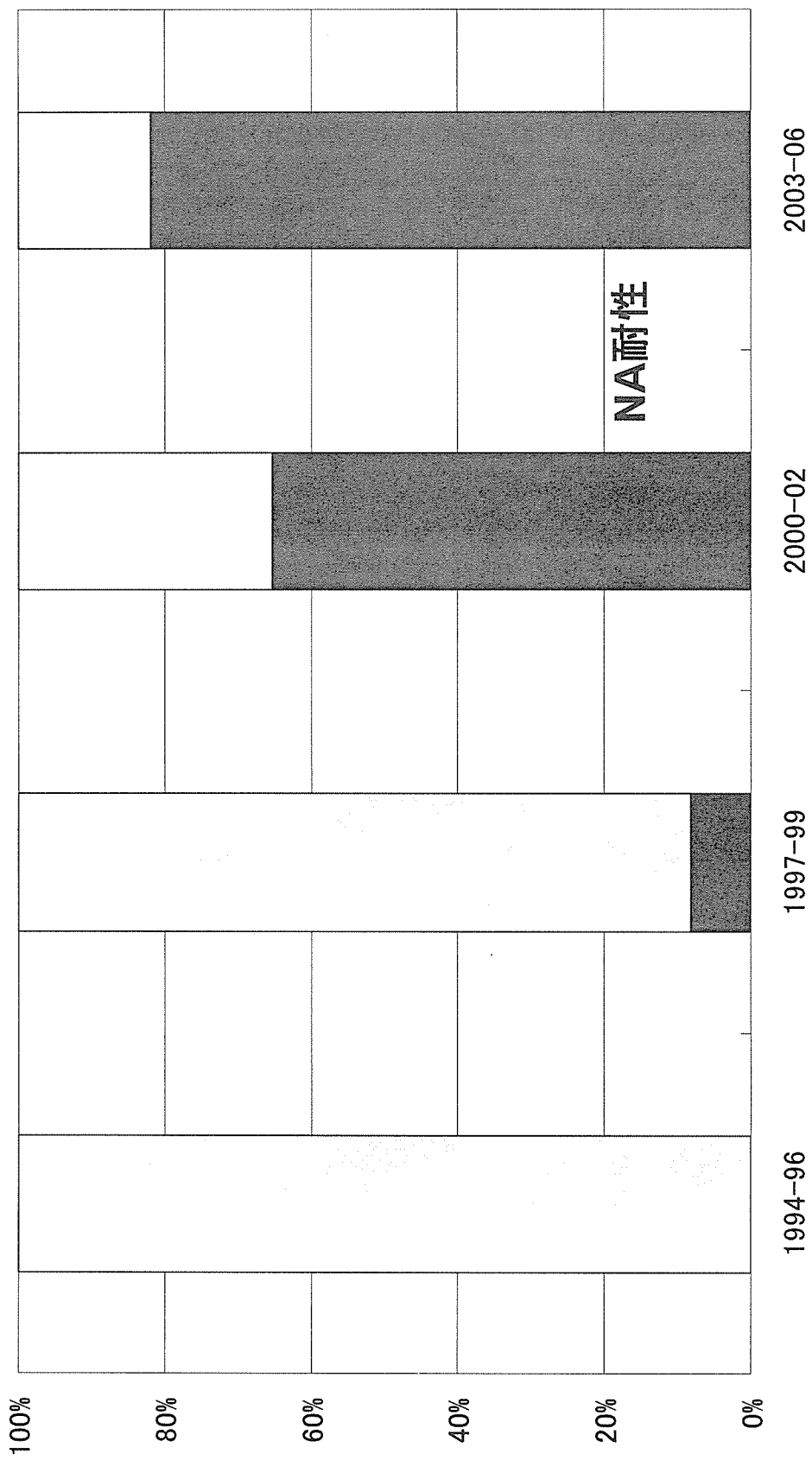


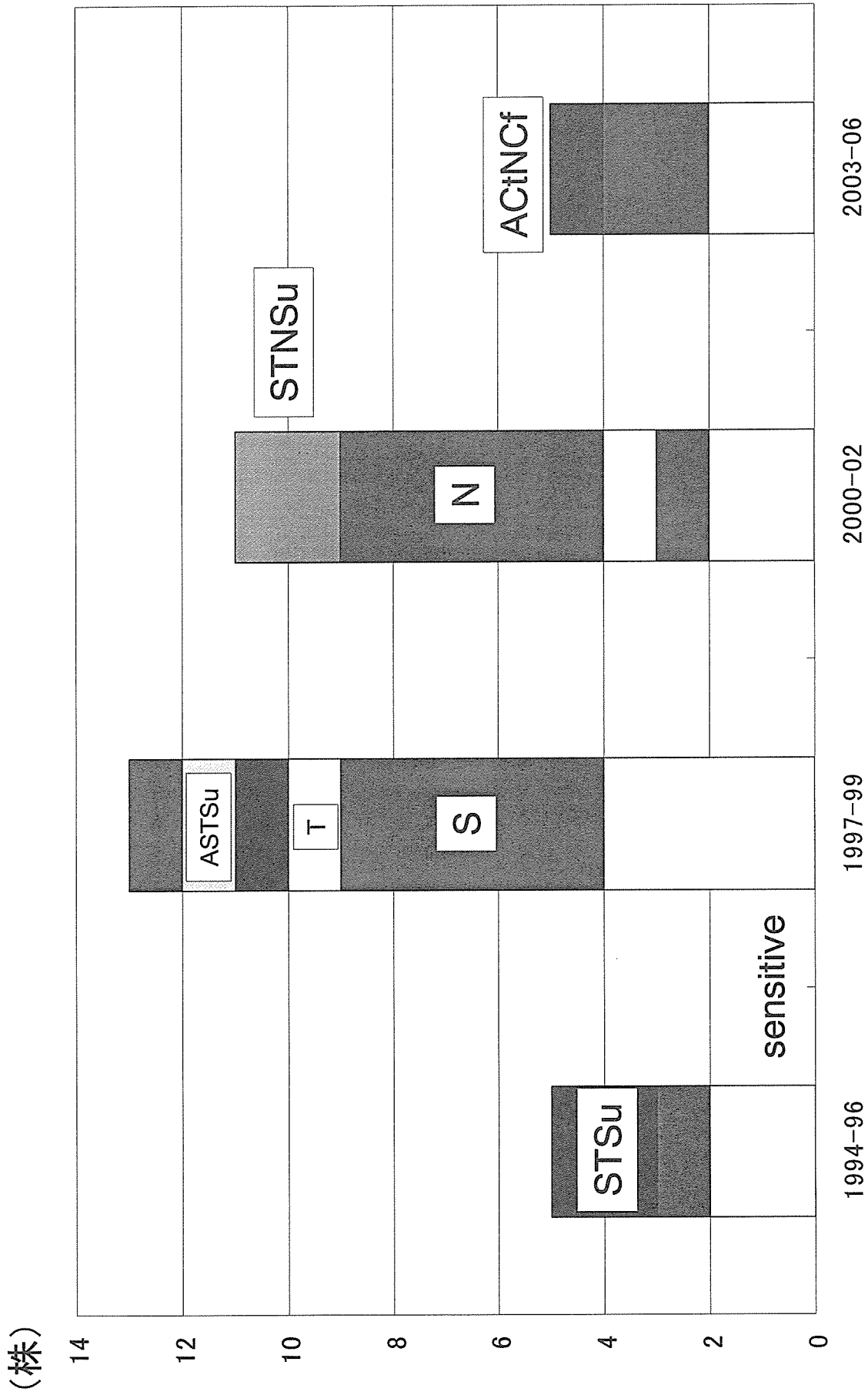
