

## 広島市で分離されたサルモネラ株の血清型別及び 薬剤耐性状況

清水 裕美子    千神 彩香    青田 達明    竹原 佑美  
池田 伸代    栗林 智早    田内 敦子\*1    井澤 麻由\*2  
京塚 明美    坂本 綾    松室 信宏

### はじめに

米国の試算では、サルモネラが最も経済的損失をもたらす病原体と考えられている。当所では広島市内で発生した下痢症の状況を把握するため、分離された菌株について疫学的な解析を続けてきた。

今回は2016年に分離されたサルモネラ菌株(チフス菌を除く)の血清型別及び薬剤感受性試験の結果について、その概要を報告するとともに、厚生労働科学研究「食品由来薬剤耐性菌の発生動向及び衛生対策に関する研究」の渡邊班地研グループに参加し、2015、2016年の当所保存菌株について統一プロトコルによる薬剤感受性検査を実施したので、その概要について報告する。

ループ薬剤感受性検査プロトコル<sup>1)</sup>に従い実施した。薬剤は、Sensi-Disc(BD)のABPC, CTX, GM, KM, IPM, NFLX, CPF, NA, ST, MEPM, CAZ, FOM, CP, CFX, AMK, SM, TC, CLの18薬剤を使用し、阻止円直径を計測、CL以外の薬剤はS(感性), I(中間), R(耐性)の判定を行った。

また、CLSIのESBL産生菌スクリーニング基準(阻止円直径CTX27mm以下, CAZ22mm以下)に該当する株についてはディスク法によるESBL産生確認試験<sup>2), 3)</sup>を実施し、CTX, CAZがRとなった1株はさらにディスク法によるメタロ-β-ラクタマーゼ産生, AmpC β-ラクタマーゼ産生の確認試験<sup>4)</sup>を実施し、陽性となった場合、β-ラクタマーゼ産生遺伝子を検出するPCR<sup>5)</sup>を実施した。

### 方 法

#### 1 2016年市内分離株検査

##### (1) 材料

2016年に市内医療機関で分離されたサルモネラ12株を供試した。

##### (2) 血清型別

市販のサルモネラ診断用免疫血清(デンカ生研)を用い、常法に従い血清型別を行った。

##### (3) 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験はSensi-Disc(BD)を用いた一濃度ディスク法で測定し、ABPC, SM, CP, TC, NA, KMの6薬剤についてCLSI法により実施した。

#### 2 渡邊班地研グループプロトコルによる薬剤感受性検査<sup>1)</sup>

##### (1) 材料

当所で保存されている2015年に市内医療機関で分離された29株, 食中毒患者由来1株, 食品由来6株(全て鶏肉)及び2016年に市内医療機関で分離された12株を用いた。

##### (2) 薬剤感受性試験及び耐性菌確認試験

CLSI ディスク拡散法に準拠した渡邊班地研グ

### 結 果

#### 1 2016年市内分離株検査

##### (1) サルモネラの0群分離状況

過去6年間の0群別分離株数を表1に示した。2016年は前年に比べ分離株数が12株と減少した。0群別では04群が6株, 2年間分離されなかった09群が3株, 07群が2株, 021群が1株であった。

6年間で多かったのは, 07群38株, 04群37株次いで08群17株, 09群14株であった。

##### (2) 血清型別検出状況

血清型別検出状況を表2に示した。分離された

表1 年別サルモネラ0群分離状況

0群	年別分離菌株数						計
	2011	2012	2013	2014	2015	2016	
04	5	4	3	8	11	6	37
06.8	0	0	0	1	0	0	1
07	7	4	9	5	11	2	38
08	4	3	4	1	5	0	17
09	8	1	2	0	0	3	14
021	0	0	0	0	0	1	1
0 UT	0	0	1	0	2	0	3
計	24	12	19	15	29	12	111

