

札幌市内で分離されたサルモネラにおける ヒト由来株と環境由来株の関連性について

Relation between *Salmonella* from Human and Environment in Sapporo City

鈴木 欣哉 小林 豊 小野 准子 吉田 靖宏
横田 秀幸 大森 茂 清水 良夫 岡田 隆幸
高杉 信男

Kin-ya Suzuki, Takeshi Kobayashi, Noriko Ono,
Yasuhiro Yoshida, Hideyuki Yokota, Shigeru Ohmori,
Yoshio Shimizu, Takayuki Okada and Nobuo Takasugi

昭和58年4月から63年3月までの5年間に札幌市内で分離されたヒト由来サルモネラ385株と環境由来857株について、血清型別と薬剤感受性試験を行い、両由来の関連性を検討した。その結果、血清型別分離頻度、薬剤別耐性率、血清型別耐性率、血清型別薬剤耐性パターンの各項目において強い関連性が認められた。両由来の共通血清型は39種類であったが、これらは分離株の90%以上と大多数を占め、経時的な関連性もヒト由来株の75.6%に認められた。環境調査によって、ヒトのサルモネラ症の実態把握と流行予測が可能になることを明らかにした。

1. 緒 言

昭和58~62年度の5年間に、札幌市内で発生したサルモネラによる集団食中毒事例は5件で、合計患者数は453名と大型化傾向にある。また、同時期に市内医療機関で検出され、当所に報告されたサルモネラは579株で、散発下痢症患者の重要な病原菌となっている。集団発生事例だけでなく、これらの潜在的なサルモネラ症の実態を把握することは疫学上重要である。

一方、サルモネラは河川・下水等の自然環境中からも高頻度で検出され、当所においても市内に観測定点を設けて定期的な調査を行ってきた¹⁾。

そこで、我々は、札幌市内で分離された最近5年間のヒト及び環境由来サルモネラの血清型別と薬剤感受性試験の成績を基にして、ヒト由来株と環境由来株の間には強い関連性があり、環境調査によって

ヒトのサルモネラ症の実態を把握できることを明らかにしたので報告する。

2. 材料及び方法

2-1 供試菌株

昭和58年4月から63年3月までの5年間に、当所及び市内医療機関で分離されたヒト由来サルモネラ385株と、下水・河川等環境由来857株の合計1,242株を用いた。ヒト由来株の内訳は海外旅行者62株、集団食中毒患者74株、散発下痢症患者及び保菌者249株である。環境由来株は下水処理場流入水761株、河川・排水路水84株、その他の材料12株である。なお下水処理場流入水は市内4カ所の処理場から毎月1回、河川・排水路水は延べ26地点を隔月で採水した。

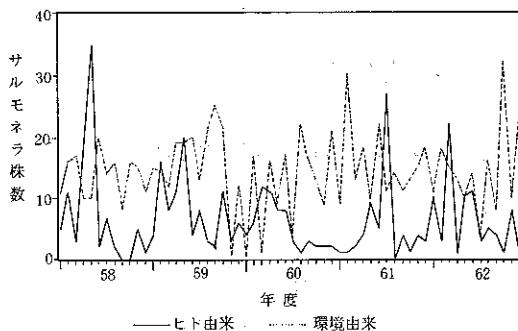


図1 サルモネラの月別分離株数

2-2 分離・同定法

便については既報¹⁾と同様に増菌培地はS B Gスルファを、分離培地はS S及びS SKを用いた。環境材料のうち、下水は試料を原液あるいは希釀して、河川・排水路水は孔径0.45 μmのメンブラン・フィルターで済過後のフィルターを増菌培地(S B Gスルファ及びセレナイト)に入れて培養後、分離培地に塗抹した。分離されたサルモネラは微生物検査必携²⁾に準拠して同定し、市販のサルモネラ診断用免疫血清(デンカ生研)を用いて血清型別を行った。市内医療機関から分与された211株については血清型別を行った。

