

資料

広島県内の鶏と散発下痢症患者から分離された *Salmonella* *Infantis*の薬剤耐性とプラスミドプロファイル

松田 花子, 竹田 義弘, 東久保 靖*, 小川 博美

Antibiotic Susceptibility and Plasmid Profiles of *Salmonella* *Infantis* Isolated from Broiler and Patients with Sporadic Diarrhea Cases in Hiroshima Prefecture

MATSUDA HANAKO, YOSHIHIRO TAKEDA, YASUSHI TOUKUBO* and HIROMI OGAWA

(Received Sep. 30, 2005)

県内の鶏由来46株と散発下痢症患者由来37株の*Salmonella* *Infantis*について薬剤感受性試験とプラスミドプロファイルを行った。

供試株のうち、供試薬剤の全てに感受性を示した株は、患者由来の5株で、他はいずれかの薬剤に耐性であった。全供試菌株のうちSM耐性が51.8%、KM耐性が60.2%、TC耐性が84.3%、ST耐性が72.3%有り、この4剤には高い耐性率が認められた。また、NA耐性が14.5%に認められた。耐性パターンは19種類認められ、そのうち鶏と患者由来株に共通のパターンが7種類有り、両者には関連性が認められた。また、耐性パターンのうちSM・KM・TC・STの4剤耐性型とKM・TC・STの3剤耐性型で全供試菌株の50.7%を占めた。プラスミドプロファイルの結果、感受性株はプラスミドの保有が認められなかった。耐性株は全て200Kbpのプラスミドを保有していた。

キーワード：S. *Infantis*, 鶏, 散発下痢症患者, 薬剤感受性, プラスミドプロファイル

はじめに

サルモネラはヒト、動物、食品、環境など自然界に広く分布する人獣共通感染症の原因菌で、なかでも非チフス系サルモネラは人の食中毒や感染性胃腸炎の主要な病因物質である。平成16年の食中毒発生状況によるとサルモネラはカンピロバクター、ノロウイルスに次いで食中毒事件数で3位、患者数で2位の病因物質となっている[1]。サルモネラによる食中毒事件はS. *Enteritidis*によるものが最も多いが、近年では原因となる血清型が多様化し、また、薬剤耐性の増加が問題となっている。世界的に問題化した多剤耐性S. *Typhimurium* DT104が国内でも検出されるようになり、S. *Hadar*, S. *Newport*の多剤耐性株も報告されている[2-6]。全国地方衛生研究所・保健所でヒトから分離されたサルモネラの血清型ではS. *Infantis*は近年5位内に挙げられ、広島県においても散発下痢症の患者からはS. *Enteritidis*に次いで多く分離されている[7, 8]。

食品関連材料では、鶏肉および食鳥処理場からのS. *Infantis*汚染の報告は多く、鶏肉摂取によるサルモネラ腸炎が危惧される[9-14]。そこで、鶏と散発下痢症患者から分離

されたS. *Infantis*の薬剤感受性を調査するとともに、保有するプラスミドとの関係について検討したので報告する。

材料および方法

1 調査期間および材料

- 1) 鶏材料：2002年4月から2004年3月に県内の食鳥処理場2施設で処理された鶏（ブロイラー）の盲腸内容物80検体を供試した。
- 2) 患者由来株：2002年4月から2004年3月に県内10医療・検査機関において散発下痢症患者から分離されたサルモネラ641株のうちS. *Infantis*と型別された37株を供試した。

2 分離・同定方法

- 1) 盲腸内容物の1gをSBGスルファ培地（栄研）で43℃、18~20hr増菌培養後、SS寒天培地（ニッスイ）に塗布し、37℃、20hr培養して菌分離した。分離菌株の同定は常法に従った[15]。
- 2) 鶏および患者由来株の血清型別は、サルモネラ診断

*現広島県食肉衛生検査所：Present Address, Hiroshima Prefectural Meat Sanitation Inspection Station

用免疫血清 (デンカ生研) を用いて行った。

3 薬剤感受性試験

NCCLS法に準拠し、センシ・ディスク (BBL) を用いて一濃度ディスク法により実施した。使用薬剤はピペラシン (PIPC), シプロフロキサシン (CFIX), セフトジジム (CAZ), ストレプトマイシン (SM), ゲンタマイシン (GM), カナマイシン (KM), テトラサイクリン (TC), クロラムフェニコール (CP), スルファメトキサゾール/トリメトプリム合剤 (ST), ナリジクス酸 (NA), ノルフロキサシン (NFLX), シプロフロキサシン (CPFX) の計12薬剤を用いた。

