

Salmonella Typhimurium DT104 とわが国の現状について

鮫島俊哉 (農水省家畜衛生試験場)

緒言

多剤耐性*Salmonella enterica* serotype Typhimurium (S.Typhimurium) フェージ型104 (DT104) は1990年代に入り英国、北米など欧米諸国を中心に新たなゾーノシス病原体として問題化している¹⁾。その感染源のひとつとして牛の関与が指摘されているが、欧米諸国以外の世界的な分布状況についての報告は少ない^{1,2,5)}。日本国内においては既にDT104による食中毒事例について報告があり、公衆衛生の見地から問題とされているが、家畜における分布状況については明らかにされていない^{3,4)}。畜産の領域ではこれまでS.Typhimuriumは一般に子牛の下痢症の起原菌として認識されていたが、1990年代に入り成牛に重篤な下痢を引き起こし、ときに高い致死率を示す成牛型サルモネラ症が多発するようになり、最近では牛のサルモネラ症からの分離血清型の大半をS.Typhimuriumが占めている。そこで、本研究では1973年から1998年までに日本国内で分離された主に牛由来のS.Typhimuriumについて薬剤感受性状況を調べ、DT104に特徴的な耐性型を示す菌株についてフェージ型別を実施することにより国内におけるDT104の分布状況を調査した。

材料と方法

供試菌株として1973年から1998年の間に全国の家畜保健衛生所において分離されたS.Typhimurium 144株を使用した。その内訳は牛由来株125株、家禽由来株9株、そして環境由来株10株(畜舎6, 飼槽3, 塵埃1)であった。薬剤感受性試験は日本化学療法学会標準法に従って、寒天平板希釈法によりMICを測定した。抗菌薬として、アンピシ

リン(ABPC)、クロラムフェニコール(CP)、ストレプトマシン(SM)、テトラサイクリン(TC)、カナマイシン(KM)、スルファメトキサゾール(SMTZ)、トリメトプリム(TMP)、ナリジクス酸(NA)、ノルフロキサシン(NFLX)の9種について検討した。薬剤感受性試験の結果、DT104に特徴的なABPC、CP、TC、SM、SMTZを含む5剤耐性以上(ABPC・CP・TC・SM・SMTZ+)を示す菌株については、国立感染症研究所に依頼してフェージ型別を実施した。また、ABPC・CP・TC・SM・SMTZ+株についてはO5抗原の存在を調べることにより、O5抗原を欠くCopenhagen抗原型の比率についても検討した。さらにDT104は当初の報告では90kbの病原プラスミド単独保有がその特徴であると考えられていたが⁶⁾、近年の報告では複数のプラスミドを保有するとの報告もあることから¹⁾、プラスミドの保有状況についても検討を加えた。プラスミドプロフィール検査は関崎の変法に従って実施し⁷⁾、0.8%アガロースゲル上で電気泳動を行うことによりその保有状況を調べた。

結果

薬剤感受性試験の結果、S.Typhimurium 144株はNFLXには全株高い感受性を示したが、他の8薬剤について22の薬剤耐性型に分類され、4剤耐性以上の多剤耐性を示す菌株が108株(75%)であった(表1)。うち68株(47.2%)はABPC・CP・TC・SM・SMTZ+であり、牛由来株ではABPC・CP・TC・SM・SMTZ、さらにKMが付加したABPC・CP・TC・SM・SMTZ・KMが優勢であった。さらにそのABPC・CP・TC・SM・SMTZ+ 68株についてフェージ型別を実施した結果、36株(52.9%)がDT104に型別された(表2)。今回の供試菌株の中

表1 家畜およびその環境由来S.Typhimuriumの薬剤耐性型の分布 (1973-1998)

耐性型	牛	家禽	環境	計
ABPC, CP, SM, SA, TC, KM, TMP	1			1
ABPC, CP, SM, SA, TC, KM, NA	4			4
ABPC, CP, SM, SA, TC, TMP, NA	1			1
ABPC, CP, SM, SA, TC, TMP		1		1
ABPC, CP, SM, SA, TC, KM	18	1		19
ABPC, CP, SM, SA, TC	38	1	3	42
ABPC, SM, SA, TC, KM, NA	2			2
ABPC, CP, SA, TC, KM	3			3
ABPC, SM, SA, TC, KM	7	1	1	9
ABPC, CP, SM, SA	9		1	10
ABPC, SM, SA, TC	14		1	15
CP, SM, SA, TC	1			1
その他	27	5	4	36
total	125	9	10	144

表2 多剤耐性S.Typhimurium DT104株の分布状況

由来	1981-1990		1991-1998		total	
	ファージ 型別株	DT104	ファージ 型別株	DT104	ファージ 型別株	DT104
牛	13	0	49	31	62	31
家禽	1	1	2	1	3	2
環境			3	3	3	3
計	14	1	54	35	68	36

