

臨床レポート

岩手県の動物由来 *Salmonella Typhimurium* 及び その単相変異株の分子疫学解析及び薬剤感受性

吉田恵美

はじめに

家畜のサルモネラ症は、様々な血清型のサルモネラに起因し、一部の血清型は家畜伝染病予防法において届出伝染病に指定されている。家畜に本症を引き起こす血清型の中でも、*Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar Typhimurium (4 [5], 12:i:1, 2) (ST) 及びその単相変異株 (4 [5], 12:i:-) (STmv) が、近年、本県を含む全国で増加傾向にあり、多剤耐性の傾向にある (図1)。Idoら [1] は、本県を含む全国の家畜由来 STmv と、本県の人由来 STmv について分子疫学解析を行い、STmv は多様な ST に由来し、人と保菌動物の間に疫学的関連があることを報告している。家畜由来の薬剤耐性菌は、人の健康に影響を及ぼすことが懸念されており、現在、世界各国においてワンヘルス・アプローチに基づく積極的な取り組みが行われているが、県内の ST 及び STmv の分子疫学的関連性や薬剤耐性の最近の状況は不明である。そこで、本症の防疫対策に資する目的で、本県の動物由

来 ST 及び STmv について分子疫学的に解析し、薬剤耐性の状況と併せて検討した。

材料と方法

供試株：2009年～2017年に分離された12戸由来 ST 13株 (牛由来8株, 豚由来4株, 野鳥由来1株) 及び14戸由来 STmv 17株 (牛由来11株, 豚由来5株, 野鳥由来1株) の計30株について以下の試験を実施し、STmv については2003年～2008年に本県の家畜から分離された株 (既報株 [1]) と比較した。

分子疫学解析：制限酵素 *Xba* I 及び *Bln* I を用いたパルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) を実施した。泳動条件は電圧 6V/cm, パルスタイム 2.2-63.8sec, 泳動 19時間とした。得られた泳動像は GelCompar II (Applied Maths) により系統樹解析を行い、既報 [1] に基づき、80%以上の相同性を示したパターンを同一遺伝子型と判定した (optimization 0.5%, tolerance 1.0%)。

薬剤感受性試験：1濃度ディスク法 (センシディスク: BD社) により、アンピシリン (ABPC), セファゾリン (CEZ), セフォタキシム (CTX), ストレプトマイシン (SM), カナマイシン (KM), ゲンタマイシン (GM), クロラムフェニコール (CP), テトラサイクリン (TC), ナリジクス酸 (NA), シプロフロキサシン (CPF) 及び ST 合剤 (ST) の計11薬剤について実施した。

結果

分子疫学解析：制限酵素 *Xba* I を用いた解析では、ST は5種類, STmv は3種類に分類された。*Bln* I を用いた解析では、ST は9種類, STmv は6種類の遺伝子型に分類された。いずれの制限酵素において

