

健康人より分離された *Salmonella* の

薬剤感受性とプラスミドについて

塩津 幸恵¹・大隈 英子¹・川内 良介¹・菅原 誠²

Drug Susceptibility and Plasmid Profile of *Salmonella* Isolated from Healthy Adult in Fukuoka City

Sachie SHIOTSU, Eiko OKUMA,
Ryosuke KAWAUCHI and Makoto SUGAHARA

昭和60年度から平成6年度までの10年間に、健康人から検出されたサルモネラのうち検出数の多かった3種の血清型 (*S. Enteritidis* 26株, *S. Infantis* 18株, *S. Isangi* 15株の計59株)を対象に、薬剤感受性試験とプラスミドプロファイルによる型別を実施した。

薬剤感受性試験のMIC値はABPCに $32\mu\text{g/ml}$ < が *S. Enteritidis* に1株みられたが、残りの株は $4\mu\text{g/ml}$ \geq におさまった。全ての株がCEZおよびCMZに $4\mu\text{g/ml}$ \geq , CZXに $0.25\mu\text{g/ml}$ \geq , AZTに $0.5\mu\text{g/ml}$ \geq , OFLXに $1\mu\text{g/ml}$ \geq であった。

プラスミドプロファイルによる型別について、*S. Enteritidis* は全ての株がプラスミド保有株であり10種のパターンに型別され、約55 kbp単独保有株が42.3%と多かった。*S. Infantis* はプラスミド保有株が1株のみであり、疫学調査に利用するのは困難であると思われた。*S. Isangi* は全ての株がプラスミド保有株であり、4種のパターンに型別され、約5 kbpと約4 kbpのプラスミド保有株が60%と大半を占めた。

Key Words : サルモネラ *Salmonella*, *S. Enteritidis*, *S. Infantis*, *S. Isangi*,
薬剤感受性 drug susceptibility, プラスミドプロファイル plasmid profile,
健康人 healthy adult

I はじめに

サルモネラによる食中毒や散発性下痢症は衛生状態が良くなったといわれる今日においても依然として発生している。当所では食品取扱いや保母等を対象とした業態者検便や、健康診断にともなう検便を実施している。SS寒天培地による直接分離培養による結果ではあるが、その際検出されるサルモネラも近年、増加傾向にある。その検出状況は年々減少傾向にあったが、平成元年度の0.013%を最低に以後増加傾向に転じ、平成4年度には0.074%と急増し、5年度には0.094%、6年度には0.088%と高い検出率が続いている。*S. Enteritidis* については、平成元年頃の全国的な流行から本市では数年遅

れていた¹⁾。

今回、全国的な *S. Enteritidis* の流行と本市で健康人の糞便から分離された本菌とにおいて疫学調査の一資料にする目的で、薬剤感受性試験とプラスミドプロファイルによる型別を実施した。また、当所にて健康人の糞便から検出数の多かった *S. Infantis* および *S. Isangi* についても併せて実施したので報告する。

II 材料および方法

1. 供試菌株

昭和60年度から平成6年度までの10年間に健康人より検出されたサルモネラのうち検出数の多かった3種の血清型、すなわち、*S. Enteritidis* 26株, *S. Infantis* 18株, *S. Isangi* 15株 計59株を対象とした。表1にそれぞれの血清型の検出年度および検出数を示した。

1. 福岡市衛生試験所 微生物課
2. 福岡市衛生試験所 微生物課
(現所属 衛生局市民病院)

表1 供試菌株の年度別検出状況

血清型	年度 昭和			平成						計
	60	61	62	63	元	2	3	4	5	
S. Enteritidis	2						1	14	9	26
S. Infantis	4				2	1	3	4	4	18
S. Isangi		6	1	1			4	1	2	15

2. 薬剤感受性試験

微量液体希釈法により最小発育阻止濃度 (MIC) の測定を行った。薬剤としてはアンピシリン (ABPC) セファゾリン (CEZ) セフメタゾール (CMZ) セフチゾキシム (CZX) アズトレオナム (AZT) ゲンタマイシン (GM) ミノサイクリン (MINO) オフロキサシン (OFLX) の8薬剤をもちいた。方法はトリプトンイブイオン3 mlで3~4時間培養した菌液を生理食塩液で10倍に希釈したのちMIC測定用自動式イノキュレーター (長瀬産業) により薬剤の入ったフローズンプレート (栄研) に接種し18~24時間後に判定した。

