血清型別ではヒト由来株は *Salmonella* Enteritidis (82.1%) が多数を占めた。下水由来株では、*S. Enteritidis*、*S. Mbandaka* および *S. Saintpaul* の検出率が高かった。薬剤感受性試験では、いずれかの薬剤に耐性を示した株は、ヒト由来株では39株中34株(89.5%)、下水由来株では116株中72株(62.1%)であった。耐性率が最も高かった薬剤はストレプトマイシン(SM)で前者では76.3%、後者では24.7%が耐性であった。ヒト由来 *S. Enteritidis* の32株についてパルスフィールド・ゲル電気泳動したところ、多様なパターンが確認された。

## 1. はじめに

サルモネラは、発熱・下痢・腹痛を主症状とする急性胃腸炎の原因菌であり、また、ヒトや動物の腸管に生息し、食品、河川水、下水および土壌などの自然界に広く分布する細菌性食中毒の代表的原因菌である。サルモネラの患者数は近年減少傾向にあるが、細菌性食中毒の中では、2007年において事件数はカンピロバクターに次いで第2位、患者数は第1位となっている<sup>1)</sup>。

我々は2002年以降、県内の5つの医療機関の協力により散発下痢症患者(以下、ヒト)由来サルモネラを収集し、県内におけるサルモネラの動向調査を実施している。本稿では2007年度に県内のヒトおよび下水流入水から分離されたサルモネラについて、血清型、薬剤感受性およびパルスフィールド・ゲル電気泳動(以下、PFGE)の各種性状を比較検討したので報告する。

## 2. 材料および方法

## 2. 1 供試株

2007年4月から2008年3月に県内の5医療機関から分与されたサルモネラ39株および福井県福井市の下水処理施設および坂井市の下水処理施設から採取した下水流入水、月に各1検体、合計24検体から分離された723株、合計762株を対象とした。

## 2. 2 方法

## 2. 2. 1 血清型別

サルモネラ診断用免疫血清「デンカ生研」を用いて、O抗原およびH抗原(第I相、第II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

薬剤感受性試験は161株(ヒト由来39株および下水由来123株)についてセンシディスク(BBL)を用いてKB法により行った。使用した薬剤は、アンピシリン(ABPC)、SM、テトラサイクリン(TC)、シプロフロキサシン(CPFX)、カナマイシン(KM)、セフトキシム(CTX)、クロラムフェニコール(CP)、ST合剤(SXT)、スルフィソキサゾール(Su)、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剤とした。

## 2. 2. 3 PFGE

PFGEはヒト由来株のうち *S. Enteritidis* および *S. Typhimurium* について国立感染症研究所の方法<sup>2)</sup>に基づき実施した。すなわち、使用した菌株のDNAを制限酵素 *Xba* I および *Bln* I で切断後、パルスフィールド・ゲル電気泳動装置(BIO-RAD社 CHEF Mapper)を用い、1%(w/v)アガロースゲル(BIO-RAD社)により、電圧6.0V/cm、パルスタイム5~50秒、バッファー温度12°C、泳動時間19時間の条件で行った。電気泳動後、エチジウム・ブロマイド染色し、紫外線照射下で観察した。さらに、得られたDNA切断パターンを画像解析ソフト(Fingerprinting II、BIO-RAD)を用いて、UPGMA(unweighted pair group method with averages)法により菌株間の相似性を比較解析した。

## 2. 2. 4 ファージ型別

多剤耐性を示した下水由来 *S. Typhimurium* の2株はファージ型別を国立感染症研究所に依頼した。

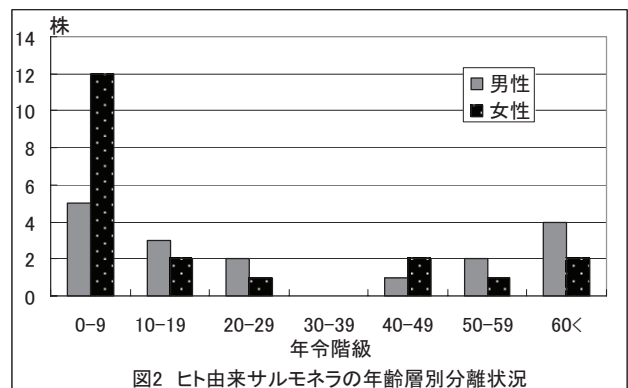
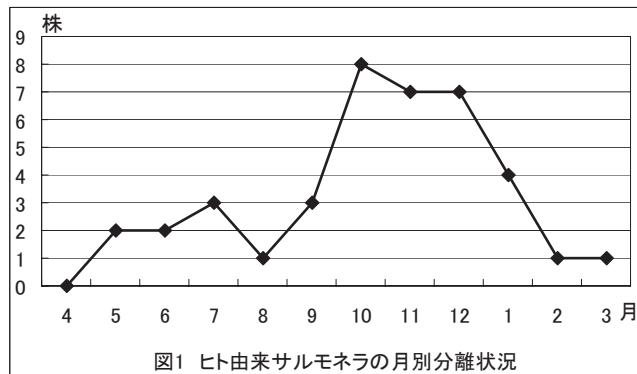
## 3. 結果