\*1: 現 健康福祉局保健部食品指導課

\*2: 現 健康福祉局保健部食肉衛生検査所

12株は8種類の血清型に分類された。内訳は *S. Enteritidis* が3株、次いで *Salmonella* sp. 及び *S. Saintpaul* が共に2株、その他の5血清型が各1株であった。2015年に分離された *S. Braenderup*, *S. Pakistan*, *S. Typhimurium* 等は分離されなかった。

(3) 薬剤耐性

血清型別薬剤耐性パターンを表3に示した。12株のうち7株が1剤以上に耐性であった。SM, TC, ABPC, NAの4剤耐性が *S. Enteritidis* の1株, SM, TC, ABPC, CPの4剤耐性が *Salmonella* sp. (04:i:-) で2株, SM, KM, TCの3剤耐性が *S. Schwarzengrund* で1株, KM, TC, ABPCの3剤耐性が *S. Minnesota* で1株, ABPC, NAの2剤耐性が *S. Enteritidis* の1株, TCのみ耐性が *S. Saintpaul* の1株であった。

2 渡邊班地研グループプロトコルによる薬剤感受性検査

図1, 2にヒト由来サルモネラ属の感受性率を示す。IPM, MEPM, GM, AMK, NFLXは食品由来も含めて全てSであった。検査数が2015年と2016年で差があるため一概に比較はできないが、ABPCは2015年に6.7%だったRが、2016年は *S. Enteritidis* 3株中2株がRとなるなどで、41.7%に増加した。また、TCのRは26.7%から50.0%に増加した。SMは2年間ともIまたはRが約半数を占め、CPFXはIが多かった。

表4に1薬剤以上にI又はRを示した株の血清型と感受性結果(全株がSであったIPM, MEPM, GM, AMK, NFLXを除く)を示す。1薬剤以上にI又はRを示した株が、食品由来株は6株全て、ヒト由来株では2015年は30株中19株(63.3%), 2016年は12株中8株(66.7%)であった。

2015年にCTXでCLSIのESBL産生菌スクリーニング基準に該当する株が5株(*S. Agona*,

*S. Saintpaul*, *S. Schwarzengrund*, *S. Stanley*, *Salmonella* sp. (01多価)各1株)あったが、ディスク法での確認試験の結果、ESBL産生菌ではなかった。

一方、2016年に分離された *S. Minnesota* は6剤に耐性を示す高度耐性株であった。CTX, CAZがRでCLSIのESBL産生菌スクリーニング基準に該当したため、ディスク法でESBL産生菌, メタロ-β-ラクタマーゼ産生菌, AmpC β-ラクタマーゼ産生菌の確認試験を実施した。その結果、ESBL, メタロ-β-ラクタマーゼ産生は陰性であったが、

表2 血清型別検出状況

血清型	分離菌株数	
	2015	2016
04 <i>S. Agona</i>	1	
<i>S. Saintpaul</i>	4	2
<i>S. Schwarzengrund</i>	1(1)	1
<i>Salmonella</i> sp. (04:i:-)	2	2
<i>S. Stanley</i>	1	1
<i>S. Typhimurium</i>	2	
07 <i>S. Braenderup</i>	4	
<i>S. Mikawasima</i>		1
<i>S. Rissen</i>	1	
<i>S. Thompson</i>	5	1
<i>S. Virchow</i>	1	
08 <i>S. Loanda</i>	1	
<i>S. Manhattan</i>	1	
<i>S. Pakistan</i>	3	
09 <i>S. Enteritidis</i>		3
021 <i>S. Minnesota</i>		1
0 UT <i>Salmonella</i> sp.		2
計	29(1)	12

( )内は食中毒患者由来株

表3 2016年血清型別薬剤耐性パターン

血清型	SM/TC/ ABPC/NA	SM/TC/ ABPC/CP	SM/KM/ TC	KM/TC/ ABPC	ABPC/ NA	TC	感受性	計
<i>S. Saintpaul</i>						1	1	2
<i>S. Schwarzengrund</i>			1					1
<i>S. Enteritidis</i>	1				1		1	3
<i>S. Minnesota</i>				1				1
<i>Salmonella</i> sp. (04:i:-)		2						2
その他							3	3
計	1	2	1	1	1	1	5	12