3. プラスミドの抽出

菌株からのプラスミドの抽出はKadoの変法の改良法であるSasakawaらの方法²⁾に準じて行い、抽出したプラスミドは、Tris Acetate Bufferで調整した0.5% L O3アガロースゲル (タカラ) で50V 90分電気泳動後、エチジウムブロマイドで染色した。分子量マーカーとしては *Escherichia coli* RP 4 (56 kbp) と RSF 2124 (11.6 kbp) およびλ/Hind III digestをもちいた。

III 結 果

1. 薬剤感受性試験

供試3種血清型59株の各種薬剤に対する最小発育阻止濃度 (MIC値) を表2, 3, 4および図1に示した。

ABPCに対するMIC値が32μg/ml<の耐性株がS. Enteritidisに1株みられたが、残りの株は4μg/ml以下であった。

セフェム系薬剤に対しては全ての株が第一世代のCEZに4μg/ml≥, 第二世代のCMZに4μg/ml≥, 第三世代のCZXに0.25μg/ml≥で、世代が進むにつれ感受性株が多くなっていく傾向にあった。

また、全ての株がAZTに0.5μg/ml≥, OFLXに1μg/ml≥であった。

MINOに対するMIC値が16μg/ml<の耐性株がS. Enteritidisに多かったが、全体的に耐性側へピークが寄っている傾向であった。

MINOおよびGMでは、血清型により感受性に差が

見られた。

表2 健康人由来 S. Enteritidis の薬剤感受性 (26株)

薬剤	MIC値 (μg/ml)								
	> 32	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25 ≥
ABPC	1				1	24			
CEZ					22		4		
CMZ					1			25 ¹⁾	
CZX									26
AZT								26 ¹⁾	
GM								26 ¹⁾	
MINO			5 ²⁾		19	2			
OFLX								26 ¹⁾	

1) 0.5 ≥, 2) > 16

表3 健康人由来 S. Infantis の薬剤感受性 (18株)

薬剤	MIC値 (μg/ml)								
	> 32	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25 ≥
ABPC					1	17			
CEZ					17		1		
CMZ					5		12	1 ¹⁾	
CZX									18
AZT								18 ¹⁾	
GM					1	9	7	1 ¹⁾	
MINO			6	5	6	1			
OFLX								18 ¹⁾	

1) 0.5 ≥

表4 健康人由来 S. Isangi の薬剤感受性 (15株)

薬剤	MIC値 (μg/ml)								
	> 32	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25 ≥
ABPC							15		
CEZ					15				
CMZ					2		12	1 ¹⁾	
CZX									15
AZT								15 ¹⁾	
GM					1	9	5		
MINO			1	13	1				
OFLX							1	14 ¹⁾	