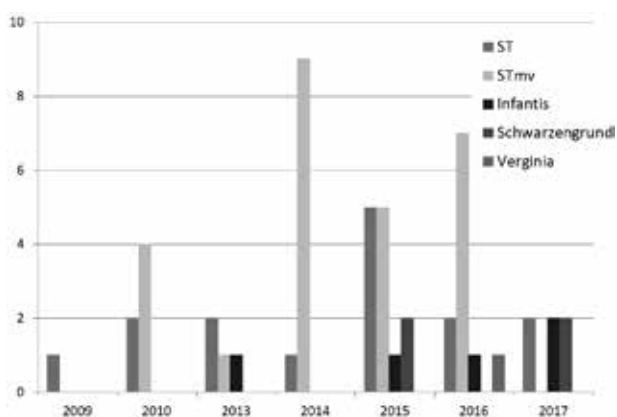


図1 岩手県の病性鑑定における家畜由来サルモネラの血清型別分離状況

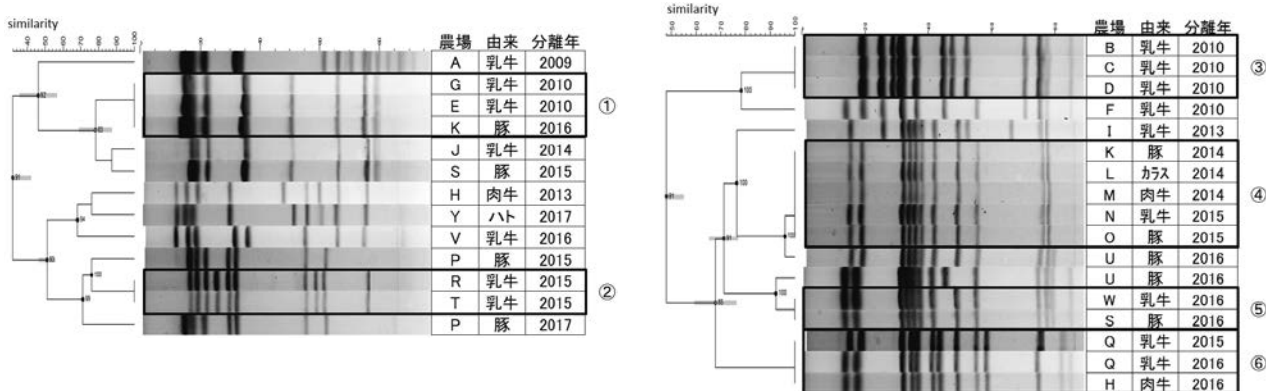


図2 Bln Iを用いた系統樹解析結果 (左: ST, 右: STmv)

①~⑥は、それぞれ 100% の相同性を示した株

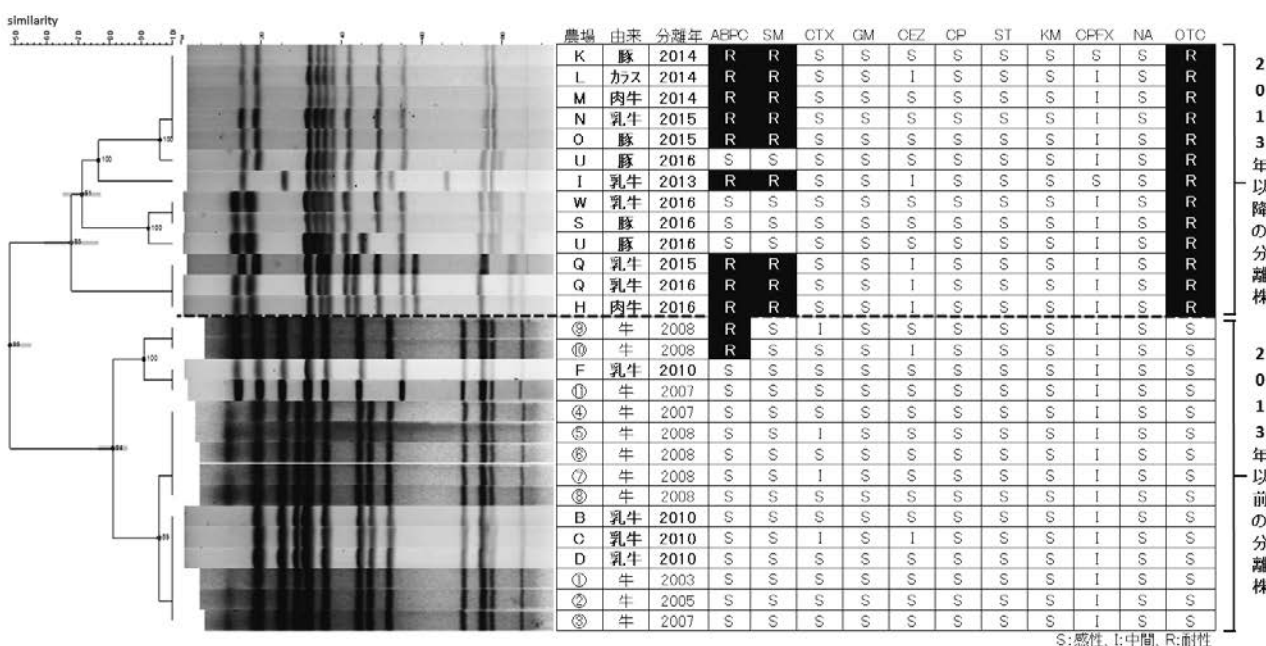


図3 被検 STmv 株 (太字) と既報株 (細字) の系統樹解析及び薬剤感受性結果

も、STに比較してSTmvでは遺伝子型がより近似していた。

系統樹解析には、より細かく分類することができた。Bln Iを用いた。系統樹解析の結果、乳牛及び肉牛由来のST 3株 (図2, ①), 同時期に同一地域の複数酪農場由来のST 2株 (②) 及びSTmv 3株 (③), 乳牛, 肉牛, 豚及びカラス由来のSTmv 5株 (④), 乳牛及び豚由来のSTmv 2株 (⑤) 並びに同一酪農場の異なる時期と肉牛に由来するSTmv 3株 (⑥) がそれぞれ 100% の相同性を示した。既報株との解析の結果、STmvは2013年を境に異なるクラスターを形成していた (図3)。