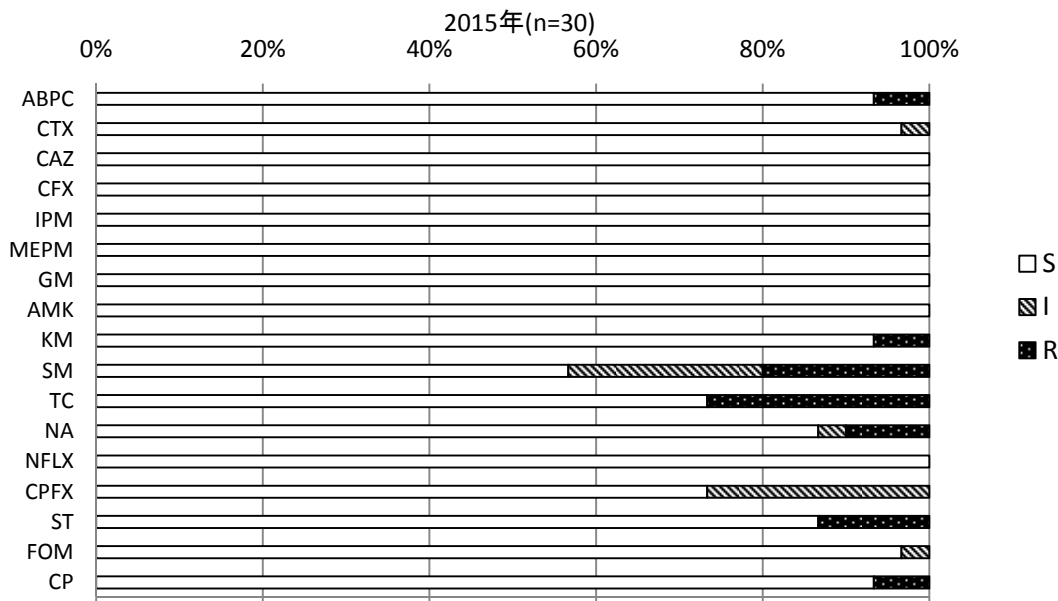


図1 2015年ヒト由来サルモネラ属薬剤感受性試験結果

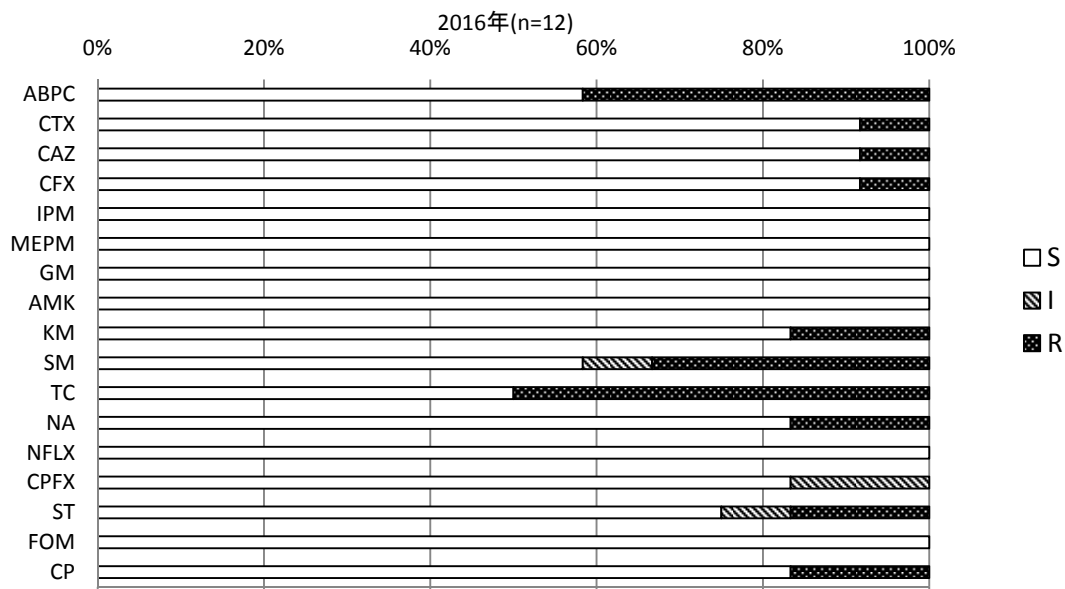


図2 2016年ヒト由来サルモネラ属薬剤感受性試験結果

AmpC β-ラクタマーゼ産生が陽性となり、PCRの結果プラスミド性の産生遺伝子の CIT 型であった。

謝 辞

この調査にご協力いただきました医療機関及び保健所の関係各位に対し、深謝いたします。

文 献

1) 四宮博人 他: 全国地方衛生研究所において分離される薬剤耐性菌の情報収集体制の構

築, 厚生労働科学研究費補助金(食品の安全確保推進事業)「食品由来薬剤耐性菌の発生动向及び衛生対策に関する研究」平成 28 年度総括・分担研究報告書, 27~39(2017)

2) Clinical and Laboratory Standards Institute(CLSI): Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 23th Informational Supplement M100-S23, Wayne, Pa, CLSI(2013)

3) 中村達也:ESBL 産生菌, 臨床と微生物, 42(増

- 刊号), 541~547(2015) plasmid-mediated AmpC  $\beta$ -lactamase genes  
in clinical isolates by using multiplex  
PCR, J Clin Microbiol, 40(6), 2153 ~  
2162(2002)
- 4) 中村達也: クラスC $\beta$ -ラクタマーゼ産生菌,  
臨床と微生物, 42(増刊号), 548~552(2015)
- 5) Pérez-Pérez FJ et al. : Detection of

表4 耐性株血清型及び感受性結果

			A	C	C	C	K	S	T	N	C	S	F	C	
抗原	血清型		B	T	A	F	M	M	C	A	P	T	O	P	
			P	X	Z	X					F		M		
			C								X				
ヒト由来 2015	4	Agona	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	
	4	Saintpaul	S	I	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	
	4	Saintpaul	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	
	4	<i>Salmonella</i> sp.	R	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	R	
	4	<i>Salmonella</i> sp.	R	S	S	S	S	R	R	I	I	R	S	R	
	4	Schwarzengrund	S	S	S	S	R	R	R	S	S	R	S	S	
	4	Schwarzengrund	S	S	S	S	R	R	R	R	I	R	S	S	
	4	Stanley	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S	