でDT104と型別された最も古い菌株は1990年の家禽由来株であり、TMP耐性が付加したABPC・CP・TC・SM・SMTZ・TMPと非定型的な耐性型であった。もう1株の1996年に牛から分離されたABPC・CP・TC・SM・SMTZ・KM株を除くと36株中34株(94.4%)がDT104に特徴的な耐性型ABPC・CP・TC・SM・SMTZであった。牛のサルモネラ症は表2に示すように1990年代に入ってその発生が急増している。一方、DT104の分離状況を見ると1980年以前にはABPC・CP・TC・SM・SMTZは全く分離されておらず、1981年から1990年に分離された牛由来ABPC・CP・TC・SM・SMTZもDT104ではなかったのに対して、1991年から1998年の分離株についてはABPC・CP・TC・SM・SMTZ 49株中31株(63.3%)がDT104であったことから、1990年代に入ってDT104が国内の牛に広く分布していることが認められた。

また、ABPC・CP・TC・SM・SMTZ+の68株についてO5抗原の保有率を調べた結果、DT104の22.2% (8/36)、非DT104株の18.8% (6/32)がO5抗原を欠いており、DT104におけるCopenhagen抗原型の遍在はみられなかった。

DT104のプラスミドの保有状況については36株全てが90kbの病原性プラスミドを保有していた(図1)。また、36株中16株(44.4%)は90kbの単独保有であったが、残りの20株は2~4kbの小プラ

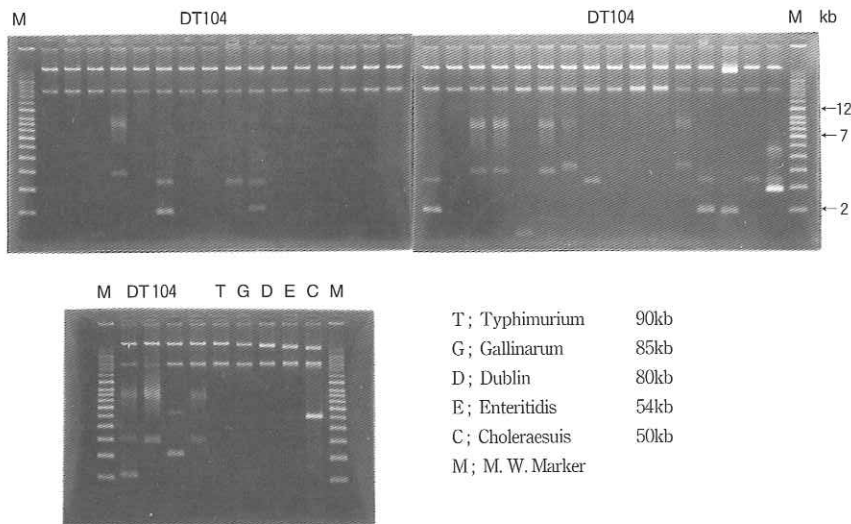


図1 S. Typhimurium DT104のプラスミドプロフィール

スミドを1～2本保有していた。当初の報告ではDT104は90kb単独保有がその特徴であると考えられていたが、今回得られた傾向は米国での報告に類似したものであった¹⁾。

考 察

以上の結果から、欧米各国と同様に1990年代初頭には既に日本の家畜においてもDT104が存在しており、現在では全国に広く分布していることが明らかになった。その発生状況からみて成牛型サルモネラ症の急増とほぼ時期が同じであり興味深い。現在成牛型サルモネラ症については牛の育種上の生理的変化、飼養形態の変化などが主な発生要因であると考えられているが、今後DT104との相関についても検討が必要であろう。また、DT104の薬剤耐性型は特徴的なABPC・CP・TC・SM・SMTZが大半を占めていたが、TMP耐性付加株1株、KM耐性付加株1株も同時に分離された。このABPC・CP・TC・SM・SMTZ・TMPは既に英国において確認されているが、今回の分離株との疫学的相関については不明であった。ABPC・CP・TC・SM・SMTZ・KMについては諸外国ではほとんど分離されていないが、国内では分離例があることから国内におけるカナマイシンの使用状況との関連が示唆された。DT104のプラスミド保有状況は、全ての株が90kbの病原プラスミドを保有していたが、それに加えて複数の小プラスミドを保有する菌株も多くみられた。S.TyphimuriumのCopenhagen抗原型については、最近、畜産物を介したDT104感染症の報告があったことから調査したが、とくにDT104に遍在してはいなかった。しかし、本来はハトに宿主適応性が高いと考えられていたCopenhagen抗原型が牛のS.Typhimuriumにおいても2割程度存在することは興味深い結果であった。

諸外国の現状からみてもこれからDT104は家畜衛生、公衆衛生の両面において十分に注意を払う必要があるサルモネラであるが、幸い日本ではS.Typhimuriumによる食中毒は比較的少なく、今回の薬剤感受性試験においてもNFLXに高い感受性を示したことから早期の対策により効果的な防疫が可能であると考えられた。