图5-2. 鶏肉由来Salmonella Enteritidis

外国産



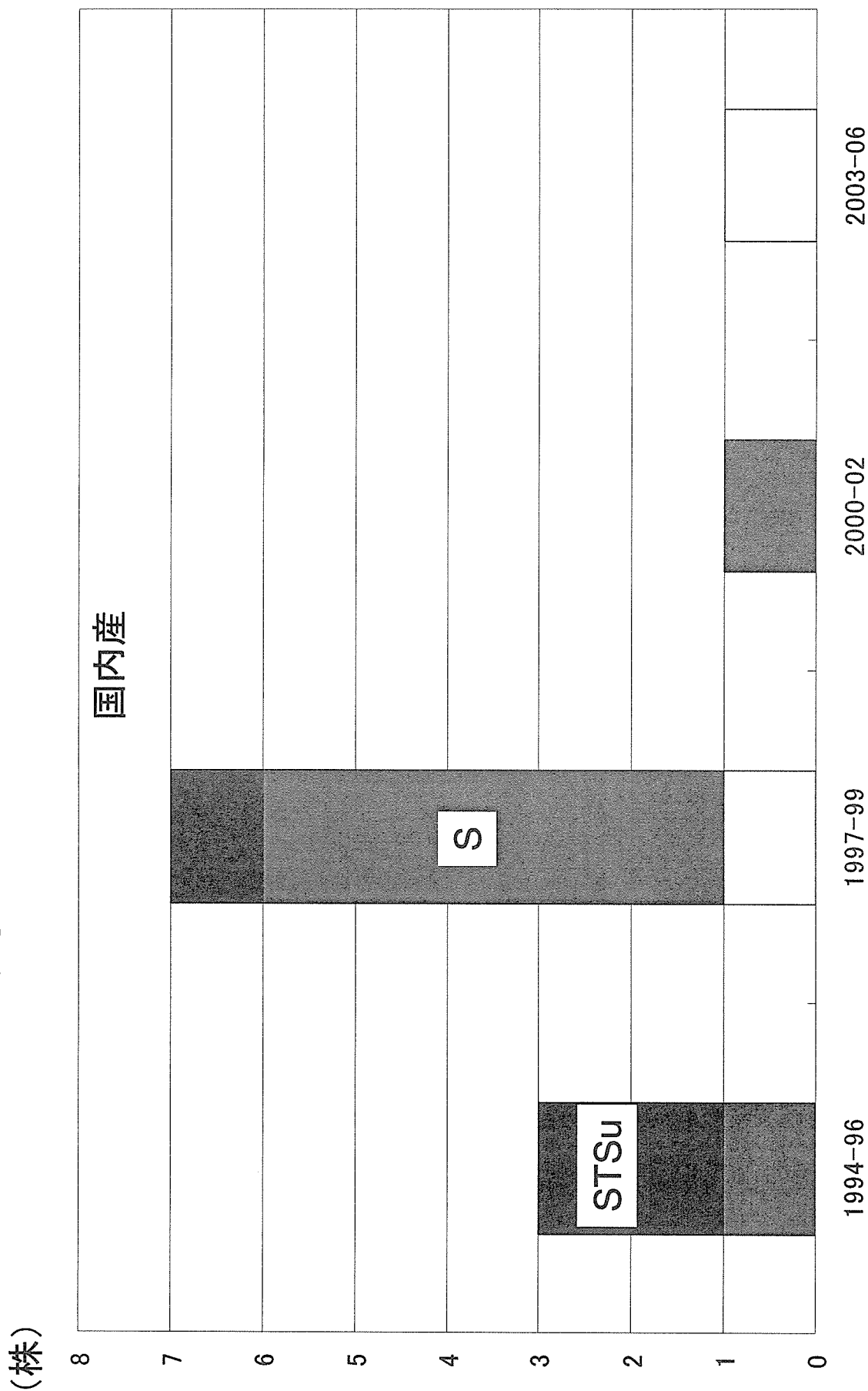
(n=51)