2-3 薬剤感受性試験

サルモネラの薬剤感受性試験は昭和ディスクによる一濃度ディスク法で行い、培地は感性ディスク用培地N(日本製薬)を用いた。使用した薬剤はストレプトマイシン(SM), クロラムフェニコール(CP), テトラサイクリン(TC), カナマイシン(KM), アミノベンジルペニシリン(ABPC), サルファ剤(SA), ナリジクス酸(NA), セファレキシン(CEX)の8薬剤である。感受性判定区分のマイナスの株を薬剤耐性のサルモネラとした。

3. 結 果

3-1 月別分離株数

調査に用いたサルモネラ1,242株の月別分離株数

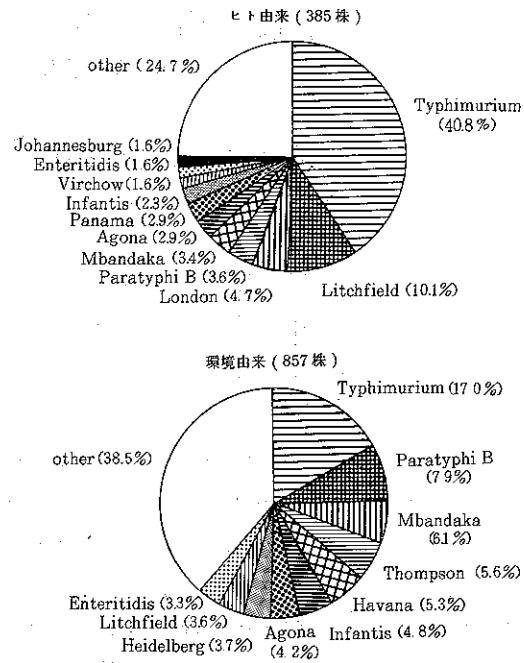


図2 サルモネラの血清型別分離頻度

を図1に示した。ヒト由来株は集団食中毒の発生に伴って、各年度とも夏期(4月～9月)の分離株数が多くなったが、海外旅行者や散発下痢症患者からは冬期(10月～3月)にも分離された。ヒト由来株の夏期と冬期の分離株数比はほぼ2:1であった。

一方、環境由来株は季節変動がなく常時検出され、夏期と冬期の株数比は1:1となった。

3-2 血清型別分離頻度

ヒト及び環境由来サルモネラの主要血清型とその分離頻度を図2に示した。ヒト由来株では全ての年度でTyphimuriumが首位の座を占め、分離頻度は40.8%と他を圧倒した。2位はLitchfieldの10.8%で、その他の血清型は5%未満であった。この期間のサルモネラによる集団食中毒の発生は5件あり、その血清型はTyphimurium(58年度2件、62年度1件), Litchfield(61年度), London(62年度)であった。

