

千葉県内の患者および保菌者より分離されたサルモネラ菌の薬剤耐性とR因子保有状況

Ⅰ-1970年~1976年分離株について

内村真佐子*, 佐々木熙夫**, 七山 悠三*

I 緒 言

過去、日本では、赤痢が重要な腸内細菌性疾患であり、赤痢菌の薬剤耐性やその疫学に関する多くの研究がなされた¹⁻²⁾。一方、サルモネラは、欧米に比べあまり注目されなかった³⁾。しかし近年、食生活の変化などに伴って、サルモネラ菌による食中毒や下痢症が多数報告されるようになり、本菌による食品、環境汚染⁵⁻⁷⁾の問題と共に、その薬剤耐性に関する調査研究も行われている⁶⁾。

われわれは、1970年から1976年に、千葉県内の患者及び保菌者から分離され、当研究所に送付されたサルモネラ菌について、薬剤耐性とR因子の保有状況について調査したので報告する。

II 材料及び方法

1) 菌株 1970年から1976年に、患者及び保菌者から分離されたサルモネラ菌284株を被検菌とした。送付された菌株は、ドリガルスキー改良培地で純培養後、ドルセット卵培地で5-8℃保存をした。R因子検出の recipient として、大腸菌K-12 ML-1410 (NA^r: nalidixic acid 耐性)を用いた。

2) 培地 液体培養には、heart infusion broth (HIB-栄研)を用いた。耐性検査用には、heart infusion agar (HIA-栄研)を用い、R因子検出用培地には、ドリガルスキー改良培地(栄研)を用いた。サルファ剤に対する耐性検査及びR因子検出用培地には、感性ディスク用培地(ニッスイ)を用いた。

3) 薬剤 耐性検査及びR因子検出に用いた薬剤は、chloramphenicol (CM), tetracyclin (TC), kanamycin (KM), dihydrostreptomycin (SM), aminobenzyl-penicillin (ABPC), z-sulfanilamido-3'-methoxy-pirazine (SA), nalidixic acid (NA), cephaloridin (CER) 及びgentamicin (GM) である。

4) 耐性値の測定 耐性検査は、化学療法学会標準法による平板希釈法で行った。耐性値は、MAC 値(最大発育許容濃度)を用い、MAC 値が、TC, SM, CM,

KM, ABPC, CER, GM, に対しては、12.5 μ g/ml以上、SA に対しては400 μ g/ml以上の菌を耐性菌とした。

表1 耐性サルモネラ菌分離頻度 (1970~1976年)

薬 剤	耐 性 菌 数	(%)
TC	81	(28.5)
SM	67	(23.6)
SA	53	(18.7)
CM	10	(3.5)
KM	28	(9.9)
ABPC	5	(1.8)
CER	3	(1.1)
GM	0	(0)

5) R因子の検出 donor としてサルモネラ菌, recipient として大腸菌ML-1410株をそれぞれHIBに16-18時間培養し、その0.1mlずつを3mlの新鮮HIBに接種、更に1夜静置培養した。その1白金耳をNA及び選択薬剤加平板に塗抹し、R因子の伝達を受けたML-1410株を選択した。R因子伝達 ML-1410株については、NA 加各種薬剤加平板を用いて、耐性型を確認した。R因子伝達に用いた薬剤濃度は、NA -25 μ g/ml, SA-200 μ g/ml TC, SM, CM, KM, ABPCの5剤は12.5 μ g/mlである。

III 結 果

1) 耐性菌の分離頻度 TC 耐性菌が最も多く(28.5%)、次いでSM耐性(23.6%) SA耐性(18.7%)の順であった。(表1) KM耐性菌は、1972年に始めて分離されたが、9.9%と比較的高い分離頻度を示した。CM 耐性菌は3.5%、ABPC耐性菌は1.8%であった。CER耐性菌は3株あり、MAC 値はいずれも12.5 μ g/mlで、R因子由来ABPC 耐性菌であった。GM 耐性菌は、分離されなかった。耐性菌は93株(32.7%)であった。

2) 耐性型とR因子保有率 分離されたサルモネラ菌の耐性型の年次別推移とR因子の保有率を示したのが表2である。1973年迄は、TC, SM, SA 3剤耐性菌が主流であったがそれ以後、CM 又はKM 耐性が加わった4剤あるいは5剤耐性菌が増加し、1975年には、更にABPC 耐性を加えた6剤耐性菌が分離された。R因子の保有率は、1剤耐性菌で低く、TC 耐性菌61.5%、SM 耐

* 千葉県衛生研究所

** 千葉県茂原保健所

(1978年2月18日受理)