图6-1. 鶏肉由来 *Salmonella* Enteritidis



(n=34)

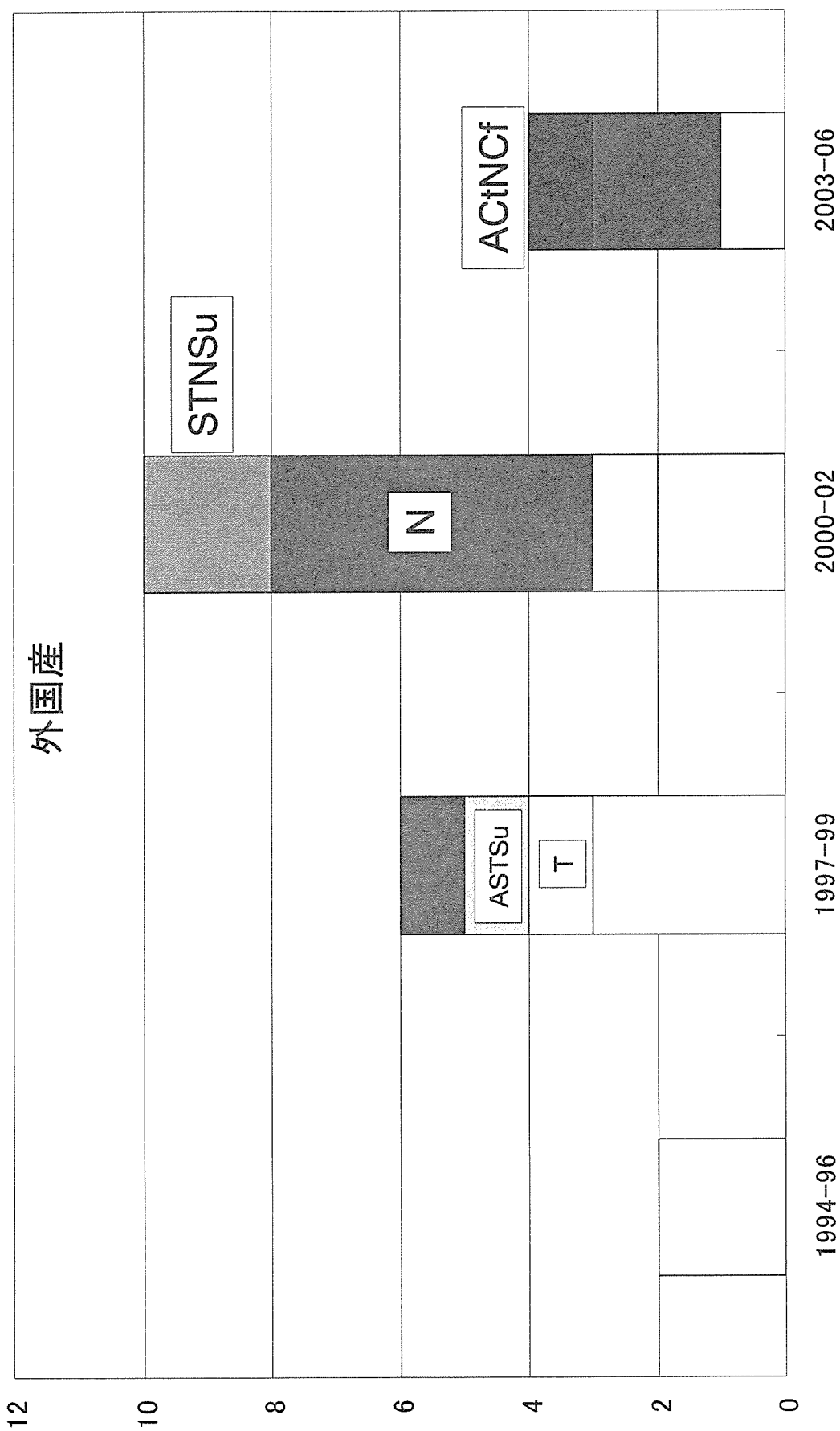
図6-2. 鶏肉由来Salmonella Enteritidis



(n=12)

図6-3. 鶏肉由来Salmonella Enteritidis

(株)



(n=24)

表1. 鶏肉由来 *Salmonella* Enteritidis

PT	sensitive	S	T	SG	STSu	ASTSu	N	STNSu	ACiNCf	総計
1					3	1	2	2		8
4	6	1					4			11
5a		4								4
6	2						1			3
6a			1						1	2
7a							1			1
21			1							1
47	2									2
RDNC		2								2
総計	10	7	1	1	3	1	8	2	1	34

