

報

告

秋田県で分離された *Salmonella* serovar Enteritidis の プラスミドプロファイル, 薬剤感受性, ファージ型 について (第2報)

齊藤志保子 八柳 潤 遠藤 守保^{*1} 佐藤 宏康^{*2}
森田 盛大

秋田県で1986年から1992年の間に分離された *Salmonella* Ser. enteritidis (SE) 127株, および1984年から1989年の間に秋田市内の環境から分離したSE 7株を対象として, それらのファージ型, プラスミドプロファイル, および薬剤感受性について検討した. 1989年以降, 多数の散発的感染事例やSE食中毒事例が発生したがこれらは主にファージ型34, プラスミドプロファイル>250 Kb, 60Kb, SM, EM耐性, およびファージ型4, プラスミドプロファイル60 Kb 単独, SM, EM耐性のSEが原因であった. このタイプのSEは1987年に既に秋田市内の環境に侵淫していたことが示された. 一方, 1992年にも散発事例からこのタイプのSEが分離されたことから, SE感染の可能性はまだ続いているものと考えられた.

キーワード: *Salmonella* Ser. Enteritidis, プラスミドプロファイル, ファージ型, 薬剤感受性

I はじめに

サルモネラは腸炎ビブリオ, 黄色ブドウ球菌に次いで食中毒の代表的原因菌であり, また, 散発的下痢症の原因菌としても重要視されている. 我々は1975年から河川水, 下水処理場流入水, 食肉などを対象として県内におけるサルモネラ菌の侵淫動向を調査すると共に^{1) 2) 3)}, 感染症サーベイランス協力定点医療機関を中心に下痢症患者からの同菌検出状況を監視してきた. その結果, 1989年に入り, それまでは分離頻度の極めて小さかった *Salmonella* Ser. Enteritidis (SE) が食中毒事例や散発事例において多数分離されるようになったことが明らかとなった⁴⁾.

SE感染症において感染ルートや感染源を追求するための疫学指標として, 我が国では1990年3月からファージ型別法が導入された⁵⁾. このSEのファージ型別は, 現在, 国立予防衛生研究所においてのみ実施されており, 1990年に発生した食中毒事例において疫学指標としての有用性が確認されている⁶⁾. 一方, プラスミドプロファイルの解析もSEの疫学指標として有用であることが示されている^{6) 7)}. このプラスミドプロファイルの解析はファージ型別と異なり手技が比較的容易であることから, 地研においても実施可能な方法であるのに加えて, SEだけではなく *Salmonella* Ser. Typhimurium⁸⁾, Enterobacteriaceae⁹⁾, Enterohemorrhagic E. coli¹⁰⁾等についても疫学指標として有用であることが報告されている.

我々は昨年度, 1987年以降に分離され, 当所に保存されていたSEを対象としてプラスミドプロファイルの測

定法を中心に検討し, プラスミドプロファイルとファージ型を組み合わせることにより, より詳細なSEの疫学情報が得られることを報告した¹¹⁾. 今年度は1986年から1992年の間に秋田県内で発生した散発的感染事例や食中毒事例などから分離されたSE, 更に1984年から1989年の間に秋田市内の環境中から分離されたSEを対象としてプラスミドプロファイル, ファージ型, および薬剤感受性について検討したので, 得られた知見について報告する.

II 材料と方法

1. 材 料

菌株: 1986年から1992年の間に県内で分離されたSE 127株, および1984年から1989年の間に秋田市内の環境中から分離されたSE 7株を調査対象とした.

2. 方 法

(1) プラスミドプロファイルの測定: SEのプラスミドプロファイルはKadoたちの方法に準じて既報のとおり測定した¹²⁾.

(2) ファージ型の測定: SEのファージ型別は国立予防衛生研究所に実施を依頼した.

(3) 薬剤感受性: SEの薬剤感受性は「昭和1濃度ディスク」を使用し, 取り扱い説明書記載の方法に従い測定した. 測定対象薬剤は, ゲンタマイシン (GM), ストレプトマイシン (SM), テトラサイクリン (TC), カナマイシン (KM), エリスロマイシン (EM), セファロシン (CT), クロラムフェニコール (C), ナリジクス酸 (NA), アミノペンシルペニシリン (ABPC), ST合剤 (ST) とした. これらの薬剤に対するSEの