	4	Typhimurium	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	
	4	Typhimurium	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	
	7	Braenderup	S	S	S	S	S	I	S	S	I	S	S	S	
	7	Thompson	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	
	7	Thompson	S	S	S	S	S	I	S	S	I	S	S	S	
	7	Virchow	S	S	S	S	S	S	S	R	I	S	S	S	
	8	Loanda	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	
	8	Manhattan	S	S	S	S	S	R	R	R	I	S	S	S	
	8	Pakistan	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	
	8	Pakistan	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	
	01 多価		<i>Salmonella</i> sp.	S	S	S	S	S	S	S	S	I	S	S	S
	2016	4	Saintpaul	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
4		<i>Salmonella</i> sp.	R	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	R	
4		<i>Salmonella</i> sp.	R	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	R	
4		Schwarzengrund	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	
7		Thompson	S	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S	S	
9		Enteritidis	R	S	S	S	S	R	R	R	I	I	S	S	
9		Enteritidis	R	S	S	S	S	S	S	R	I	S	S	S	
21		Minnesota	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	
食品由来 2015		4	Schwarzengrund	S	S	S	S	S	I	R	S	S	S	S	S
	4	Schwarzengrund	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	
	4	Schwarzengrund	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	
	4	Schwarzengrund	S	S	S	S	R	R	R	S	S	R	S	S	
	4	Schwarzengrund	R	S	S	S	R	R	R	R	I	R	S	R	
	7	Infantis	S	S	S	S	R	R	R	S	S	R	S	S	