環境由来株もヒト由来と同様に各年度ともTyphimuriumが首位となった。2位から10位まで

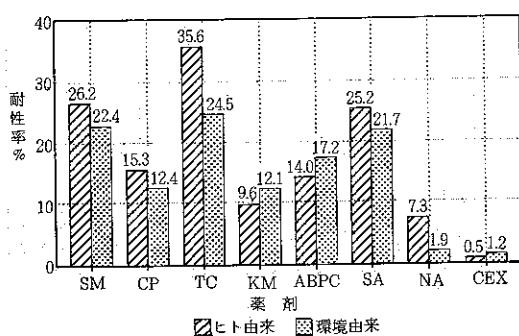


図3 サルモネラの薬剤別耐性率

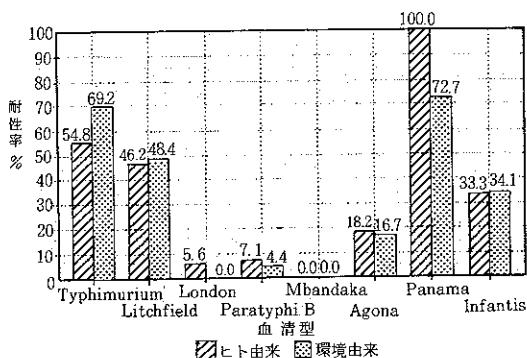


図4 サルモネラの血清型別耐性率

表1 サルモネラの血清型別薬剤耐性パターン

血清型	由来	薬剤耐性株	薬剤耐性パターン												その他					
			S	C	T	K	P	A	S	C	T	S	T	P	A	T	K	P	X	
Typhimurium	ヒト	86	2	21	10	5	1			3	16	5	19			4				
	環境	101		52	4	10				1	8	2	10			14				
Litchfield	ヒト	18							3	10						4			1	
	環境	15							2	5						5			3	
Panama	ヒト	11								1		10								3
	環境	8			2							3								
Infantis	ヒト	3			1								1					2		3
	環境	14			3												7			

(S : SM, C : CP, T : TC, K : KM, P : ABPC, A : SA, N : NA, X : CEX)

の血清型は分離頻度で 7.9 ~ 33 % と差が小さかったが、上位10血清型のうち 7 血清型までがヒト由來の上位血清型と一致した。

3-3 薬剤別耐性率

用いた8薬剤に対するサルモネラの薬剤別耐性率を図3に示した。ヒト、環境ともに耐性率が最も高い薬剤はTCで、以下SM、SAの順であった。個々の薬剤についてヒトと環境由來の耐性率を比較すると、TCとNAはヒト由來株が高い傾向を示したが、他の薬剤の由來間の差は小さかった。

3-4 血清型別耐性率

ヒト由來株の分離頻度が上位の8血清型について、由来別に薬剤耐性率を求めた(図4)。耐性率の高い血清型は、ヒト、環境ともにPanama, Typhimurium, Litchfieldで、逆にMbandakaは両由來とも耐性株が全くなかった。その他の血清型についてもヒト由來と環境由來の耐性率は近似していた。

3-5 血清型別薬剤耐性パターン

ヒト由來株の分離頻度が上位でしかも薬剤耐性率も高い4血清型について、由来別の薬剤耐性パターンを表1に示した。Typhimuriumの薬剤耐性パ

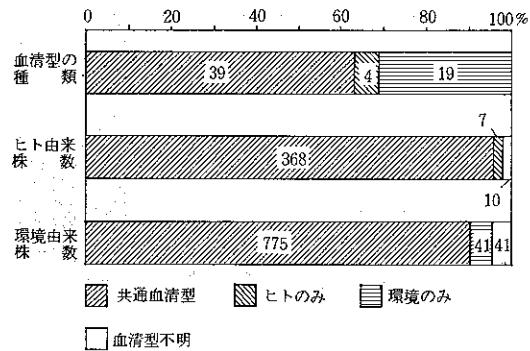


図5 サルモネラの共通血清型

ターンは極めて多彩であったが、両由来ともに最も多かったのは「SM・CP・TC・KM・ABPC・SA」耐性型だった。ヒト由来株では他に「TC」や「SM・TC・SA」耐性型が多く見られ、環境中からも同一パターンが多数検出された。また、Litchfield では「SM・CP・TC・SA」、Panama では「SM・TC・SA」、Infantis では「ABPC・CEX」が、それぞれヒト、環境ともに多く検出され、血清型特異性を示した。

3-6 血清型におけるヒトと環境の関連性

供試菌株の血清型別の結果、同定された血清型はヒト由来が43種類、環境由来が58種類であり、そのうち39種類が両由来に共通の血清型であった(図5)。これらの共通血清型はヒト及び環境由来株のそれぞれ90%以上と大多数を占めた。

また、環境由来株が、ヒト由来の血清型を経時的に反映していることを確認するため、個々のヒト由来株について、分離月及びその前後月に同一血清型の環境由来株が存在するかを調査した（図6）。その結果、分離したヒト由来株の75.6%と大部分について、同時期に環境中からも同一血清型を認めることが判明した。なお、環境との経時的な関連が認められなかつたヒト由来株の40.4%は海外旅行者によるものであった。