^{*1} 現 横手保健所

^{*2} 現 大館保健所

感受性は、生じた阻止円の直径から取り扱い説明書中の判定表に従い、感受性区分－，＋，＋＋，＋＋＋として判定し、感受性区分のうちマイナス，およびプラス1に該等する感受性が見られた場合に当該株がその薬剤に対して耐性であると判定した。

Ⅲ 結果および考察

1. SEの由来、年次別分離状況

今回調査対象としたSEの由来別、年次別分離一覧を表1に示した。SEは1986年に散発事例から1株分離されたが、それ以前、および1987年、1988年には分離されていなかった。ところが、1989年に、突然、多数のSEが散発事例から分離されるようになり、翌1990年もこの傾向が持続した。この散発的SE感染症の多発傾向は1991年以降ほぼ終息し、1991年、および1992年に分離されたSEはそれぞれ2株、および6株であった。一方、1989年と1990年には散発事例だけではなく、SEを原因菌とした集団食中毒事例も発生し、これらの事例から計21株のSEが分離された。

一方、秋田市内の下水、河川水を対象としたサルモネラ菌侵淫状況調査においては、散発事例におけるSEの分離傾向とは異なり、1984年から1989年までの間毎年SEが分離された。一方、1990年、および1991年には環境中からSEは分離されなかった。なお、当該調査が1991年に終了したため、それ以降の環境中からのSE分離状況は不明である。

表1 調査対象SE一覧

由来	分離年	分離数
散発事例	1986	1
	1989	49
	1990	44
	1991	2
	1992	6
	計	102
食中毒患者	1989	2
	1990	19
	計	21
環境		
	河川水	
	1984	1
	1986	1
	1988	1
下水	1985	1
	1987	1
	1989	2
	計	7
その他		
		4
	総計	134

2. 散発事例、食中毒事例において分離されたSEのファージ型、プラスミドプロファイル、薬剤感受性

表2に散発事例において分離されたSEのファージ型、プラスミドプロファイル、薬剤感受性を示した。1986年に分離されたSE1株はファージ型2であった。1989年にはファージ型34のSEが40株、ファージ型4のSEが9株分離された。ファージ型34のSE40株のうち36株が

>250Kb、60Kbのプラスミドを保有するものであり、残り3株はそれぞれ>250Kb単独、>250kb、90Kb、60Kb、および>250Kb、60Kb、UTのプラスミドを保有するものであった。>250Kb、60Kbのプラスミドプロファイルを示した36株のうち、35株がSM、EM耐性株であったが、1株はSM、EM、CT耐性株であった。一方、ファージ型4のSE9株のうち5株が60Kbのプラスミドを単独で保有するものであり、他の3株は>250Kb、60Kb、1株は150Kb、60Kbのプラスミドを保有していた。60Kb単独のプラスミドプロファイルを示したSE5株のうち、4株がSM、EM耐性株であり、1株がEM耐性株であった。また、>250Kb、60Kbのプラスミドプロファイルを示したSE3株のうち、2株がSM、EM耐性株、1株がSM、EM、CT、C耐性株であった。これらの結果は、1989年に分離されたSEは主としてファージ型34、プラスミドプロファイル>250Kb、60Kb、そしてSM、EM耐性であったことを示していた。また、ファージ型34の株にも、プラスミドプロファイル、薬剤感受性が上記株と異なるものが認められ、さらに、ファージ型34、>250Kb、60Kbのプラスミドプロファイルを示す株の中にも薬剤感受性が異なるものが存在することが示された。一方、ファージ型4のSEではプラスミドプロファイル60Kb単独、SM、EM耐性という株が9株中4株と最も多く認められた。

1990年に入ると、1989年には比較的分離数が少なかったファージ型4、プラスミドプロファイル60Kb単独、SM、EM耐性のSEが主として分離されるようになり、前年に多数分離されたファージ型34、プラスミドプロファイル>250Kb、60Kb、SM、EM耐性のSEがそれに次いだ。また、それまで分離されなかったファージ型7のSEが1株分離された。

1991年、1992年は前2年と比較してSEの分離数は減少したが、分離されたSEはファージ型34、プラスミドプロファイル>250Kb、60Kb、SM、EM耐性、およびファージ型4、プラスミドプロファイル60Kb単独、SM、EM耐性という前年に多く分離されたものと同じタイプであった。

以上の結果は、秋田県において1989年以降、ファージ型34、プラスミドプロファイル>250Kb、60Kb、SM、EM耐性、およびファージ型4、プラスミドプロファイル60Kb単独、SM、EM耐性というSEによる多数の散発的感染者が発生したことを示していた。これらの株は1992年においても散発的感染者から分離され、感染者の発生は減少したものの、1992年においてもそれらのSEの侵淫が持続していることが確認された。また、ファージ型34、および4のSEの中にそれぞれプラスミドプロファイル、薬剤感受性の異なる株が認められたことから、