表2 サルモネラ菌の耐性型とR因子保有率

薬剤耐性型	耐性菌株数								R因子保有率		
	1970	1971	1972	1973	1974	1975	1976	合計	(%)	合計(%)	
1 剤耐性											
TC	2	1	2	3	3	2		13	61.5		
SM				1			4	7	0		
SA						1	1	2	0		
KM				1				1	100	39.1	
2 剤耐性											
TC, SM		1	1			2	2	6	66.7		
SM, SA			1					1	0		
TC, KM			1	5	2		1	9	100	81.3	
3 剤耐性											
TC, SM, SA	3	5	5	9	6			28	100		
TC, SM, KM					1			1	100		
TC, SA, KM							1	1	100		
SM, SA, KM					1			1	100		
TC, SM, ABPC						2		2	100	100	
4 剤耐性											
TC, SM, CM, SA		1		1		2	2	6	100		
TC, SM, SA, KM				3	1	5	1	10	100		
TC, SM, KM, ABPC							1	1	100	100	
5 剤耐性											
TC, SM, SA, CM, KM				1	1			2	100	100	
6 剤耐性 TC, SM											
CM, SA, KM, ABPC						1	1	2	100	100	
								93			

性菌 0%, SA 耐性菌 0%であった。KM耐性菌は 1 株あり、R 因子を有していた。2 剤耐性菌の R 因子保有率は 81.3%, 3 剤耐性菌 100%, 4 剤, 5 剤, 6 剤耐性菌 100%であった。

3) 血清型と薬剤耐性 分離されたサルモネラ菌は、40菌型で、15菌型にのみ耐性菌が分離された。(表3) 耐性菌の中で、S. typhimurium の占める割合は68.8%と最も高く、他の菌型の耐性率は低かった。今回、耐性チフス菌は 1 株も分離されなかった⁸⁾。

IV 考察及び結論

1970~1976年に千葉県内の患者及び保菌者から分離したサルモネラ菌 284 株について、薬剤耐性及びR因子保有状況について調査した結果、耐性菌は93株 (32.7%) で、TC 耐性菌が最も多く (28.5%), 次いで SM耐性菌 (23.6%), SA 耐性菌 (18.7%) であった。CM耐性菌は 3.5%で、赤痢菌の薬剤耐性とは、やはり違った結果であった。KM耐性菌は 9.9%, ABPC耐性菌は1.8%であった。R 因子保有率は、単剤耐性菌は39.1%で、多剤耐性菌はほぼ 100%という結果が得られた。3 株の CE

表3 サルモネラ菌の血清型分離頻度 (1970~1976年)

O群	血清型	耐性菌数 (%)
B	S. typhimurium	64 (68.8)
	S. brandenburg	1 (1.0)
	S. heidelberg	1 (1.0)
	S. derby	1 (1.0)
	S. saintpaul	1 (1.0)
	S. bredeney	1 (1.0)
C 1	S. infantis	6 (6.4)
	S. thompson	2 (2.1)
	S. choleraesuis	1 (1.0)
C 2	S. litchfield	3 (3.2)
D 1	S. panama	6 (6.4)
	S. enteritidis	3 (3.2)
E 1	S. give	1 (1.0)
	S. london	1 (1.0)
F	S. bouso	1 (1.0)

R 耐性株は、すべて、R 因子保有 ABPC 耐性菌であったので、CER に対する耐性発現は、R 因子由来 penicillinase によるものと思われる¹⁰⁾。KM, ABPC 耐性が、TC, SM, SA の 1~3 剤耐性菌の R 因子の中に組み込まれて 4~6 剤耐性菌として現われている結果から、今後、KM, ABPC 耐性を有する多剤耐性 R 因子保有菌

が増加していく事が予想される。サルモネラ症の治療には、現在主に CM, ABPC が用いられている⁴⁾が、これらの薬剤に対する耐性株が増加している事が明らかになった。今後、細菌感染症の予防及び治療のため多剤耐性化の動向を把握してゆく必要があると思われる。

終りに臨み、本調査に使用した薬剤を分与して下さった、協和酸酵工業株式会社、明治製菓株式会社、シオノギ製薬株式会社、武田薬品工業株式会社に感謝いたします。

V 文 献

- 1) 薬剤耐性赤痢研究会：赤痢菌の薬剤耐性及び流行菌型，日本医事新報，2151，8-13，1965.
- 2) 田中徳満：赤痢菌の薬剤耐性とR因子の分布，感染症学雑誌，50(1)，18-27，1976.
- 3) 三橋進：薬剤耐性，65-70，朝倉書店(東京)，1973.
- 4) 本廣孝：サルモネラ感染症，小児科臨床，29(12)，138-141，1976.
- 5) 芦田博之他：埼玉県におけるサルモネラによる環境汚染，埼玉県衛生研究所年報，10，35-41，1976.
- 6) 後藤功：Salmonella の生態学的研究(第1報)，日本公衛誌，19(1)，33-42，1972.
- 7) 後藤功：Salmonella の生態学的研究(第2報) - 河川，し尿消化槽，し尿浄化槽，人から分離した Salmonella -，日本公衛誌，20(1)，29-36，1973.
- 8) 中谷林太郎：薬剤耐性，81-84，講談社(東京)，1976.
- 9) Tokumitsu Tanaka et al : Drug Resistance and Distribution of R Factor in Salmonella Strains. Antimicrob. Ag. Chemother. 9 (1) 61-64, 1976.
- 10) Tetsuo Sawai et al : Variant of Penicillinase Mediated by an R Factor in Escherichia coli. J. Bacteriol., 104(2) : 620-629, 1970.