## 3. 1 血清型

## 3. 1. 1 ヒト由来株

県内の5医療機関から分与された39株の内訳は *S. Enteritidis* が32株(82.1%)、*S. Typhimurium*、*S. Thompson* および *S. Mbandaka* が各2株(5.1%)、*S. Infantis* が1株(2.6%)であった。

\*1) 元福井県衛生環境研究センター



分離月別では 22 株 (56.4%) が 10~12 月に分離されたが、7 月~9 月にも 6 株 (15.4%) 分離されていた (図 1)。また、17 株 (43.6%) は 0~9 才の患者から分離され、このうち 12/17 株 (30.8%) は女性患者由来であった (図 2)。男性患者は 18 名、女性患者は 21 名であった。

### 3. 1. 2 下水由来株

下水流入水 24 検体から 723 株のサルモネラを分離し、うち 325 株の血清型を実施した。血清型の種類数は福井市が 25 種類および坂井市が 24 種類で、全体では 35 種類であった。検出率の高い血清型は *S. Enteritidis* (91.6%)、*S. Mbandaka* (45.8%) および *S. Saintpaul* (41.7%) であった。他に福井市では *S. Schwarzengrund* (20.8%) および *S. Thompson* (16.7%)、坂井市では *S. Newport* (20.8%) の検出率が高かった。

### 3. 2 薬剤感受性

#### 3. 2. 1 ヒト由来株の薬剤感受性試験

いずれかの薬剤に耐性あるいは中間の感受性を示した

株は供試した 39 株中 35 株 (89.7%) であった。*S. Enteritidis* は 32 株中 29 株 (93.5%) がいずれかの薬剤に耐性 (中間の感受性を示した株を含む) を示す株で、SM のみに耐性を示した株は 24 株であった。薬剤別の耐性率は SM には 29 株 (76.3%)、TC には 10 株 (26.3%)、NA には 2 株 (5.7%) であった (表 1)。

#### 3. 2. 2 下水由来株の薬剤感受性試験

供試した 123 株のうち、いずれかの薬剤に耐性を示した株は 73 株 (59.3%) で、供試株数が最も多かった *S. Enteritidis* は、21 株中 19 株 (90.5%) がいずれかの薬剤に耐性を示した。薬剤耐性パターンは SM 単剤に耐性あるいは中間の感受性が供試株の半数以上を占めた (表 2)。分離株が 5 株以上で耐性率が高かった血清型は *S. Enteritidis*、*S. Schwarzengrund* および *S. Newport* などであった (表 2)。また例年、耐性率が高く多剤耐性を示す株が確認される *S. Typhimurium* は、供試した 4 株中 2 株が 6~7 剤に耐性を示し、そのパターンは ABPC、

表1 下水由来株およびヒト由来株の薬剤別の耐性率

	試験株数	耐性株数	耐性率 (%)	薬剤別の耐性率 (%)											
				ABPC	SM	TC	CPFX	KM	CTX	CP	SXT	Su	GM	NA	FOM
坂井市	62	40	64.5	6.5	27.4	41.9	0	8.1	0	6.5	4.8	9.7	0	9.7	0
福井市	61	33	54.1	0	29.5	27.9	0	1.6	0	1.6	3.3	14.8	0	9.8	1.6
下水株計	123	73	59.3	3.3	28.5	35	0	4.9	0	4.1	4.1	12.2	0	9.8	0.8
ヒト	39	34	87.2	0	74.4	25.6	0	0	0	0	0	0	0	5.1	0
合計	162	107	66.0	2.5	39.5	32.7	0	3.7	0	3.1	3.1	9.3	0	8.6	0.9

表2 分離株数が5株以上で耐性率が高かった血清型

	供試株数	耐性株数	耐性率 (%)	耐性パターン
<i>S. Enteritidis</i>	21	19	90.1	SM*③/SM⑧/SM,TC*④/NA*,Su*①/ABPC*,SM,NA,TC*,CPFX*①
<i>S. Schwarzengrund</i>	7	6	85.7	TC①/TC,NA*①/KM,SM,TC,Su,SXT③
<i>S. Newport</i>	8	4	50	SM*①/TC*②/TC,NA①
<i>S. Mbandaka</i>	11	5	45.5	TC*③/SM*,TC*①/SM,TC*①
<i>S. Thompson</i>	7	3	42.9	SM,TC*①/TC*,Su*①/TC*,Su*,NA①/TC,Su,NA,SM*①
<i>S. Saintpaul</i>	9	3	33.3	TC*②/SM,TC*①