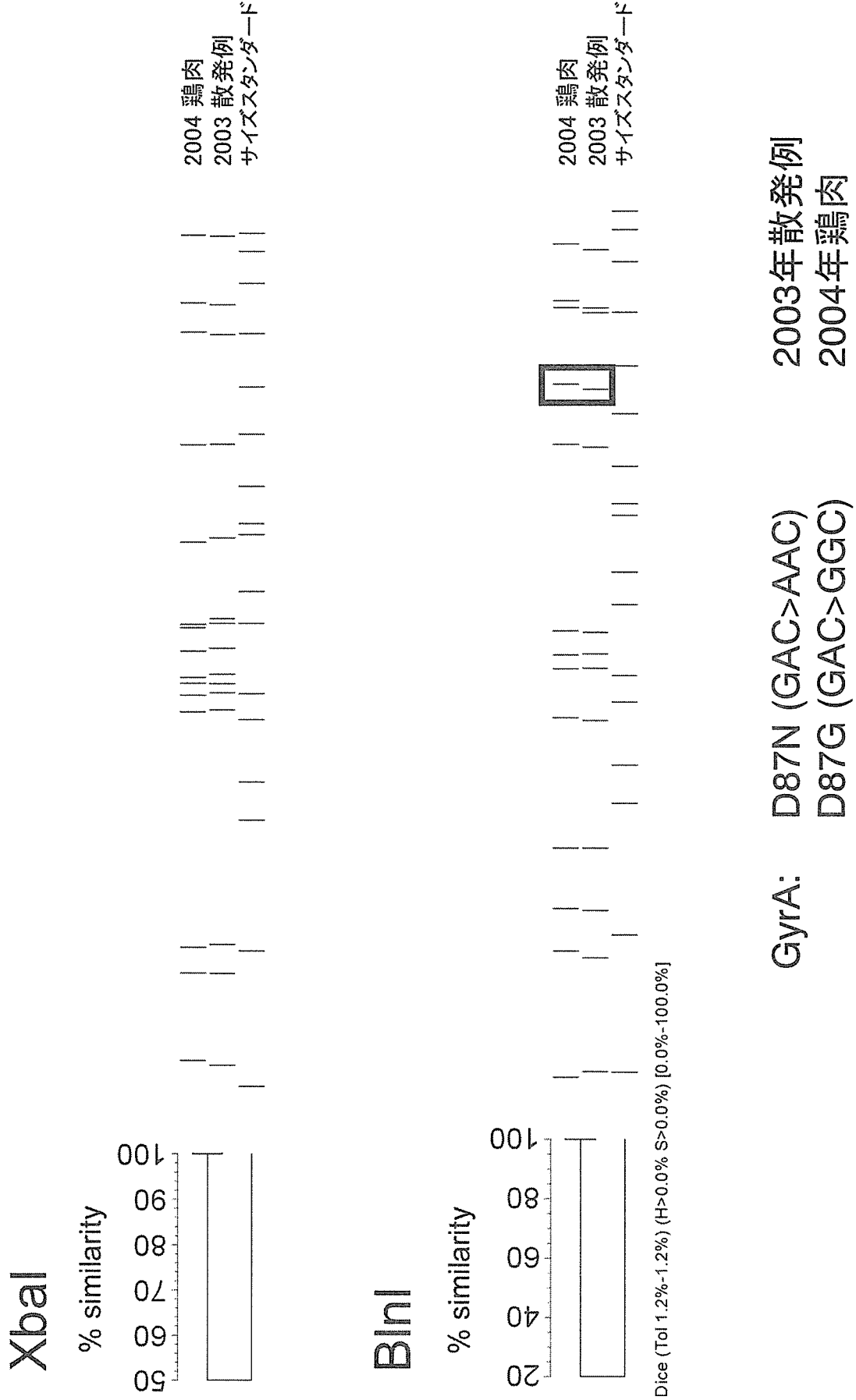
## 表2. 鶏肉由来 *Salmonella* Enteritidis

- R-ACtNCf
- 2004年中国産

AM	CE	XM	FX	CN	CT	TZ	AT	IP
>256	>256	>256	3	0.094	256	2	3	0.25
CT	CTL	TZ	TZL	NA	CI	NX		
>16	0.19	2	0.25	>256	0.25	0.75		

- *b/a* CTX-M-14
- GyrA: D87G

図7. ESBL産生性 *Salmonella* Enteritidis



平成18年度厚生労働省 食品・安全確保研究事業 分担研究報告書

課題名：薬剤耐性食中毒菌サーベイランスに関する研究

分担課題：食品・ヒト由来食中毒細菌の薬剤耐性の疫学的研究

分担研究者 山口正則 埼玉県衛生研究所

研究協力者 倉園貴至 埼玉県衛生研究所

研究協力者 大塚佳代子 埼玉県衛生研究所

## 研究要旨

近年、抗生剤の使用過多が原因と考えられる、食中毒細菌の治療薬剤に対する耐性化の進行が問題となっている。そこで、耐性化の動向を把握するため、食品・ヒト由来食中毒細菌、特にサルモネラ及び腸管出血性大腸菌などを対象に、血清型別や薬剤感受性試験等の性状解析を行った。

供試したヒト(散発下痢症例及び健康保菌者)由来サルモネラは 176 株で 40 血清型に型別された。薬剤耐性では 59 株(33.5%)が供試した 12 薬剤のいずれかに対して耐性を示した。医療現場で使用頻度の高いフルオロキノロン剤に対して耐性を示すサルモネラが 9 例から分離され、その血清型は Typhimurium が 8 株、Typhi が 1 株であった。Typhimurium では、2 株がフルオロキノロン剤に加え第 3 世代セフェム系薬剤である CTX に対しても耐性を示した。また、昨年までの調査でペットの関与が示唆されたため、ネコ 188 頭、イヌ 148 頭の検査を行った。その結果 10 頭からサルモネラが分離され、そのうちネコ 1 頭から分離された血清型 Typhimurium がフルオロキノロン耐性であり、2003 年に分離されたヒト由来 Typhimurium と同じ遺伝子変異を示した。