3 プラスミドプロファイル

プラスミドDNAはKadoらの変法[16]によって抽出し、0.7%アガロースで電気泳動後、エチジウムブロマイド染色して、写真撮影した。プラスミドの分子量サイズは *S. Braenderup* (100Kbp: 東京医科歯科大学医学部微生物学教室 堀内三吉教授より分与) と *S. Enteritidis* (60Kbp) をマーカーとして測定した。

結 果

1 鶏からのサルモネラの検出状況

供試した盲腸内容物80検体のうち46検体 (57.5%) からサルモネラが分離され、その血清型はすべて *S. Infantis* であった。

2 患者由来株

表1に患者由来株の血清型を示した。10医療・検査機関で分離されたサルモネラ641株のうち *S. Enteritidis* が484株 (75.5%) と最も多く、次いで *S. Infantis* が37株 (5.8%) と多かった。

3 薬剤感受性試験

表2に薬剤別の耐性株数を、表3に耐性パターン別の株数を示した。薬剤のうちCAZ, CP, NFLX, CPFXの4剤には全ての株が感受性を示し、SM, KM, TC, STの4剤には鶏、患者由来株ともに耐性率が高かった。このうちST耐性は患者由来株の43.2% (16/37株)、鶏由来株の95.7% (44/46株) と両者の間に2倍以上の差がみられた。NAには鶏由来株の19.6% (9/46株)、患者由来株の8.1% (3/37株) が耐性を示した。12薬剤の全てに感受性を示した株は5株 (6.0%; 5/83株) でいずれも患者由来株であった。その他の株 (94.0%; 78/83株) は全て耐性株であった。そのうち単剤耐性は9株、残りの69株は多剤耐性であった。耐性パターンは鶏由来株が11種類、患者由来株が15種類で共通した耐性型は7種類有

表1 患者由来株の血清型

O群	血 清 型	株 数
O4	<i>S. Typhimurium</i>	22
	<i>S. Agona</i>	27
	<i>S. Saintpaul</i>	8
	<i>S. Stanley</i>	4
	<i>S. Chester</i>	2
	<i>S. Sandiego</i>	1
	<i>S. Bredeney</i>	1
O6	<i>S. Newport</i>	7
	<i>S. Litchfield</i>	1
O7	<i>S. Infantis</i>	37
	<i>S. Thompson</i>	15
	<i>S. Singapore</i>	6
	<i>S. Bareilly</i>	1
	<i>S. Braenderup</i>	3
	<i>S. Virchow</i>	5
	<i>S. Montevideo</i>	2
	<i>S. Rissen</i>	1
	<i>S. Oranienburg</i>	1
<i>S. Mikawasima</i>	1	
O8	<i>S. Ohio</i>	2
	<i>S. Isangi</i>	1
	<i>S. Manhattan</i>	3
O9	<i>S. Narashino</i>	1
	<i>S. Enteritidis</i>	484
	<i>S. Javiana</i>	1
	<i>S. Miyazaki</i>	1
	UT	3
合	計	641

UT: 型別不明

り、併せて19種類が認められた。そのうち鶏由来株ではSM・KM・TC・STの4剤耐性型が15株と最も多く、KM・TC・STの3剤耐性型が12株と続いた。患者由来株ではKM・TC・STの3剤耐性型が7株と最も多かった。最も多くの薬剤に耐性を示したのは鶏由来の1株でPIPC・CFIX・SM・KM・TC・ST・NAの7剤耐性型であった。

4 プラスミドプロファイル

プラスミドの保有状況を表3に併せて示した。鶏および患者から分離された83株のうち感受性株の5株はプラスミドを保有せず、耐性株の78株はいずれも200Kbpのプラスミドを保有していた。さらに患者由来株のうち40Kbpを1株、30Kbpを1株、20Kbpを1株、鶏由来株のうち20Kbpを4株が保有していた。

考 察

今回、鶏から分離されたサルモネラの分離率は57.5% (46/80検体) で、1998年から2002年にかけての当センターの調査結果 (27.3%) よりも高い分離率となった。しかし、*S. Infantis*以外の血清型が分離されなかったこと