\*: 中間の感受性 ○の数字は株数

CP、SM、Su、KM、NA および ABPC、CP、SM、Su、TC(I)、KM、NA であった。この他に 5 剤以上に耐性を示した血清型は *S. Albany*、*S. Schwarzengrund*、*S. Enteritidis* および *S. Dusseldorf* であった。このうち *S. Dusseldorf* は FOM に耐性を示し、*S. Enteritidis* は CPFX に中間の感受性を示した。薬剤別の耐性率は TC が 43 株 (35.0%)、SM が 35 株 (28.5%)、Su が 15 株 (12.2%) であった (表 1)。

### 3. 3 PFGE 解析

ヒト由来の *S. Enteritidis* および *S. Typhimurium* について、PFGE を実施した。*S. Enteritidis* について供試株の分離年月日、分離医療機関所在地をまとめると表 3 のとおりである。

#### 3. 3. 1 *S. Enteritidis*

ヒト由来の *S. Enteritidis* について、PFGE を実施した。*Xba* I による泳動像では、11~14 本のバンドが観察され、X1~X11 の 10 パターンに分かれた。最も優勢だったパターンは X1 で 22 株 (70.1%) であった。

*Bln* I では *Xba* I よりも多様な泳動像を示し、10~20 本のバンドが観察され、16 パターンに分かれた。最も優勢だったパターンは B7 (7 株 : 22.6%) で、次いで、B4 (5 株 : 16.1%) であった。

*Xba* I および *Bln* I の組み合わせでは 26 型に分けられ、X1B7 (16.1%) および X1B4 (16.1%) 次いで、X1B11 (9.7%) であった。UPGMA 法によれば、*Xba* I では 73% 以上、*Bln* I では 44% 以上の相似性を示した。

#### 3. 3. 2 *S. Typhimurium*

*Xba* I では 13 本のバンドが観察でき、同一パターンを示した。*Bln* I では 6~7 本のバンドが観察でき、1 本の違いであった。

#### 3. 4 ファージ型別

下水由来の多剤耐性 *S. Typhimurium* の 2 株のファージ型は DT193 および RDNC であった。

表3 *S. Enteritidis* の PFGE パターン

PFGEタイプ	分離年月日	分離医療機関所在地(人数)	合計
X1B7	2007.11.18	F市(1)	6
	2008.1.4-7	F市(2)、T市(2)	
	2008.2.22	F市(1)	
X1B4	2007.7-10月	F市(5)	5
X1B11	2007.10-12月	F市(2)、S市(2)	4
X1B6	2007.11-1月	F市(2)	2
X12B16	2007.9.18	S市(1)	2
	2008.3.25	F市(1)	

## 4. 考 察

2007 年度の県内のヒト由来サルモネラの血清型は *S. Enteritidis* が 82.1% を占め、全国でも検出数が最も多いことと一致していた<sup>3)</sup>。月別の検出状況では例年 7~9 月

に発症のピークがあるが、本年は 10~12 月に発症のピークが見られ、このような時期にも食中毒予防を徹底する必要があると考えられた。年齢別では 0~9 才の患者が全体の 43.6% を占め、他県の報告と同様に小児での発症が多かった<sup>4)、5)</sup>。このうち小児の女子が 30.8% を占めていたが、全体としては男女間に差はみられなかった。サルモネラに限らず、散発下痢症は小児に多いため、小児の保護者等が食中毒予防対策を講じる必要があると思われた。

本年度は下水流入水の検体数は前年の半数であったが、下水由来サルモネラの血清型の種類は 25 種類前後であり、ほぼ例年並みであった。<sup>6)~8)</sup> 検出率が高かった血清型は *S. Enteritidis*、*S. Mbandaka* および *S. Saintpaul* であった。全国のヒトからの検出状況で圧倒的多数を占める *S. Enteritidis* は下水においてもほぼ全検体で検出され、優位な血清型であり、県内に分布・定着していることが考えられた。また *S. Enteritidis* および *S. Mbandaka* は、家畜での検出状況の中で検出率の高い血清型であった<sup>9)</sup>。また、分離株数が 5 株以上で薬剤耐性率が高かった血清型に *S. Newport* があるが、石畝ら<sup>10)</sup> によると、2003 年度には多剤耐性 *S. Newport* がヒトおよび下水から複数株確認されているが、2007 年に坂井市の下水から分離された株は多剤耐性ではなかった。

薬剤感受性試験ではヒトおよび下水由来株ともに SM、TC に耐性率が高かったが、耐性率は例年並みであり、薬剤耐性傾向の変化は見られなかった。下水由来株の中にはサルモネラ症をはじめ腸管感染症治療に頻用されている FOM に耐性を示す *S. Dusseldorf* やフルオロキノロン系薬剤の CPFX に中間の感受性を示す *S. Enteritidis* が確認された。薬剤耐性菌が蔓延すると治療が困難となり、また新たな薬剤耐性菌を生み出すことが考えられるため監視が必要である。