ヒト由来腸管出血性大腸菌は 101 株が分離され、血清型 O157:H7 が 66 株(65.3%)と最も多く分離された。薬剤感受性試験では、101 株中 26 株(25.7%)が供試した 12 薬剤のいずれかに耐性を示したが、CTX やフルオロキノロン剤に耐性を示す株は分離されなかった。しかし、下痢症患者から分離された astA を保有する下痢原性大腸菌 O15:H10 が CTX 耐性を示し、CTX-M-14 と TEM-1E の遺伝子を保持していた。

二類感染症細菌である赤痢でも CTX 耐性株が 2 例から分離され、その血清型は *S.sonnei* であった。発症時期から 1 例は中国での感染が推定されたが、1 例は海外渡航歴がなく、国内感染例と思われたが、感染源は究明できなかった。

食肉および食肉製品の汚染実態調査では、132 検体中サルモネラ 12 検体(9.1%)から 13 株が、腸管出血性大腸菌は 2 検体(1.5%)から 2 株分離された。薬剤感受性試験では、サルモネラ 13 株中 11 株がいずれかの薬剤に耐性を示したのに対して、腸管出血性大腸菌は 2 株とも感受性であった。



## A. 研究目的

近年、抗生剤の使用過多が原因と考えられる、食中毒細菌の治療薬剤に対する耐性化の進行が問題となっている。代表的な食中毒細菌であるサルモネラの血清型 Typhimurium フェージ型 DT104 などの多剤耐性化、腸管出血性大腸菌 O26:H11 の第3世代セフェム系薬剤である CTX 耐性菌の出現などは、直接ヒトの治療に大きく影響するため、その耐性化の動向を監視することが急務である。そこで、耐性化の動向を把握するため、食品・ヒト由来食中毒細菌、特にサルモネラ及び腸管出血性大腸菌などを対象に、血清型別や薬剤感受性試験等の性状解析を行う。また、多剤耐性菌が検出された事例については、患者及び食品など原因物質の遡り調査を行い、汚染源の究明を試みるとともに、他の事例との関連を調査する。

## B. 研究方法

埼玉県内で分離された散発下痢症例、集団食中毒事例及び健康保菌者由来のサルモネラを医療機関等の協力を得て広く収集した。食肉および食肉製品からのサルモネラ分離については、買い取りによる検体収集を行い、調査に供した。収集した菌株は血清型別、薬剤感受性試験を行った。薬剤感受性試験は米国臨床検査標準委員会 (NCCLS) の抗菌薬ディスク感受性試験実施基準に基づき、市販の感受性試験用ディスク (センチディスク:BBL) を用いて行った。供試薬剤は、

クロラムフェニコール (CP; 30  $\mu$ g)、ストレプトマイシン (SM; 10  $\mu$ g)、テトラサイクリン (TC; 30  $\mu$ g)、カナマイシン (KM; 30  $\mu$ g)、アミノペンシリン (ABPC; 10  $\mu$ g)、ナリジクス酸 (NA; 30  $\mu$ g)、セフトキシム (CTX; 30  $\mu$ g)、シプロフロキサシン (CPFX; 5  $\mu$ g)、ゲンタマイシン (GM; 10  $\mu$ g)、ホスホマイシン (FOM; 50  $\mu$ g)、ノルフロキサシン (NFLX; 5  $\mu$ g)、スルファメトキサゾール・トリメプリム合剤 (ST; 25  $\mu$ g) の 12 薬剤である。特にヒトの下痢症治療において使用頻度の高いフルオロキノロン剤、第3、4世代セフェム剤に対する感受性を重点的に調査した。腸管出血性大腸菌および赤痢菌においても同様に実施した。

## C. 研究結果及び考察

### (1) 散発事例由来サルモネラ

埼玉県内で 2006 年に、散発下痢症患者及び食品従事者の検便などにおいて健康者から分離されたサルモネラの血清型別分離状況を表1に示した。分離された 176 株は 40 血清型に型別され、最も多く分離されたのは、*S. Enteritidis* が 43 株、次いで *S. Typhimurium* が 25 株、*S. Saintpaul* が 10 株の順であった。

この 176 株について薬剤感受性試験を実施した結果、供試した 176 株のうち 59 株 (33.5%) が 12 薬剤のいずれかに耐性を示した。最も多く分離された *S. Enteritidis* では 43 株のうち 22 株 (51.2%) が耐性を示し、SM 単剤耐性が 18 株と最も多かった。

