

広島市の下痢症患者由来サルモネラの 薬剤耐性状況と保有耐性遺伝子

生 物 科 学 部

はじめに

サルモネラなどの食中毒菌の薬剤耐性化と臨床との関わりが、近年改めて重要な食品微生物問題として浮上し、その影響評価が求められている。広島市においてもサルモネラは食中毒の主要原因菌であることから、本市で分離されるサルモネラ菌株についての現況を把握することを目的のひとつとして、従来から6薬剤に対する薬剤耐性傾向を調べている。今回、サルモネラの薬剤耐性に関する現状をより詳細に把握することを目的として、耐性遺伝子の保有状況を広島大学大学院食品衛生学教室と共同して調査したので報告する。

方 法

1 菌株

2001年～2004年に広島市において分離されたヒ

ト下痢症患者由来の薬剤耐性サルモネラ菌株131株を供試した。

2 薬剤感受性試験

アンピシリン(ABPC)、ストレプトマイシン(SM)、カナマイシン(KM)、ナリジクス酸(NA)、テトラサイクリン(TC)、クロラムフェニコール(CP)の6薬剤について、NCCLS法に準拠し、センシディスク(BBL)を用いたKB法により試験した。

3 薬剤耐性遺伝子解析

菌株の解析は、広島大学大学院生物圏科学研究科食品衛生学教室に依頼して行った。

(1) -ラクタマーゼ遺伝子(*bla*)検出

TEM, SHV, OXA, CTX-M, CMY, GESの各*bla*遺伝子群を個別のPCR法で増幅検出した。

(2) インテグロン(*int.*)検出

class1 および *class2int.*の有無を各*class*の保存領

表 広島市分離の薬剤耐性サルモネラ菌株の薬剤耐性試験および遺伝子解析結果

血清型	耐性パターン	株数	<i>bla</i> 遺伝子	インテグロン <i>class</i> (耐性遺伝子)
<i>S. Infantis</i>	SM/KM/TC/NA	1	(-)	<i>class 1(aadA1)</i>
	SM/KM/TC	6	(-)	<i>class 1(aadA1)</i>
	SM/TC	7	(-)	<i>class 1(aadA1)</i>
<i>S. Typhimurium</i>	SM/ABPC/TC/CP	2	(-)	<i>class 1(pse-1), class 1(aadA2)</i>
		1	CMY-2	<i>class 1(aadA7)</i>
	SM/ABPC/TC/CP/NA	1	OXA-30	<i>class 1(dfrX -orf-aadA2)</i>
	TC/KM	1	(-)	(-)
	NA	1	(-)	(-)
<i>S. Enteritidis</i>	SM/ABPC	36	TEM-1	<i>class 2(sat-sat1-aadA1)</i>
	SM	23	(-)	<i>class 2(sat-sat1-aadA1)</i>
	ABPC	14	TEM-1	<i>class 1(dfrA17-aadA5)</i>
		12	(-)	<i>class 1(dfrA17-aadA5)</i>
		1	TEM-1	<i>class 2(sat-sat1-aadA1)</i>
		1	TEM-1	(-)
	NA	5	(-)	(-)
	SM/ABPC/TC/NA/KM	1	TEM-1	<i>class 1(aadA1)</i>
	SM/ABPC/TC/CP	1	TEM-1	(-)
	ABPC/TC/KM	2	TEM-1	(-)
	SM/TC/KM	2	(-)	<i>class 2(sat-sat1-aadA1)</i>
SM/ABPC/TC	1	TEM-1	(-)	
<i>S. Paratyphi B</i>	SM/ABPC/TC/CP	1	(-)	<i>class 1(pse-1), class 1(aadA2)</i>

域に特異的な primer を用いた PCR 法で増幅検出した。

(3) 塩基配列解析

PCR 増幅 DNA の両鎖配列をダイレクトシーケンス法により決定し、薬剤耐性遺伝子とその並びを同定した。

結 果

1 ヒト下痢症由来サルモネラ分離株の薬剤耐性分離株数の多い *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Infantis* の主要耐性パターンは、*S. Enteritidis* は SM/ABPC, SM, ABPC, NA, *S. Typhimurium* は、SM/ABPC/TC/CP, *S. Infantis* は、SM/KM/TC, SM/TCであった。