3-7 Typhimurium の薬剤耐性パターンの経時変化

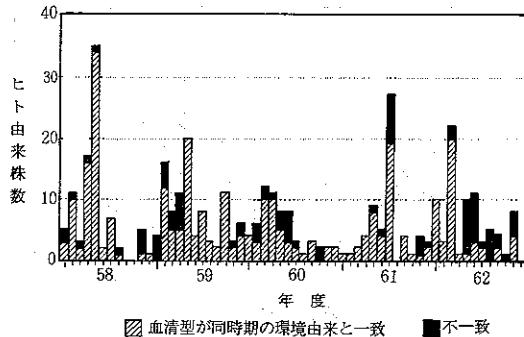


図6 月別ヒト由来株における環境由来菌連株

Typhimurium は毎年度とも分離株数が首位となっているため、血清型だけではヒトと環境の経時的な関連性の把握が困難である。そこで、ヒト由来 *Typhimurium* の代表的な 4 種類の薬剤耐性パターンについて、各年度を夏期（4 月～9 月）と冬期（10 月～3 月）の 2 期に分け、由来ごとの分離株数を調査した（図 7）。

「SM・CP・TC・KM・ABPC・SA」耐性型はヒト、環境とともに59年度冬期から60年度夏期にかけて、*Typhimurium*の主要耐性パターンとなった。その後、ヒト由来では減少したが、環境中からは継続して多く検出された。