*S.Typhimurium* では 25 株のうち 14 株 (56.0%) が耐性を示した。分離株の区別耐性パターンを表 2 に示す。最も多かったのは SM 単剤耐性で 19 株が該当し、次いで NA 単剤耐性と SM・TC 耐性がそれぞれ 8 株ずつ分離された。また 4 剤以上の薬剤に耐性を示す多剤耐性株が 16 株分離された。2003 年から 2005 年まで連続して検出されている CPFX や NFLX などフルオロキノロン剤に耐性を示す株が 9 例から分離された。その概要を表 3 に示した。血清型は *S.Typhimurium* が 8 株、*Typ hi* が 1 株であった。ファージ型は、*S.Typhimurium* では 193 が 4 株、12 が 4 株であり、*Typ hi* は UVS4 であった。残念ながら *S.Typhimurium* が分離された 6 例(事例 No.1~6)については、医療機関の協力が十分に得られず、その詳細は不明であった。事例 No.7 の *Typ hi* はタイ、インドを 50 日間旅行後、発熱を主訴とする患者より分離された。治療は収容された病院において感受性試験では感受性を示した CTX で治療を試みたが、効果が見られず、ミノサイクリンとフォスホマイシンの投与により、解熱、回復した。事例 No.8 の *Typhimurium* は 8 月下旬から高頻度に嘔吐・下痢を繰り返し、急性胃腸炎にて 1 週間の入院治療を余儀なくされた 60 歳代の男性から分離された。思い当たる食品としては、寿司店にて食した赤貝やイカの燻製が挙げられていた。しかし、下痢発症の一週間前から飼い犬に嘔吐と下痢が見られていたことから、食品よりもペットからの感染

が疑われた。この犬の検査は患者の下痢発症当日、肝臓ガンという診断で死亡していたため行うことができなかった。No.9 の *Typhimurium* は 9 月中旬から下痢、発熱の症状を呈した 1 歳の幼児から分離された。医師の聞き取り調査では、疑われる食品や海外渡航歴はなかったが、No.8 の事例同様、下痢発症数日前に飼い猫の下痢が見られ動物病院を受診していた。残念ながらこのとき菌検索は行われていなかったために、下痢が当該菌によって起こされたものかは不明であった。事例 No.8 および No.9 で分離された *Typhimurium* のキノロン耐性決定領域 (Quinolone resistance determineing region: QRDR) におけるアミノ酸変異を調べた結果、*gyrA* で 2 つのコドン (83 位のセリン、87 位のアラギン酸)、*parC* で 1 つのコドン (80 位のセリン) の変異が確認された。さらに、この 2 株はフルオロキノロン剤だけではなく、第 3 世代セフェム系薬剤である CTX に対しても耐性であり、遺伝子検索の結果 CTX-M-2 の遺伝子を保持していた。

## (2) イヌおよびネコ由来サルモネラ

フルオロキノロン耐性サルモネラが分離されたヒトの事例で、ペットとの関連が強く疑われたため、イヌおよびネコのサルモネラ保菌状況調査を行った(表 4)。動物指導センターに収容されたイヌ 148 頭、ネコ 188 頭の便を材料として実施した。イヌでは 148 頭中 4 頭 (2.7%)、ネコでは 188 頭中 6 頭

(3.2%)から分離された。血清型はイヌでは Nagoya と Corvallis、ネコでは Nagoya と Typhimurium が分離された。薬剤感受性では、ネコから分離された Typhimurium でフルオロキノロン耐性が確認された。QRDR におけるアミノ酸変異を調べた結果、*gyrA* で 2 つのコドン (83 位のセリン、87 位のアラニン酸)、*parC* (80 位のセリン) および *parE* (458 位のセリン) の変異が確認された。これは 2003 年に分離されたヒト由来 Typhimurium と同じ遺伝子変異を示した。

### (3) 腸管出血性大腸菌

埼玉県内で 2006 年に、散発下痢症患者及び食品従事者の検便検査などにおいて健康者から分離された腸管出血性大腸菌の血清型別分離状況を表 5 に示した。分離された 101 株で最も多く分離された血清型は、O157:H7(VT2 産生)が 35 株、次いで O157:H7(VT1&2 産生)の 31 株であった。分離 101 株の薬剤感受性試験の結果、供試した 12 薬剤のいずれかに耐性であったのは 26 株 (25.7%)であった (表 6)。今回はフルオロキノロン剤や第 3、第 4 世代セフェム系薬剤に対する耐性菌は検出されなかった。しかし、3 月下旬に吐き気、発熱、下痢の症状を訴え受診した下痢症患者から分離された *astA* を保有する下痢原性大腸菌 O15:H10 が CTX 耐性を示し、CTX-M-14 と TEM-1E の遺伝子を保持していた。この患者は子供の通う幼稚園で用意された仕出し弁当を喫食

後、発症し、同じ仕出し弁当を食べた他の人も同様に下痢を呈した。しかし、食中毒としての届出が無かったため、調査は行われていなかった。今後は、腸管出血性大腸菌だけでなく、その他の下痢原性大腸菌の動向にも注意を払う必要があると考えられた。

### (4) 赤痢菌

サルモネラや腸管出血性大腸菌だけでなく赤痢菌においても CTX 耐性株が分離された。その概要を表 7 に示す。埼玉県で 2003 年～2006 年にかけて分離された赤痢菌は 66 株に上り、耐性パターンでは SM・TC・NA に耐性を示す株が最も多く分離されていたが、フルオロキノロン剤や CTX に対して耐性を示す株は分離されていなかった。事例 1 では海外渡航歴のない 7 歳の小児から分離されたが、保健所の疫学調査では、その周囲に海外渡航歴のあるヒトや、輸入食品の存在は浮かび上がってこなかった。事例 2 は 4 年前から中国に在住し、出産のために帰国した 30 歳代の女性から分離された。事例 1 とは全く接触は全くなかったが、その耐性パターンは一致していた。遺伝子検索の結果、2 株とも CTX-M-14 の遺伝子を保持しており、また、*gyrA* において 1 つのコドン (83 位のセリン) に変異が見られた。この耐性パターンを示す *S. sonnei* は同じ 8 月に千葉県の中野市から、10 月下旬には堺市の保育施設で発生した集団事例でも分離されており、今後もその動向に注意を払う必要があると