2 薬剤耐性遺伝子の解析結果

本市分離 *S. Enteritidis* の解析では、SM/ABPC耐性 *S. Enteritidis* は TEM-1 型 *bla* 遺伝子 (*bla*_{TEM-1}) および新タイプの遺伝子 cassette が組み込まれた class 2 int. (*sat-sat1-aadA1*) を保有した¹⁾。ABPC 耐性 *S. Enteritidis* は *bla*_{TEM-1}(+)・class 1 int. (*dfrA17-aadA5*), あるいは *bla*(-)・class 1 int. (*dfrA17-aadA5*), *bla*_{TEM-1}(+)・class 2 int. (*sat-sat1-aadA1*), *bla*_{TEM-1}(+)・int.(-) の 4 種類, SM 耐性 *S. Enteritidis* は、*bla*(-)・class 2 int. (*sat-sat1-aadA1*), NA 耐性 *S. Enteritidis* は *bla*(-)・int.(-) であった。

S. Infantis は *bla*(-)・class 1 int. (*aadA1*), SM/ABPC/TC/CP 耐性 *S. T* は *bla*(-)・class 1 int. (*pse-1*)・class 1 int. (*aadA2*) と *bla*(-)・class 1 int. (*aadA7*) がみられた。

また、2002 年分離の SM/ABPC/TC/CP 耐性 *S. Paratyphi B* 1 株にも、SM/ABPC/TC/CP 耐性 *S. Typhimurium* が保有する class 1 int. (*pse-1*)・class 1 int. (*aadA2*) が認められ、この菌株はこれにより多剤耐性化していると考えられた。

以上の結果、ABPC/SM 耐性 *S. Enteritidis* と SM 耐性 *S. Enteritidis* は同様のインテグロンを保有しており、両者の耐性遺伝子に関する関連性が示唆され

るが、一方、ABPC 耐性 *S. Enteritidis* は、前 2 者とは異なるインテグロンを保有していることから、ABPC/SM 耐性 *S. Enteritidis* から SM 耐性因子が脱落した結果として派生したのではなく、異なる由来の SM 耐性菌が蔓延したことが推測される。

一方、多剤耐性 *S. Typhimurium* が保有することが知られるインテグロンが *S. Paratyphi B* で検出される²⁾など、この耐性因子の伝播を示唆する菌株も認められた。さらに TEM-1 型 *bla* 遺伝子とは異なる ESBL 型 *bla* 遺伝子 (CMY-2) の存在など、薬剤耐性遺伝子の解析によって、薬剤感受性試験のみでは把握することができない本市分離サルモネラの詳細な耐性様式に関する知見や疫学的情報が得られた。これらの視点から、薬剤耐性に関する継続的なサーベイランス的検査は重要である。

謝 辞

菌株を分離、分与していただきました広島市立舟入病院検査科をはじめとする各医療機関の諸先生方に深謝いたします。また、共同研究として、本市で分離された多くの菌株について、各種 *bla* 遺伝子およびインテグロン遺伝子の検出、ならびに薬剤耐性遺伝子カセットの塩基配列解析を実施して頂いた広島大学大学院生物圏科学研究科食品衛生学教室島本整助教授および大学院生の方々に対し感謝いたします。

文 献

- 1) Ashraf M. Ahmed et al : Molecular characterization of integrons in non-typhoid *Salmonella* serovars isolated in Japan: description of unusual class 2 integron, *J Antimicrobial Chemotherapy*, 55, 371 ~ 374(2005)
- 2) Ashraf M. Ahmed et al: Characterization of a multidrug-resistant isolate of *Salmonella Paratyphi B* from Japan, *J Antimicrobial Chemotherapy*, 56, 250 ~ 250a(2005)