1) 0.5 ≥

2. プラスミドプロファイル

健康人糞便より検出されたS. Enteritidis, S. Infantis, およびS. Isangiの保有プラスミドを表5, 6, 7に示

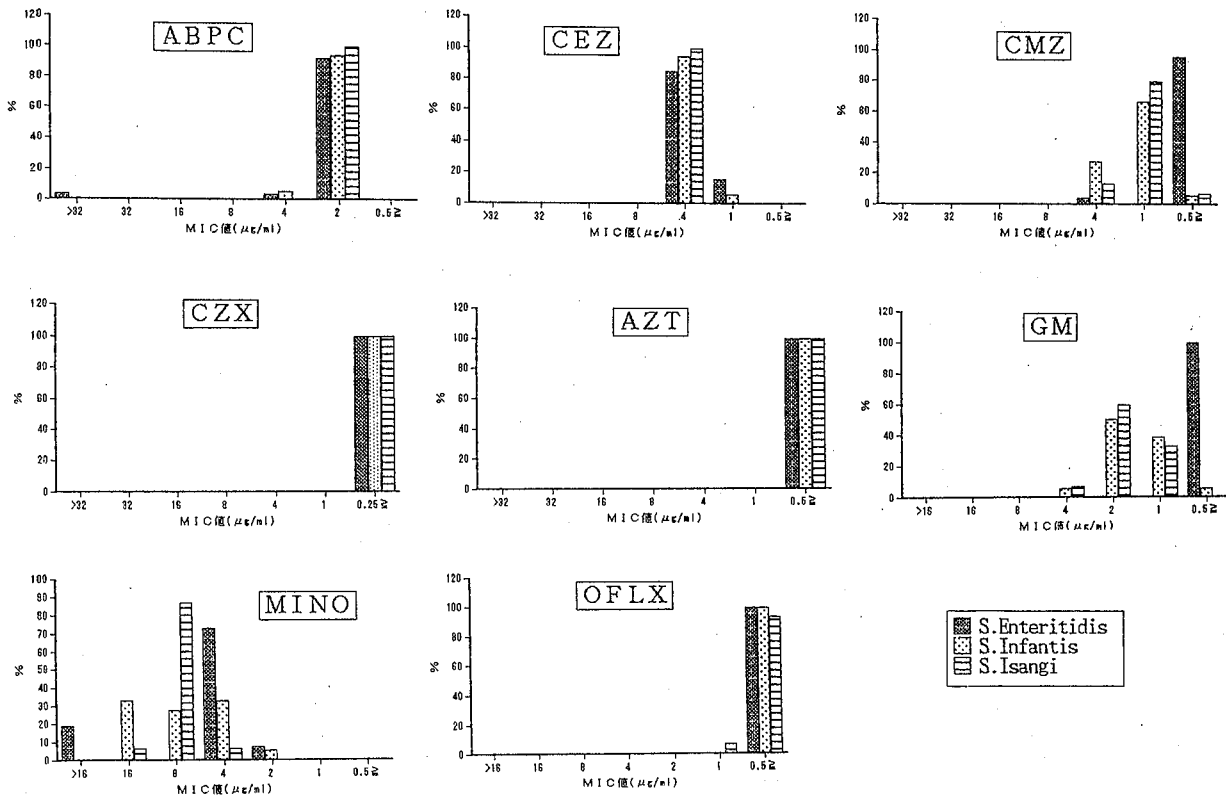


図1 血清型別のMIC値 (S.Enteritidis 26株, S.Infantis 18株, S.Isangi 15株)

表5 健康人由来 S. Enteritidis の保有プラスミド

サイズ(kbp)	年度		昭和				平成				計 (%)
	60	4	5	6	5	6	7	8	9		
60	2										2 (7.7)
60, 55, 30		1									1 (3.8)
55					7	4					11 (42.3)
55, 36					1						1 (3.8)
55, 30					1	2					3 (11.5)
55, 25					1						1 (3.8)
55, 8							1				1 (3.8)
55, 4					1						1 (3.8)
55, 12, 8						3	1				4 (15.4)
4									1		1 (3.8)

表6 健康人由来 S. Infantis の保有プラスミド

サイズ(kbp)	年度		昭和				平成				計 (%)
	60	2	3	4	5	6	7	8	9		
80		1									1 (5.6)
保有せず	4	1	1	3	4	4					17 (94.4)

表7 健康人由来 S. Isangi の保有プラスミド

サイズ(kbp)	年度		昭和				平成				計 (%)
	61	62	元	4	6	元	4	6	7		
5, 4			6			1	1	1			9 (60.0)
40, 5, 4						1					1 (6.7)
14, 5, 4								3			3 (20.0)
5, 4, 3								1	1		2 (13.3)

ミド保有株は26株(100%)であり、10種のパターンに型別された。平成元年からの全国的な S. Enteritidis の流行より以前に検出された昭和60年度の2株は約60 kbpと思われるプラスミドの単独保有であった。流行後の平成4年度に検出された1株は約60, 55, 30 kbpのプラスミドを保有していた。本市で検出数が増加した平成5年度以降は、これらのプラスミドを保有する株は見受けられず、約55 kbpのプラスミド単独保有が11株(42.3%)と多かったが、約55 kbpのサイズの他に異なるサイズのプラスミドを同時に保有している株もあった。

S. Infantis については供試した18株のうちプラスミド保有株は1株(5.6%)のみであった。

S. Isangi については、供試した15株のうちプラスミド保有株は15株(100%)であり、4種のパターンに

した。

S. Enteritidis については供試した26株のうちプラス

型別された。全ての株が約5 kbpと約4 kbpのプラスミドを保有しており、この2つのみを保有している株が9株(60%)と大半を占めた。

IV 考 察

S. Enteritidisによる下痢症の全国的な流行は平成元年(1989)頃からであった³⁾が、本市では全国的な流行から若干遅れて平成3年度頃からであった。一方、健康人から本菌が検出され始めたのは平成4年度からであり、平成5年度になって急増し、その増加は平成6年度まで続いた¹⁾。

今回、全国的なS. Enteritidisの流行株と本市における健康人からの分離株についてプラスミドや薬剤感受性を比較検討した。また、当所で検出数の多かったS. InfantisおよびS. Isangiについても併せて実施した。