同一ファージ型のSEにも起源が異なるものが存在するものと考えられた。さらに、ファージ型、プラスミドプロファイルが同じSEの中に、薬剤感受性の異なる株も認められ、これらのSEもそれぞれ起源が異なるものと考えられた。

表3に1989年、および1990年に発生した食中毒事例から分離された計21株のSEのファージ型、プラスミドプ

ロファイル、薬剤感受性を示した。21株のSEのうち、9株がファージ型34、プラスミドプロファイル>250Kb、60Kb、SM、EM耐性、また、10株がファージ型4、プラスミドプロファイル60Kb単独、SM、EM耐性であり、散発事例において多数分離されたものと同一タイプのSEが食中毒事例においても分離されていたことが確認された。

表2 散発事例SE由来ファージ型、プラスミドプロファイル、薬剤感受性

分離年	ファージ型	分離数	プラスミドプロファイル	分離数	薬剤感受性	分離数
1986	2	1	≈80Kb, ≈2.2Kb	1	感受性	1
1989	3 4	4 0	>250Kb, ≈60Kb	3 7	SM, EM R	3 6
					SM, EM, CT R	1
			>250Kb	1	SM, EM R	1
			>250Kb, ≈90Kb, ≈60Kb	1	SM, EM R	1
			>250Kb, ≈60Kb, UD	1	SM, EM R	1
	4	9	>250Kb, ≈60Kb	3	SM, EM R	2
					SM, EM, CT, C R	1
			≈60Kb	5	SM, EM R	4
					EM R	1
			≈150Kb, ≈60Kb	1	SM, EM, TC, ST R	1
1990	3 4	1 2	>250Kb, ≈60Kb	1 1	SM, EM R	1 0
					SM, EM, CT, NA R	1
			≈60Kb	1	SM, EM R	1
	4	3 0	>250Kb, ≈60Kb	2	SM, EM R	2
			≈60Kb	2 7	SM, EM R	2 5
					EM R	2
			>90Kb, ≈60Kb, UD	1	SM, EM R	1
	7	1	250Kb, ≈90Kb, ≈60Kb	1	SM, EM R	1
	U T	1	>250Kb, ≈60Kb	1	SM, EM R	1
1991	3 4	1	>250Kb, ≈60Kb	1	SM, EM R	1
	4	1	≈60Kb	1	SM, EM R	1
1992	3 4	3	>250Kb, ≈60Kb	3	SM, EM R	3
	4	1	≈60Kb	1	SM, EM R	1
	1	1	≈60Kb, UD			

注) UT:Untypable, UD:Undetermined, R:Resistant

表3 食中毒患者由来SEのファージ型、プラスミドプロファイル、薬剤感受性

分離年	ファージ型	プラスミドプロファイル	薬剤感受性	分離数
1989	3 4	≈60Kb	SM, EM R	1
	4	≈60Kb	SM, EM R	1
1990	3 4	>250Kb, ≈60Kb	SM, EM R	9
	3 4	>250Kb, ≈60Kb	SM, EM, CT, C R	1
	4	≈60Kb	SM, EM R	9

表4 環境由来SEのファージ型、プラスミドプロファイル

分離年	由来	ファージ型	プラスミドプロファイル	分離数
1984	河川水	8	≈70Kb	1
1985	下水	3 4	≈70Kb, ≈4.5Kb, ≈2.5Kb	1
1986	河川水	8	≈70Kb	1
1987	下水	3 4	≈60Kb	1
1988	河川水	8	≈70Kb	1
1989	下水	3 4	≈60Kb	1
	下水	3 4	>250Kb, ≈60Kb	1

