

## 2007 年度サルモネラ菌の分離状況と薬剤感受性試験について

小澤奈美 渡邊奈々子 小黒祐子 須釜久美子 大竹俊秀  
微生物グループ

### 要 旨

2007 年 4 月から 2008 年 3 月までに福島県内で分離され、当所に搬入されたサルモネラ菌 21 株について性状確認、血清型別試験および薬剤感受性試験を実施した。血清型別の分離状況では、*Salmonella enterica* subsp.*enterica* serovar 4 : i : - の検出が最も多く、9 株であった。薬剤感受性試験では、*Salmonella enterica* subsp.*enterica* serovar 4 : i : - の 9 株全てが、サルモネラ感染症の第一選択薬である ABPC に耐性であった。

キーワード：サルモネラ菌，分離状況，血清型別，薬剤感受性試験

### はじめに

東北食中毒研究会のサルモネラ研究班活動として、サルモネラ菌による健康被害予防対策構築に資する知見を得ることを目的とし、2006 年 4 月 1 日から東北地方の複数の県において定点調査を実施している。活動目的は東北地方におけるサルモネラ菌散発患者発生実態および薬剤耐性株の侵淫実態について明らかにすることである。

2007 年 4 月から 2008 年 3 月に福島県内で発生し、医療機関等で分離されたサルモネラ感染症患者由来菌株の血清型別試験および薬剤感受性試験を実施したので、その概要を報告する。

### 材 料

2007 年 4 月から 2008 年 3 月まで当所に搬入されたサルモネラ菌株 21 株を用いた。21 株の内訳は散発感染事例として感染症発生動向調査事業で搬入された菌株 17 株、保健所から分与された菌株 1 株、医療機関からパラチフスと届け出のあった菌株 1 株、パラチフス A 菌疑いの菌株 1 株、そして集団感染事例として食中毒関連で搬入された 1 事例の菌株 1 株である。

### 方 法

#### 1 性状確認

分離平板培地からサルモネラ菌のコロニ

ーを性状確認用培地の TSI 培地、SIM 培地、VP 半流動培地、シモンズのクエン酸ナトリウム培地および LIM 培地に接種しスクリーニング後、同定キット VITEK・GNI+、API・20E（日本ビオメリュー社）、ID テスト EB20（日水製薬）を用いて性状を確認した。

#### 2 血清型別試験

サルモネラ免疫血清（デンカ生研）を使用して O 型別および H 型別試験を実施した。得られた O 抗原と H 抗原から Kauffmann-White の抗原構造表に沿って同定した。

#### 3 薬剤感受性試験

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) によるディスク法 (Kirby-Bauer 法、以下“KB 法”とする) を用い、阻止円直径を測定し判定した。対象薬剤はアンピシリン (ABPC)、ホスホマイシン (FOM)、ノルフロキサシン (NFLX)、セファロチン (CET)、セフォタキシム (CTX)、セフトジジム (CAZ)、セフェピム (CFPM)、セフォキシチン (CFX)、イミペネム (IPM)、カナマイシン (KM)、テトラサイクリン (TC) の 11 種類である<sup>1)</sup>。薬剤感受性は、感受性 (susceptibility : S)、中間 (intermediate : I)、耐性 (resistant : R) の区分表記で示した。

## 結果と考察

### 1 月別分離状況

月別のサルモネラ分離状況を図 1 に示した。サルモネラ菌株は 2007 年 4 月 1 株、5 月 2 株、6 月 1 株、7 月 2 株、8 月 8 株、9 月 1 株、10 月 3 株、11 月 1 株、2008 年 1 月 1 株、3 月 1 株分離された。

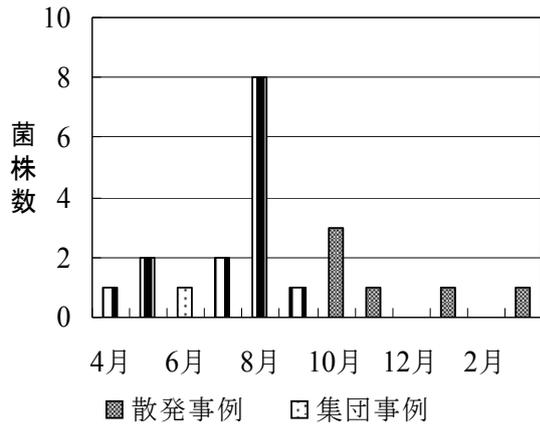


図 1 サルモネラ菌月別分離状況

### 2 性状確認

性状確認培地および同定キットの結果では、*Salmonella enterica* subsp.*enterica* serovar Paratyphi A (以下“S.Paratyphi A”とする) および *Salmonella enterica* subsp.*diarizonae* 株以外は一般的なサルモネラ菌の性状を示した。パラチフス A 菌疑いとして搬入された菌株は、硫化水素を弱く産生し、また、コロニーが微小でラフ型を示す株であった。*Salmonella enterica* subsp.*diarizonae* と判定した株は、クロモアガー・サルモネラ培地で青色を呈し、一般サルモネラ菌とは異なるコロニーであった。性状確認培地以外に、β-D グルクロニダーゼ試験、ズルシット利用能、ONPG 反応 (2 時間) を追加項目として検査し、*Salmonella enterica* subsp.*diarizonae* 株 (以下“S.III b”とする) であることを確認した。