PFGE 解析では *S. Enteritidis* の 32 株は 26 パターンに分類でき、県内に多様な株が浸淫していることが示唆された。*Xba* I に限ってみると、19 株のパターンは 2005~2006 年度内にも多く確認されたパターンであったが、このパターンは *Bln* I で 7 パターンに分けられ、制限酵素を 2 種類使うことで、より詳細な型別ができることが確認された。

本年度はヒトおよび下水由来株には多剤耐性で問題となっている *S. Typhimurium* DT104 は確認されなかった。ヒト由来 *S. Typhimurium* 2 株の薬剤耐性パターンは TC(I)、NA および TC、NA であり、PFGE パターンは極めて類似していた。*S. Typhimurium* DT104 とは異なる薬剤耐性パターンであり、PFGE パターンは以前に県内の下水流入水から分離された DT104 関連株とは異なるクラスターを形成した。近年は、フルオロキノロン耐性 *S. Typhimurium* が各地から報告されており、それらのファージ型は DT193 および DT12 であった<sup>11)</sup>。下水由来の 2 株のうち 1 株は DT193 であった。今回下水から NA 耐性を含む多剤耐性株が分離され、ファージ型が DT193 であったこと、また NA 耐性株はフルオロキノロン系薬剤の最小発育阻止濃度が上昇する傾向があることから<sup>12)</sup>、とくに本血清型については薬剤耐性の動向を把握していく必要がある。

引き続きヒトにおけるサルモネラの動向調査を行い、県内のサルモネラの流行状況を把握し、食中毒予防に役立つ情報を提供していきたいと考える。

## 5. まとめ

1. 県内のヒトおよび下水流入水から分離されたサルモネラは *S. Enteritidis* が多数を占め、例年と同様であった。
2. 薬剤感受性ではヒトおよび下水由来株において1剤以上に耐性を示した株は、前者が89.5%、後者が59.3%であった。薬剤別の耐性率では両者とも、SM、TCが高かった。
3. ヒト由来 *S. Enteritidis* の32株のPFGEパターンは26型に分けられ、多様な株が県内に分布していることが示唆された。
4. 多剤耐性で問題となっている *S. Typhimurium* DT104は確認されなかった。
- 12) 松下秀他: 散発事例由来サルモネラにおけるナリジクス酸耐性株の出現状況。感染症学雑誌、74:345-352 (2000)

## 謝 辞

本調査を行うに当たり、菌株を分与いただきました県内の医療機関関係者およびフェージ型別を実施していただきました国立感染症研究所 泉谷 秀昌先生に深謝いたします。

## 参考文献

- 1) 国立感染症研究所: 細菌性食中毒 1998~2007年, 病原微生物検出情報, 29(8), 213-215 (2008)
- 2) 国立感染症研究所細菌部. 腸管出血性大腸菌 O157 の検出・解析等の技術研修マニュアル. 17-27 (1997)
- 3) 国立感染症研究所: サルモネラ症 (2006年6月現在), 病原微生物検出情報, 27 (8), 191-204 (2006)
- 4) 高木真司他: 滋賀県におけるサルモネラ動向調査結果 (2005年~2006年), 滋賀県衛生科学センター所報, 42 47-50 (2007)
- 5) 竹田義弘他: 広島県内の散発下痢症の最近の動向—下痢原性大腸菌, サルモネラ属菌, カンピロバクターおよび腸炎ビブリオの分離状況—, 広島県保健環境センター研究報告, No.13, 31-41 (2005)
- 6) 宇都宮央子他: 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, 福井県衛生環境研究センター年報, 1, 96-99 (2002)
- 7) 京田芳人他: 福井県内の下水流入水およびヒトから分離されたサルモネラにおける血清型、薬剤耐性および遺伝子解析, 福井県衛生環境研究センター年報, 3, 138-142 (2004)
- 8) 山崎史子他: 福井県内の下水流入水およびヒトから分離されたサルモネラの血清型、薬剤感受性およびPFGE解析, 福井県衛生環境研究センター年報, 5, 54-59 (2006)
- 9) 秋庭正人他: 家畜由来のサルモネラの血清型, 家畜衛試研究報告, 102・103. 43-48 (1996)
- 10) 石畝 史他: 多剤耐性 *Salmonella enterica* Serovar Newport における患者由来株と下水由来株との比較検討, 感染症学雑誌, 79. 270-275 (2005)
- 11) 泉谷秀昌他: フルオロキノロン耐性 *Salmonella Typhimurium*, 病原微生物検出情報, 24 (8), 181 (2003)