考えられた。

#### (5)食肉および食肉製品からの分離

平成 18 年 4 月から 12 月にかけて、埼玉県内の卸売り市場等で食肉及び食肉製品 132 検体を購入し、腸管出血性大腸菌及びサルモネラ検査をした。その結果、鶏肉 52 検体中 7 検体 (13.5%)、内臓肉 40 検体中 1 検体 (2.5%)、ミンチ肉 23 検体中 4 検体 (17.4%)、からサルモネラが分離された (表 8)。また腸管出血性大腸菌 (OUT) がミンチ肉 23 検体中 2 検体 (8.7%) から分離された。分離株について薬剤感受性試験を行った結果、Typhimuriumu 2 株を除きいずれかの薬剤に対して耐性を示したが、フルオロキノロン剤や CTX に対して耐性を示した株はなかった (表 9)。腸管出血性大腸菌 (OUT) は使用した 12 薬剤すべて感受性であった。

#### D.結論

感染症法で規定される病原体においては、感染症発生動向調査により、病原体を収集解析する制度が確立されている。一方食中毒菌においては、流通の広域化に伴う diffuse outbreak の危険性の増大・薬剤耐性菌の侵淫にもかかわらず、原因究明・動向把握する上で必要な病原体収集のシステムが確立しているとは言い難い。

また、個々の集団食中毒発生事例についても原因究明はなされているものの、その原因菌の収集解析については十分とはいえない。今後は、病院及び臨床検査機関の協力を得た食中毒菌収集システムの確立を目指し、収集した食中毒菌の疫学情報・細菌学的解析結果のデータベース化やデータベースに基づく情報の行政及び医療機関等への還元システムの確立に努力する必要がある。

#### E.健康危機情報

フルオロキノロン耐性菌のみならず、CTX 耐性菌が赤痢菌や下痢原性大腸菌で確認され、フルオロキノロン剤と CTX 両方に耐性を示すサルモネラが分離されたことなどから、今後とも耐性菌の動向には注意が必要である。

#### G.研究発表

(学会発表)

倉園貴至、近 真理奈、砂押克彦、大島まり子、山口正則、泉谷秀昌、渡邊治雄：腸管感染症の薬剤耐性マーカーの利用について、衛生微生物技術協議会第 27 回研究会、2006 年、札幌

(論文発表)

なし

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1 ヒトから分離されたサルモネラの血清型(2006)

O血清型	血清型名	国内		海外	計
		有症者	無症者		
O2	<i>S. Paratyphi A</i>			1(1)	1(1)
	<i>S. Paratyphi B</i>	2			2
	<i>S. Stanley</i>	3	2		5
	<i>S. Saintpaul</i>	8	2		10
	<i>S. Agona</i>	4	2		6
O4	<i>S. Derby</i>	2(1)			2(1)
	<i>S. Typhimurium</i>	24(14)	1		25(14)
	<i>S. Bredeney</i>	1(1)			1(1)
	<i>S. Brandenburg</i>	1			1
	O4UT	3			3
	<i>S. Livingstone</i>			1(1)	1(1)
	<i>S. Montevideo</i>	5	2(1)		7(1)
	<i>S. Oranienburg</i>	1(1)			1(1)
	<i>S. Thompson</i>	7	4(1)		11(1)
	<i>S. Potsdam</i>			2	2
	<i>S. Virchow</i>	5			5
	<i>S. Infantis</i>	8(5)			8(5)
	<i>S. Mbandaka</i>		1		1
	<i>S. Nagoya</i>	2			2
	<i>S. Manhattan</i>		1(1)		1(1)
	<i>S. Newport</i>	2	3		5
	<i>S. Blockley</i>	1(1)			1(1)
	<i>S. Litchfield</i>	5(1)			5(1)
	<i>S. Corvallis</i>		1	1(1)	2(1)
	<i>S. Hadar</i>		2(2)		2(2)
	<i>S. Typhi</i>	1		4(3)	5(3)
O9	<i>S. Enteritidis</i>	38(18)	4(3)	1(1)	43(22)
	<i>S. Miyazaki</i>	1			1
	<i>S. Javiana</i>	1			1
	O9UT	1(1)			1(1)
	<i>S. Anatum</i>	1			1
O3, 10	<i>S. London</i>	1			1
	<i>S. Weltevreden</i>	2			2
	O3,10UT	2(1)	1		3(1)
O1, 3, 19	<i>S. Senftenberg</i>		1	1	2
O11	<i>S. Aberdeen</i>	1			1
O16	<i>S. Hvitvingfoss</i>	2			2
	O16UT	1			1
O39	<i>S. Champaign</i>	1			1
O UT	UT	1			1
計		138(44)	27(8)	11(7)	176(59)