当所で健康人より検出されたS. Enteritidisは流行前と後では薬剤感受性に違いは認められなかったが、プラスミドプロファイルには若干の相違が見られた。昭和60年度には約60 kbpと思われるプラスミドの単独保有株のみであった。流行以前のこの傾向は、60 kbpのプラスミド単独保有株が主流であったという金子⁴⁾、平塚ら⁵⁾の報告と一致していた。流行後である平成4年度以降は約55 kbpと思われるプラスミド単独保有株が多く分離されるとともに種々の異なる大きさのプラスミド保有株もみられた。流行以降のこの傾向は、60 kbpのプラスミド単独保有株が多数分離されたという平塚らの報告⁵⁾、あるいは60 kbpと55 kbpのプラスミドを保有するものが多数分離されたという金子の報告⁴⁾とは異なっていた。また、型別されたパターン数もこれらの都市に比べ本市では多い傾向にあった。また、全国的な調査をした田口ら⁶⁾によると1989年、1990年の卵関連の食品が原因食と推定された食中毒例は60 kbp又は60、54 kbpのプラスミドを保有し、卵由来株は60 kbp又は60、54 kbp又は90、60 kbpのプラスミド保有であったと報告している。これらのことから、本市におけるS. Enteritidisの汚染源は1989年以降の全国的な流行の汚染源とは若干異なったものであり、複数存在しているのではないかと考えられた。

薬剤感受性とプラスミドとの関係では約55、12、8 kbpのプラスミドを保有していた4株が全てMINOに対するMIC値が $16 \mu\text{g}/\text{ml}$ と耐性であったが、関連性については不明で、さらに検討が必要と思われた。

S. Isangiについては、型別されたパターンは4種とS. Enteritidisの10種に比べ少なく、S. Enteritidisに比べ少ない汚染源の可能性が考えられた。

S. Infantisについてはプラスミド保有株は1株のみで

あり、この血清型については疫学調査にこの方法を利用するのは困難であると思われた。

今回調査した3種血清型の薬剤感受性については、セフェム系およびOFLXに感受性があり、MINOおよびABPCに数%の耐性菌が見られたが、血清型により耐性率に幅があり、同じ血清型でもその耐性パターンは異なっており猪狩⁷⁾、松下ら⁸⁾の報告とほぼ一致していた。

S. Enteritidisによる食中毒は全国的に鶏卵に関連した事例が多かったが、鶏卵以外を原因食とする食中毒の発生がみられるようになってきており⁹⁾、またファージ型も多岐にわたっている。今回検討した健康人由来のS. EnteritidisおよびS. Isangiについてはプラスミドプロファイルは複数のパターンに分類された。本市においては健康人糞便からのS. Enteritidisを中心としたサルモネラ全体の検出数が増加しており、しかもその血清型は多様化している¹⁾。その汚染原因のひとつとして畜水産物およびその加工品、動物飼料などの輸入品が挙げられる¹⁰⁻¹²⁾ため、現地における一貫した品質管理が望まれると同時に、輸入時および流過程におけるサルモネラを中心とした病原微生物のなお一層の検査体制の強化が必要であると思われた。

文 献

- 1) 微生物課臨床検査係：過去10年間の腸管系病原微生物の検出状況，福岡市衛生試験所報，19，133 - 136，1994
- 2) 日本細菌学会教育委員会編：細菌学技術叢書10，28 - 30，葉根出版，1989
- 3) 国立予防衛生研究所：サルモネラ・エンテリテイデイスの流行，病原微生物検出情報，14，1 - 2，1993
- 4) 金子 通治：1989年を中心とした散発下痢症患者由来サルモネラ血清型Enteritidisの疫学的解析，感染症学雑誌，65，1533 - 1539，1991
- 5) 平塚 奈美子，他：1986年から1991年に千葉県で分離された*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidisのプラスミドプロファイル，薬剤感受性およびファージ型について，千葉衛研報告，16，7 - 12，1991
- 6) 田口 真澄，他：プラスミドプロファイルによる*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidisの型別の試み，感染症学雑誌，66，1067 - 1074，1992
- 7) 猪狩 淳：サルモネラ感染症，モダンメディア，39，453 - 458，1993
- 8) 松下 秀，他：東京において1980 - 1989年に分離

- された海外及び国内由来サルモネラの血清型と薬剤耐性, 感染症学雑誌, 66, 327 - 339, 1992
- 9) 国立予防衛生研究所: サルモネラ 1992 ~ 1994, 病原微生物検出情報, 16, 1 - 4, 1995
- 10) 久井 伸治: 輸入食品の監視の現状について, 食品衛生研究, 520, 57 - 80, 1993
- 11) 厚生省生活衛生局食品保健課: 平成 5 年輸入食品監視統計, 食品衛生研究, 69 - 96, 533, 1994
- 12) 森田 邦夫: 輸入食品の安全性に関する情報を消費者に, New Food Industry, 33 - 35, 36, No. 2, 1994