剤耐性株が150~110kbpの接合性Rプラスミドを保有することを報告している[19]。S. Infantisでは、市瀬らが都内健康者からの分離株について、伊藤らがS. Infantis感染豚からの分離株について、接合性Rプラスミドの存在を報告している[20, 21]。今回抽出されたプラスミド、特に供試菌株のうち耐性を示す株全てが共通して保有しているかどうか今後解明していきたい。

謝 辞

プラスミドマーカーク株を分与していただいた東京医科歯科大学医学部微生物学教室 堀内三吉博士、検体採取にご協力いただいた広島県食肉衛生検査所、患者株を分与していただいた県立広島病院、広島市医師会臨床検査センター、呉市医師会病院臨床検査センター、三原市医師会病院、三原赤十字病院、尾道市立市民病院、福山医療センター、福山市医師会総合健診センター、市立三次中央病院、三次地区医師会臨床検査センターの皆様に深謝いたします。

文 献

- [1] 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課 (2005) :平成16年食中毒統計, 食品衛生研究, 78-164
- [2] 加藤玲ほか (2001) :東京多摩地区において過去10年間 (1991~2000年) に散発下痢症患者及び健康者から分離されたサルモネラの血清型, 薬剤耐性とDNA解析, 感染症誌, 75, 837-845.
- [3] 中矢秀雄ほか (2001) :乳児下痢症の便から検出したフルオロキノロン耐性の*Salmonella enterica* serotype Typhimurium definitive phage type12, 感染症誌, 75, 815-818.
- [4] 松下秀ほか (1999) :散発事例由来の*Salmonella* serovar Typhimuriumの薬剤耐性とdefinitive phage type104の出現状況, 感染症誌, 73, 1087-1093.
- [5] 石畝史ほか (2005) :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, 感染症誌, 79, 270-275.
- [6] 松下秀ほか (1999) :散発事例からの*Salmonella* serovar Hadarの検出状況と薬剤耐性, 感染症誌, 73, 1210-1216.
- [7] 国立感染症研究所 (2004) :サルモネラ症 (2003年6月現在), 病原微生物検出情報, 24(8), 179-180.
- [8] 竹田義弘ほか (2002) :広島県内の散発性下痢症患者から分離されたサルモネラの疫学的比較検討, 広島県保健環境センター研究報告, 10, 19-27.
- [9] 楠くみ子ほか (2000) :東京多摩地区の国産食鳥肉のサルモネラ汚染状況と分離株の血清型および薬剤耐性 (1992~1999), 日食微学誌, 17, 207-212.
- [10] 安藤陽子ほか (2003) :市販鶏肉のサルモネラ汚染調査と*Salmonella* InfantisのPFGE法による解析, 日食微学誌, 20, 123-127.
- [11] 小野一晃ほか (2002) :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.
- [12] 山田亨ほか (2003) :宮崎県における家畜, 食肉・食鳥処理場の汚水, 鶏肉および河川水の*Salmonella* Corvallis汚染実態調査, 日食微学誌, 20, 105-110.
- [13] 清水泰美ほか (1998) :食鳥処理場における細菌汚染調査, 日獣会誌, 51, 608-612.
- [14] 石岡大成ほか (1997) :食鳥処理場におけるサルモネラ分離株の血清型と薬剤感受性, 日獣会誌, 50, 285-289.
- [15] 坂崎利一 (2000) :新訂食水系感染症と細菌性食中毒, サルモネラ. 中央法規出版, 東京
- [16] Kado, C. I. et al (1981): Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids, J. bacteriol., 145, 1365-1373.
- [17] 東久保靖ほか (2000) :広島県内で分離された動物由来*Salmonella* Infantisの疫学的解析, 広島県獣誌, 15, 98-101.
- [18] 松下秀ほか (2000) :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, 感染症誌, 74, 345-352.
- [19] 堀内三吉ほか (1987) :ヒト由来*Salmonella* Typhimurium, *S. Enteritidis*, *S. Braenderup*のプラスミドと薬剤耐性, 感染症誌, 61, 167-177.
- [20] 市瀬正之ほか (1983) :1976~1981の6年間に都内健康者から分離された*Salmonella*の伝達性R plasmidsについて, 感染症誌, 57, 946-955.
- [21] 伊藤裕和ほか (1989) :幼豚にみられた*Salmonella* sp. (1) serovar infantis感染症, 日獣会誌, 42, 53-57.