### 3 血清型別分離状況

血清型別の分離状況を表 1 に示す。最も分離株数が多かったのは O4 群で、全体の 6 割近くを占めた。最も検出数が多かった血

清型は *Salmonella enterica* subsp.*enterica* serovar 4:i:- (以下“S.I 4:i:-”とする) で、9 株分離された。S.Enteritidis は散発事例および集団事例を合わせて 3 株であった。その他の血清型の分離状況は、O2 群で S.Paratyphi A が 1 株、O4 群で S.Stanley が 2 株、S.Typhimurium が 1 株、O7 群で S.Bareilly が 1 株、S.Montevideo が 1 株、S.Thompson が 1 株であった。また、性状確認培地で S.III b であった株は、市販の免疫血清では判定できない O48:k:z35 の血清型であった。

パラチフス A 菌疑いとして搬入された菌株は、生化学的性状検査ではパラチフス A 菌となったものの、血清型別試験では O2 群に凝集が認められなかった。遺伝子検査においても確認できなかったため、血清型不明菌となった。

表 1 血清型別分離状況

血清型	血清型	分離菌株数		計
		散発事例	集団事例	
O2	S.Paratyphi A	1		1
	S.Stanley	2		
O4	S.Typhimurium	1		12
	S.I 4:i:-	9		
	S.Bareilly	1		
O7	S.Montevideo	1		3
	S.Thompson	1		
O9	S.Enteritidis	2	1	3
O48	S.IIIb 48:k:z35	1		1
	不明	1		1
	計	20	1	21

### 4 薬剤感受性試験結果

サルモネラ菌株 21 株のうち性状確認で S.Paratyphi A となった株と、血清型が不明であった株を除く 19 株についての薬剤感受性試験結果を表 2 に示した。

今回の検討で昨年同様 ESBL 産生、メタロβラクタマーゼ産生およびプラスミド性 AmpC 産生を疑う耐性菌株は検出されなかった。しかし、S.I 4:i:- 全てが、サルモネラ感染症の治療薬の 1 つである ABPC に耐性を示した。また S.I 4:i:- の 9 株中

表2 サルモネラ菌の薬剤感受性試験結果

	血清型	使用薬剤										
		ABPC	FOM	NFLX	CET	CTX	CAZ	CFPM	CFX	KM	TC	IPM
O4	<i>S. Stanley</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	<i>S. Stanley</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	<i>S. Typhimurium</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	<i>S. I 4:i:-</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
	<i>S. I 4:i:-</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
	<i>S. I 4:i:-</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
	<i>S. I 4:i:-</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
	<i>S. I 4:i:-</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
	<i>S. I 4:i:-</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
	<i>S. I 4:i:-</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
	<i>S. I 4:i:-</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
	<i>S. I 4:i:-</i>	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S
O7	<i>S. Bareilly</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	<i>S. Montevideo</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	<i>S. Thompson</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
O9	<i>S. Enteritidis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	<i>S. Enteritidis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	<i>S. Enteritidis</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
O48	<i>S. IIIb 48:k:z35</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

8株がTCに耐性を示した。2006年に1株検出された*S. I 4:i:-*も、ABPCとTCに耐性であった。今後、*S. I 4:i:-*は検出率と共に薬剤耐性の動向に注意する必要があると思われる。

5 パルスフィールドゲル電気泳動による分析結果

今回検出された*S. I 4:i:-*は全て1地

域からの検出であった。対象菌株2～8の検体採取日が8月15日～26日であることを考慮すると、集団感染の可能性も考えられ、パルスフィールドゲル電気泳動（以下“PFGE”とする）を実施した。なお、2006年8月に別の地域で検出された*S. I 4:i:-*の1株も同時にPFGEを行った。対象菌株の一覧を表3に示す。制限酵素は*Bln I*および*Xba I*を使用した。解析ソフトはBio Numerics