謝 辞

本調査を実施するにあたり、ご協力いただいた全国の家畜保健衛生所の関係各位に深く謝意を表す。

要 約

本研究では国内の家畜における多剤耐性*Salmonella* Typhimuriumファージ型104(DT104)の浸潤状況について検討した。1973年から1998年にかけて国内で分離された主に牛由来株144株についてアンピシリン、クロラムフェニコール、ストレプトマシン、スルファメトキサゾール、テトラサイクリン、カナマイシン、トリメトプリム、ナリジクス酸、ノルフロキサシンの9種の抗菌薬について薬剤感受性試験を実施した結果、144株中68株がDT104に特徴的なABPC・CP・TC・SM・SMTZを含む5剤耐性以上を示した。それら68株についてファージ型別を実施した結果、うち36株がDT104と型別された。DT104 36株は全て90kbの病原性プラスミドを保有しており、なかには2～4 kbの小プラスミド保有株も多くみられた。以上の結果から、DT104は1990年代に入って国内の牛に広く分布していることが明らかになった。

文 献

- 1) Besser, T. E., Gay, C. C., Gay, J. M., et. al.: Salmonellosis associated with S.Typhimurium DT104 in the USA. *Vet. Rec.*, 140, 75(1997)
- 2) Hollinger, K., Wray, C., Evans, S., et. al.: *Salmonella* Typhimurium DT104 in cattle in Great Britain. *JAVMA*, 213, 1732-1733(1998)
- 3) Izumiya H., Tamura K., Terajima J. et. al.: *Salmonella enterica* serovar. Typhimurium phage type DT104 and other multi-drug resistant strains in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 52, 133(1999).
- 4) 松下 秀, 小西典子, 有松真保ら: 散发事例由来 *Salmonella* serovar Typhimuriumの薬剤耐性と definitive type 104の出現状況. *感染症学雑誌* 73(11), 1087-1094(1999).

- 5) Poppe, C., Smart, N., Khakhria, R., et. al.: *Salmonella* Typhimurium DT104: A virulent and drugresistant pathogen. *Can. Vet. J.*, 39, 559-565(1998)
- 6) Threlfall, E. J., Frost, J. A., Ward, L. R., et. al.: Epidemic in cattle and humans of *Salmonella typhimurium* DT 104 with chromosomally integrated multiple drug resistance. *Vet. Rec.*, 134, 577(1994).
- 7) 内田郁夫: 細菌からのDNA抽出方法, アニマルバイオテクノロジー, 関崎 勉, 小松正憲, 杉本千尋ら編, 43-47(1995)チクサン出版社, 東京

Salmonella Typhimurium DT104 from Livestock in Japan

Toshiya SAMESHIMA

National Institute of Animal Health, 3-1-1 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki, 305-0856, Japan

We examined the distribution of multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Typhimurium definitive phage type 104 (DT104) among Japanese livestock from 1973 to 1998. The 144 isolates of *S. Typhimurium* from field were tested for susceptibility to ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulfamethoxazole, tetracycline, kanamycin, trimethoprim, nalidixic acid and norfloxacin. Then 36 of 68 strains which exhibited resistance to five or more antimicrobials were identified as DT104. Results of plasmid profiling showed that all DT104 strains retain a 90kb virulence plasmid and 20 of 36 strains possessed a few additional small plasmids ranging from 2 to 4kb. These results showed that DT104 strains had already existed in Japanese livestock in 1990, and that this phage type may be an important pathogen for cattle in Japan.

討 論(座長: 佐藤静夫, 全農家畜衛研)

質問(藤倉孝夫, 元WHO/CDS/VPH)

同じ現場(農場)で牛からもヒトからも同時に *S. Typhimurium* DT104が分離された例があるか。

答(鮫島俊哉)

国内ではまだDT104による感染事例の疫学解析が進んでいないため、農場における牛とヒトとの同時感染事例は明らかになっていない。しかし、欧米では90年代以降の牛、ヒト双方でのDT104の増加傾向から両者の間の疫学的相関を指摘する報告が多く、農場における接触感染例も知られている。

質問(吉村治郎, 農水省動薬検)

DT104はニューキノロンに高い感受性があったと報告されたが、ニューキノロンは耐性が少しずつしか上

昇しないことから、低感受性株が出現しているか否かが重要視されている。その指標としてナリジクス酸耐性を用いることをWHOも提案しているが、ナリジクス酸耐性(MIC $100\mu\text{g/ml}$ 以上)の株が分離できたかデータがあればお教え願いたい。

答(鮫島俊哉)

今回DT104と同定された36株は全てナリジクス酸感受性であった。DT104以外の108株ではうち9株(8.3%)がナリジクス酸耐性(MIC $\geq 100\mu\text{g/ml}$)であり、それら9株ではご指摘の通りニューキノロン系薬剤に対するMICも相対的に高く、感受性が低下していると考えられた。

質問(片岡 康, 日獣大)