「SM・CP・TC・ABPC・SA・NA」耐性型は58年度夏期のみにヒト、環境ともに多数分離され、以後、全く検出されなかった。

ヒト由来の「SM・TC・SA」耐性型 *Typhimurium* は62年度夏期に食中毒原因菌となったが、環境中からも同時期に連続して検出された。

「TC」耐性型の分離時期は広範囲であったが、61年度前期にヒト由来の主要耐性パターンとなり、環境由来株の経時変化とも一致した。

3-8 Mbandaka と Hadar の増加

近年、環境中からの分離が急増した血清型に Mbandaka と Hadar があった。これら 2 種類の 血清型の由来別経時変化を図 8 に示した。

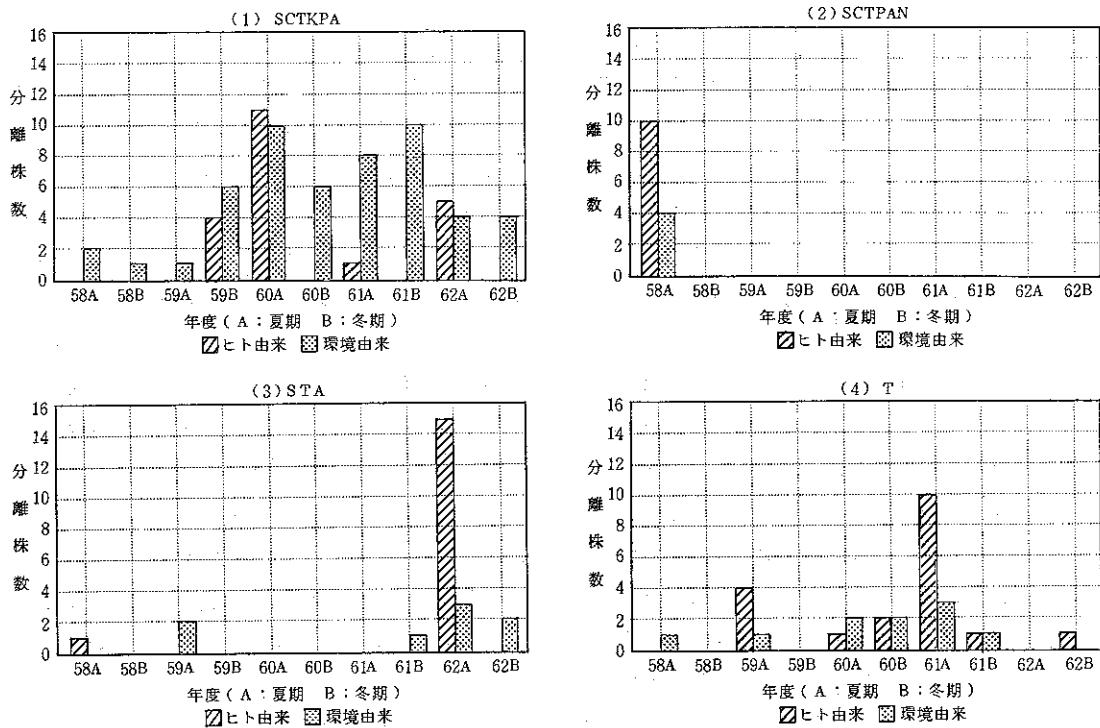


図7 Typhimuriumの薬剤耐性パターンの経時変化

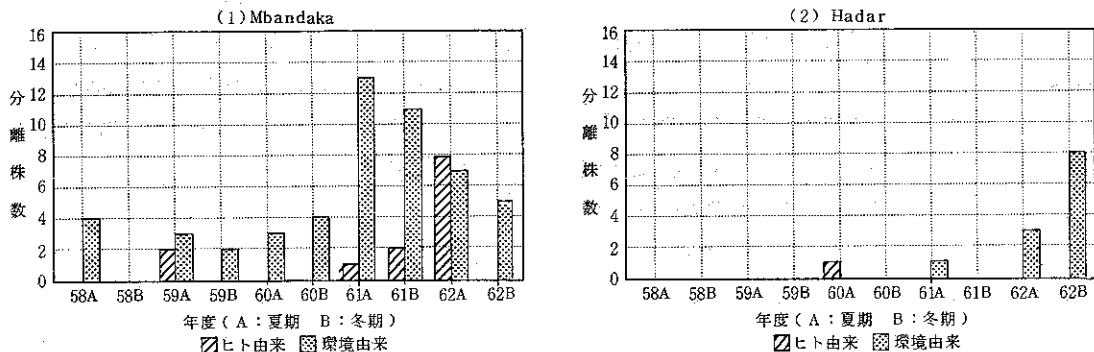


図8 MbandakaとHadarの経時変化

環境由来Mbandakaは61年度夏期に著しい増加をした後、だいに減少していった。ヒト由来株は環境から約1年遅れて62年度夏期に分離株数が急増した。

Hadarは60年度夏期に、当所においては初めてヒトから検出された血清型であるが、62年度になって環境中からの分離頻度が急上昇してきた。

4. 考 察

近年、環境由来サルモネラの検索が日本の各地で行われ、ヒト由来株との関連性を示唆する報告が相次いでいる。^{3)~5)} 札幌市内のヒト及び環境由来サルモネラについても、由来別に調査した血清型別分離頻度、薬剤別耐性率、血清型別耐性率、血清型別薬剤耐性パターンの各項目において、強い関連性があ

ることが明らかになった。

ヒト由来株の分離率が夏期に高い傾向を示すのに対し、環境由来株のうち、特に下水処理場流入水のサルモネラ検出率には季節変動が見られなかった。これは、環境由来株の大部分が、ヒトにおける集団発生事例よりもむしろ、散発下痢症患者や保菌者、さらにその汚染原因物質の実態を反映しているからと考えられる。

サルモネラの血清型は、集団発生事例における有用な疫学マーカーとなるばかりでなく、散発事例の流行や動向を知るための良い解析手段となる。近年のヒト由来サルモネラの血清型は多彩さを増しているが、そのほとんどの型は環境中からも検出され、個々の血清型の由来別分離頻度にも大きな違いはなかった。従って、環境由来サルモネラの血清型と分離頻度を調査することにより、ヒトにおけるサルモネラ汚染の状況を推察できると考えられる。環境由来株で分離頻度が高いにもかかわらず、ヒト由來の上位になかったThompson, Havana, Heidelberg等についても、ヒトからの分離が数株ずつあり、潜在的な患者や保菌者の存在を否定するものではないと考えられる。