3. 環境由来SEのファージ型、プラスミドプロファイル

表IVに1984年から1989年の間に秋田市内の河川水、下水から分離したSEのファージ型、プラスミドプロファイルを示した。河川水から1984年、1986年、1988年に分離されたSE 3株は全てファージ型8であり、このファージ型のSEは散発事例や食中毒事例などのいずれからも分離されなかった。これに対して、下水から1985年、1987年、1989年に分離されたSE 4株は全てファージ型34であった。これらのファージ型34のSEのうち、1985年に分離されたSEのプラスミドプロファイルは、散発事例などから分離されたファージ型34のSEとは全く異なるものであった。一方、1987年に分離されたSE、および1989年に分離されたSEの1株は60Kb単独のプラスミドプロファイルを示すものであった。また、1989年に分離されたもう1株のSEは、>250Kb、60Kbのプラスミドプロファイルを示すものであった。これらの結果は、秋田市内の河川水に1984年から存在していたSEは、1989年以降に散発事例などから分離されたSEとは起源が異なるものであることを示唆していた。一方、秋田市内の下水には1985年に既にファージ型34のSEが存在していたが、このSEのプラスミドプロファイルは1989年以降に散発事例などから分離されたSEとは異なることが示され、1989年以降に散発事例などから分離されたSEと同一タイプのプラスミドプロファイルを示すSEは、1987年に初めて下水から分離されたことが明らかとなった。

今回の調査によって、秋田県内において1989年、および1990年に多発したSE感染事例は、主としてファージ型34、プラスミドプロファイル>250Kb、60Kb、SM、EM耐性、およびファージ型4、プラスミドプロファイル60Kb単独、SM、EM耐性という2つのタイプのSEを原因とするものであったが、ファージ型が34、もしくは4でありながら前記2タイプとはプラスミドプロファイル、薬剤感受性の異なるSEも原因となっていたことが明らかとなった。

これらのSEの起源が具体的に何であるかということとは、SE感染予防策を構築する上で極めて重要な知見であると考えられるが、具体的な感染源はいまだに明らかにされていない。今回の調査結果は、これらのSEの起源が、秋田市内の河川水に1984年から存在していた、在来型とも考えられる、ファージ型8のSEとは全く異なることを示唆していた。一方、散発事例から1989年、1990年に分離されたファージ型34、プラスミドプロファイル60Kb単独、およびファージ型34、プラスミドプロファイル>250Kb、60Kb、というSEが、秋田市内の下水から1987年に既に分離されていたことも明らかとなっ

たが、このことは1989年以降に多数の感染事例を惹起したSEは1989年に突然県内に侵淫したのではなく、1987年の時点で既に県内に侵淫していたことを示唆する事実として興味深い。

1989年に始まったSE感染の多発は1991年、1992年にかけて終息したかのように見えたが、1989年当時と同じファージ型、プラスミドプロファイル、薬剤感受性を示すSEが1992年にも散発事例から分離されている。このことは、これらのSEが県民の周辺から未だに払拭されていないことを示すものと考えられ、SE感染の発生の可能性を否定することは未だにできない。このため、今後も分離されたSEの疫学指標を検討することによりこれらのSEの動向を監視して行く必要があるものと考えられた。

IV 文 献

- 1) 森田盛大, 他. 県内におけるサルモネラ菌の生活環境内侵襲実態調査について (第1報), 秋田県衛生科学研究所報, 1976; 20: 37-39
- 2) 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, 1981; 25: 63-66
- 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, 秋田県衛生科学研究所報, 1986; 30: 57-61
- 4) 森田盛大, 他. 秋田県における *Salmonella* Serovar. Enteritidis の動向, 病原微生物検出情報, 1991; 12: 72
- 5) 中村明子, わが国の *S. Enteritidis* ファージ型分布 (1989, 1990), 病原微生物検出情報, 1991; 12: 118
- 6) 楠淳, 他. 集団発生由来 *Salmonella* Ser. Enteritidis の保有プラスミドとそのプロファイル, 感染症学雑誌, 1990; 64 (8): 1074
- 7) 樋口淑美, 他. 群馬県における *Salmonella* Ser. Enteritidis について, 群馬県衛公研年報, 1990; 22: 33-39
- 8) P. L. Macdonough et al., Clonal Groups of *Salmonella typhimurium* in New York State, J. Clin. Microbiol. 1989; 27: 622-627
- 9) F. Orskov et al., Summary of a Workshop on the Clone Concept in the Epidemiology, Taxonomy and Evolution of the Enterobacteriaceae and Other Bacteria, J. Infect. dis. 1983; 148: 346-357
- 10) J. G. Wells et al., Isolation of *Escherichia coli* Serotype O157: H7 and Other Shiga-like-Toxin Producing *E. coli* from Daily Cattle, J.

Clin. Microbiol. 1991 ; 29 : 985-989

- 11) 八柳潤, 他. 秋田県で分離された *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Enteritidis のプラスミドプロファイルについて (第1報), 秋田県衛生科学研究所報, 1992 ; 36 : 39-41