表3 *S. I 4:i:-*のPFGE使用菌株一覧

	性別	年齢	発病日	検体採取月日	備考	地域
1	女	51歳	不明	2006/8/12		A
2	男	6歳	2007/8/15	2007/8/15		B
3	女	9歳	2007/8/20	2007/8/20		B
4	女	6歳	2007/8/20	2007/8/20	兄妹	B
5	男	8歳	2007/8/20	2007/8/23		B
6	女	5歳	2007/8/21	2007/8/22	双子	B
7	女	5歳	不明	2007/8/22		B
8	男	4歳	2007/8/26	2007/8/26		B
9	男	35歳	不明	2007/10/12	保菌者	B
10	女	4歳	2007/10/13	2007/10/14		B

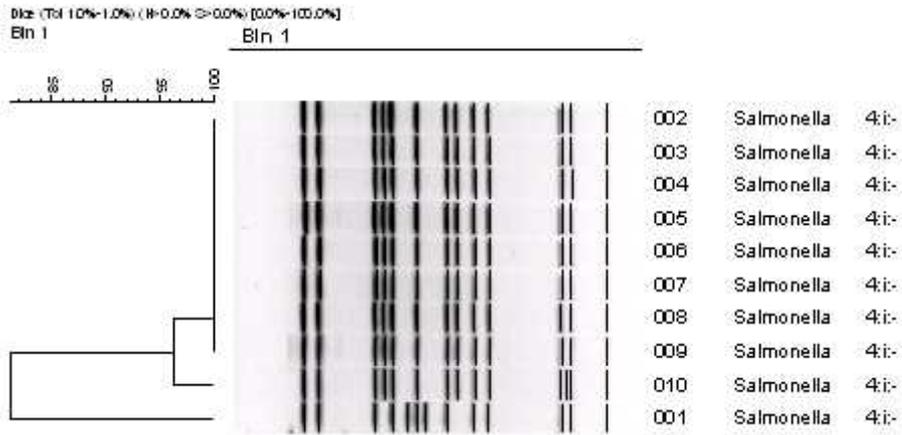


図2 S. I 4 : i : - の Bln I による PFGE 解析結果

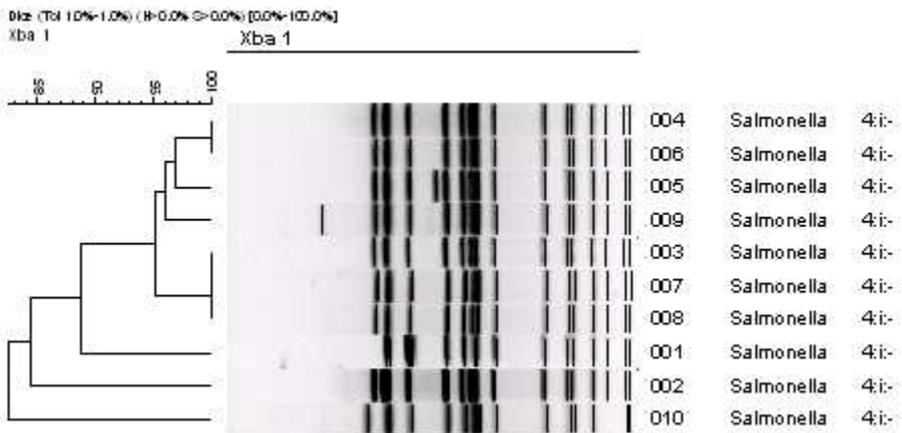


図3 S. I 4 : i : - の Xba I による PFGE 解析結果

(Applied Maths) を用い、類似係数は Dice を使用した。結果を図 2 および図 3 に示す。図中 002 ～ 010 が今回血清型を確認した 9 株、001 が 2006 年に 9 株とは異なった地域で検出された 1 株である。図 2 の Bln I では 002 ～ 010 の 9 株の PFGE 解析パターンが 1 株を除いて 100 % 一致した。一致しなかった 1 株は薬剤感受性試験で唯一 TC に感受性の株であった。図 3 の Xba I では 002 ～ 010 の 9 株中 7 株のパターンが 95 % 以上一致した。一致しなかった 2 株中 1 株は TC が感受性の株であった。今回検出された S. I 4 : i : - は、散発感染事例であるが Bln I, Xba I とともに高い一致率であることが明らかとなった。したがって、地域の中で集団感染を含め、何らかの感染原因が働いている可能性が考えられる。共通の感染源、例えば、地域のみ

通している卵などの食品、特定の場所の湧き水などが考えられる。疫学調査により感染源が明らかになることが期待される。

2006 年に別地域から検出された 1 株は Bln I, Xba I とともに一致率が 81 ～ 82 % であることから、別の感染経路があると思われる。

### 引用文献

- 1) 八柳潤(代表)．東北地方における広域連携によるサルモネラ散発患者発生状況と分離株の菌学的特徴に関する検討．東北食中毒研究会サルモネラ研究班平成 18 年度活動報告．