( ): 薬剤耐性株数

表2 ヒトから分離されたサルモネラの薬剤耐性パターン

	国内		海外有症者	計
	有症者	無症者		
供試菌株数	138	27	11	176
耐性株数	44	8	7	59
(%)	31.9%	29.6%	63.6%	33.5%
薬剤耐性パターン				
SM	17	2		19
TC	2			2
ABPC	1			1
NA	2	2	2	6
CP・SM	1			1
SM・TC	3	2	1	6
SM・NA	1			1
TC・NA		1		1
KM・ABPC	1			1
ABPC・NA			1	1
ABPC・ST	1			1
CP・SM・ABPC	1			1
SM・TC・KM	1			1
TC・KM・NA		1		1
NA・CPFX・NFLX			1	1
CP・SM・TC・ST	1			1
SM・TC・KM・ST	1			1
CP・SM・ABPC・NA・ST			1	1
CP・SM・TC・KM・ST	1			1
SM・TC・KM・ABPC・NA	1			1
CP・SM・TC・ABPC・NA・ST			1	1
CP・SM・TC・ABPC・NA・CPFX・NFLX	4			4
CP・SM・TC・ABPC・NA・GM・ST	1			1
CP・TC・ABPC・NA・CPFX・NFLX・GM	2			2
CP・SM・TC・ABPC・NA・CTX・CPFX・NFLX・GM	1			1
CP・SM・TC・ABPC・NA・CTX・CPFX・NFLX・GM・ST	1			1
計	44	8	7	59

CP:クロラムフェニコール, SM:ストレプトマイシン, TC:テトラサイクリン, KM:カナマイシン  
 ABPC:アンピシリン, NA:ナリジクス酸, CTX:セフトキシム, CPFX:シプロフロキサシン  
 GM:ゲンタマイシン, FOM:ホスホマイシン, NFLX:ノルフロキサシン, ST:ST合剤

表 3 埼玉県内のフルオロキノロン耐性 *Salmonella* 分離例(2006)

No.	血清型名	年齢区分	菌分離日	耐性パターン	ファージ型
1	Typhimurium	50代	2006年2月	CP・TC・ABPC・NA・CPFX・GM・NFLX	193
2	Typhimurium	0-9	2006年4月	CP・SM・TC・ABPC・NA・CPFX・NFLX	12
3	Typhimurium	50代	2006年4月	CP・TC・ABPC・NA・CPFX・GM・NFLX	193
4	Typhimurium	0-9	2006年4月	CP・SM・TC・ABPC・NA・CPFX・NFLX	12
5	Typhimurium	0-9	2006年4月	CP・SM・TC・ABPC・NA・CPFX・NFLX	12
6	Typhimurium	0-9	2006年4月	CP・SM・TC・ABPC・NA・CPFX・NFLX	12
7	Typhi	30代	2006年7月	NA・CPFX・NFLX	UVS4
8	Typhimurium	60代	2006年8月	CP・SM・TC・ABPC・NA・CTX・CPFX・NFLX・GM	193
9	Typhimurium	0-9	2006年9月	CP・SM・TC・ABPC・NA・CTX・CPFX・NFLX・GM・SXT	193

表 4 イヌおよびネコからのサルモネラ分離状況(2006)

由来動物	検査数	検出数(陽性率)	血清型	検出数	薬剤感受性パターン
イヌ	148	4 (2.7%)	<i>S.Nagoya</i>	1	感受性
			<i>S.Corvallis</i>	3	感受性
ネコ	188	6 (3.2%)	<i>S.Typhimurium</i>	1	C,T,ABPC,N,CPFX,GM,NFLX
			<i>S.Nagoya</i>	5	感受性



表 5 腸管出血性大腸菌の血清型と毒素型(2006)

血清型	毒素型	検出数	血清型	毒素型	検出数
O157:H7	VT1&2	31	O111: H-	VT1&2	16
O157:H7	VT2	35	O111: H-	VT1	3
O157:H-	VT1&2	6	O103: HUT	VT1	1
O157:H-	VT2	1	O165: H-	VT2	1
O26:H11	VT1	6	合計		101
O26:H-	VT1&2	1			

表 6 埼玉県内でヒトから分離された腸管出血性大腸菌の薬剤耐性パターン(2006)

	O157:H7	O157:H-	O26:H11	O26:H-	O111:H-	O103:HUT	O165:H-	計
供試菌株数	66	6	6	1	19	1	1	101
耐性株数	4	1	2	1	18	0	0	26
(%)	6.1%	16.7%	33.3%	100.0%	94.7%	0.0%	0.0%	25.7%
薬剤耐性パターン								
SM	1		2					3
TC	1							1
SM・TC	1							1
SM・ABPC	1							1
SM・NA					1			1
TC・KM					1			1
SM・TC・KM・ABPC				1	15			16
SM・TC・KM・ABPC・NA					1			1
SM・TC・KM・ABPC・SXT		1						1

CP:クロラムフェニコール, SM:ストレプトマイシン, TC:テトラサイクリン, KM:カナマイシン,  
 ABPC:アミノペンシリン, NA:ナリジクス酸, CTX:セフトキシム, CPMX:シプロフロキサシン,  
 GM:ゲンタマイシン, FOM:ホスホマイシン, NFLX:ノルフロキサシン, SXT:ST合剤

表 7 埼玉県内のCTX耐性 *Shigella* 分離例(2006)

No.	血清型	年齢区分	菌分離日	耐性パターン	海外渡航歴
1	<i>S.sonnei</i>	0-9	2006年8月	SM・TC・ABPC・NA・CTX・ GM・SXT	なし
2	<i>S.sonnei</i>	30代	2006年9月	SM・TC・ABPC・NA・CTX・ GM・SXT	中国

表 8 食肉および食肉製品からのサルモネラ分離状況(2006)

	検体数	サルモネラ陽性検体数
鶏肉	52	7(13.5%)
加工肉	7	0
内臓肉	40	1(2.5%)
ミンチ肉	23	4(17.4%)
食肉製品	10	0
計	132	12(9.1%)