また、ヒト由来株と環境由来株の血清型には経時的な関連性が認められたことから、定期的な環境調査は、ヒトにおける流行血清型の推移の把握や流行の予測も可能にすると考えられる。Mbandakaの経時変化の調査によって、環境由来株の増加が、ヒトにおける流行に先行する場合もあることが示唆された。これは潜在的な保菌者や何らかの汚染物質が環境中に放出されたためと考えられる。現在、本市におけるMbandakaの流行はピークを過ぎたように思われる。Hadarは、近年日本の各地でヒトや環境中から多数の分離例が報告されている血清型である⁶⁾。本市においても環境中からの分離頻度が著しく上昇し、その後も63年度夏期にはヒト由来6株、環境由来14株が分離されているため、今後ともその動向が注目される。なお、ヒトと環境の間の経時的な

関連性が認められなかった血清型の多くは海外旅行者由来株であったが、これは排菌者の絶対数が少ない上に、汚染源が国内にないため環境から検出されにくくなっていると予想される。

薬剤耐性パターンは*Typhimurium* や *Litchfield*のようなヒト由来分離頻度が高く、同時に耐性率も高い血清型にとって、重要な疫学マーカーとなる。今回の調査によって、ヒト由来株における各血清型の特異的耐性パターンは環境由来株にも反映していることが明らかになった。札幌市内で分離された、これらの特異的耐性パターンをもつヒト由来株の多くは、Rプラスミド性であることが明らかになっており⁷⁾、環境中のサルモネラについても同様に耐性化していると考えられる。また、*Typhimurium* の主要耐性パターンは年度によって変化が見られることが明らかになり、これらの推移を把握して状況分析を行うためには、環境由来株の薬剤耐性パターンの経時変化が良い指標となることが示唆された。

以上のことから、下水・河川等に定点を設定し、定期的にサルモネラの調査を行うことによって、ヒトにおけるサルモネラ症の発生概要の把握と流行予測の有効な指標が得られるため、環境調査が公衆衛生に果たす役割は大きいと考えられる。

5. 結 語

最近5年間に、札幌市内で分離されたヒト及び環境由来サルモネラの血清型別と薬剤感受性試験を行って、両由来の関連性を検討した結果、以下のことが明らかになった。

- (1) 血清型別分離頻度、薬剤別耐性率、血清型別耐性率、血清型別薬剤耐性パターンの各項目において強い関連性が認められた。
- (2) 共通血清型は39種類あり、これらは分離株の90%以上を占め、経時的な関連性もヒト由来株の75.6%について認められた。
- (3) *Typhimurium* の耐性パターンには年度に

よって流行型が存在した。

- (4) Mbandaka や Hadar の流行は環境がヒトに先行した。
- (5) 環境調査は、ヒトにおけるサルモネラ症の発生概要を把握する有効な手段となるとともに流行予測も可能となる。

D-43~D-54 (1987)

- 3) 野村寛ら：名古屋市衛生研究所報, 31, 63~71 (1985)
- 4) 萱島隆之ら：広島市衛生研究所年報, 5, 46~51 (1986)
- 5) 山崎茂一ら：富山県衛生研究所年報, 10, 135~140 (1987)
- 6) 山岡弘二ら：病原微生物検出情報月報, 9, 196 (1988)
- 7) 鈴木欣哉ら：札幌市衛生研究所年報, 14, 41~45 (1987)

6. 文 献

- 1) 白石圭四郎ら：札幌市衛生研究所年報, 12, 131~140 (1985)
- 2) 日本公衆衛生協会："細菌・真菌検査(第3版)" ,