薬剤感受性試験: ST, STmvともにABPC, SM及びTCに高い耐性率を示し、乳牛由来のST 1株が第3世代セファロスポリン系抗生物質CTXに耐性を示

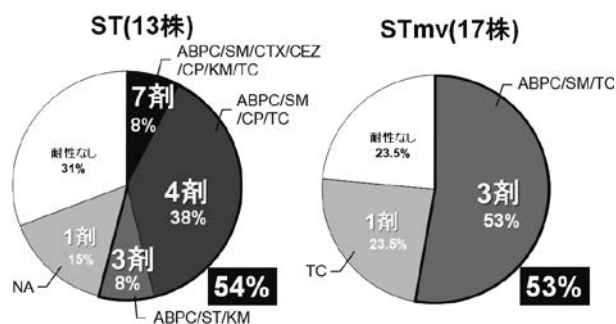


図4 耐性薬剤数別の株数

した。ニューキノロン系抗生物質CPFXへの耐性は確認されなかった。耐性薬剤別にみると、ST13株中乳牛由来の1株 (8%) が11薬剤中7薬剤に耐性を示し、全体として、ST 13株中7株 (54%) 及びSTmv 17株中9株 (53%) が多剤耐性を示した (図4)。被

検株及び既報株を分離された年度別に比較すると、STmv は 2013 年を境に多剤耐性傾向にあり、全株が TC に耐性を示した (図 3)。

考 察

分子疫学解析の結果、野鳥を含む異なる動物種由来株や、同時期に同一地域の複数酪農場、または異なる畜種由来株が 100% の相同性を示した。ST、STmv はともに宿主域が広く、牛、馬、豚、鶏などの家畜や家禽以外の農場に出入りする野生動物も保菌する可能性がある。今回、野生動物並びに人及び車の往来等の地理的な要因による菌の伝播が示唆されたことから、日頃の飼養衛生管理基準の遵守とともに、本症の発生時には畜産関係者へ早急に注意喚起を促し、農場間の持ち込み防止対策を講じることが重要と考えられた。

ST 及び STmv は食中毒起因菌としての分離頻度が高い血清型でもあるが、本県で分離された人由来サルモネラの血清型は、2012 年より前は ST が主体であったのに対し、それ以降は STmv に移行している [2]。さらに、同じく 2012 年以降、本県を含み全国的に STmv による家畜の本症発生が増加している [3]。STmv の遺伝子型は ST のそれと比較してより近似し、2013 年を境に異なるクラスターを形成していた今回の結果は、近年の全国的な家畜の STmv の流行や本県の人由来 STmv の流行に関連していると推察されるが、現時点では詳細な関連性は不明である。今後、他県分離株や人由来株と併せて分子疫学解析を進め、STmv の動向調査を継続する必要がある。

薬剤感受性試験では、ST1 株が人医療で重要な薬剤である第 3 世代セファロsporin 系抗生物質に耐性を示し、2013 年以降に分離された STmv が多剤耐性傾向にあることが判明した。第 3 世代セファロsporin 系やニューキノロン系抗生物質は、人の医療上も重

要な抗生物質であり、第二次選択薬として他の抗菌性物質製剤が無効となる場合にのみ使用 (いわゆる「慎重使用」) するよう、畜産関係者へ注意喚起がされている。第 3 世代セファロsporin 系薬剤の耐性獲得には、染色体性遺伝子、プラスミド性遺伝子等の報告がある [4]。今後、人と家畜の健康を守るため、第一選択薬の適切な選択と慎重使用の徹底を促すとともに、薬剤耐性遺伝子の調査を進め、薬剤耐性菌の出現防止に努めたい。

謝 辞

今回、分子疫学解析を実施するにあたり、多大な御指導、御助言を賜った岩手県環境保健研究センターの諸先生方に深謝する。

参考文献

- [1] Noriko ID, Kaori IWABUCHI, Yusuke SATO, et al : Molecular typing of *Salmonella enterica* serovar 4, [5],12:i:- isolates from humans, animals and river water in Japan by multilocus variable-number tandem repeat analysis and pulsed-field gel electrophoresis. J Vet Med Sci, 77, 609-613 (2015)
- [2] 岩手県感染症情報センター：岩手県感染症月報平成 30 年 1 月号 (オンライン), <http://www2.pref.iwate.jp/~hp1353/kansen/pdf/2018/i2018-m01.pdf> (2017)
- [3] 秋庭正人：平成 29 年度獣医療提供体制整備推進総合対策事業 高度獣医療講習会テキスト「家畜のサルモネラ症」(2017)
- [4] 玉村雪乃：牛由来 *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Typhimurium に関する分子疫学的研究, 北獣会誌, 60, 192-196 (2016)