

耐性を示す多剤耐性株が9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系薬剤に耐性を示す株が2例から分離された(表3)。血清型は*S. Kentucky*が1株、*S. Schwarzengrund*が1株であった。事例No.1の*S. Kentucky*は食道静脈瘤および肝硬変の既往があり、B型肝炎ウイルス抗原陽性のため通院治療中の患者から分離された。下痢症状を訴え、検便をした結果、当該菌が分離され、キノロン耐性決定領域(quinolone resistance-determining regions: QRDR)においてアミノ酸置換を調べた結果、*gyrA*で2つのコドン(83位のセリン、87位のアスパラギン酸)、*parC*で1つのコドン(80位のセリン)の置換が確認された。事例No.2の*S. Schwarzengrund*は、下痢症状を呈した事以外の詳細については不明であり、原因についても究明できなかった。また、エジプト旅行帰国後に下痢、発熱症状を呈した患者からESBL産生サルモネラが分離された。患者は30代の女性で、旅行後に下痢腹痛発熱があり、市販の解熱鎮痛薬を服用したが、症状が改善せず、近医でCMZの点滴を受け、消化器症状は消失した。しかし、その後も炎症マーカーが高値で持続したため、CT、MRI撮影を行ったところ、卵巣嚢腫と診断され、卵巣嚢腫内容物と腹腔内貯留物から当該菌が分離された。血清型は*S. Virchow*で、*bla_{SHV-12}*型のESBL産生菌であった。

(2) イヌおよびネコ由来サルモネラ

過去の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227頭、ネコ72頭の便を材料として実施した。イヌでは227頭中3頭(1.4%)から分離されたが、ネコでは72頭のいずれからも分離されなかった。イヌ3例の血清型は、1株は*S. Braenderup*と同定されたが、残りの2株は血清型名を決定できなかった。薬剤感受性では、3株とも供試した12薬剤に対して感受性を示した。

(3) 腸管出血性大腸菌

埼玉県内で2007年に、散発下痢症患者およ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134株で最も多く分離された血清型は、O157:H7(VT1&2産生)が73株、次いでO157:H7(VT2産生)の39株であった。分離134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23株(17.2%)であった(表6)。最も多かったのはSM・TC耐性で6株が該当し、次いでSM単剤耐性が5株分離された。今回はフルオロキノロン系薬剤や第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。

(4) 食肉および食肉製品からの分離

2007年、埼玉県内の卸売り市場で食肉および食肉製品 79 検体を購入し、サルモネラの検査を実施した。その結果、鶏肉 11 検体中 6 検体 (54.5%)、内臓肉 15 検体中 5 検体 (33.3%)、ミンチ肉 42 検体中 2 検体 (4.8%)、からサルモネラが分離された (表 7)。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、*S. Infantis* 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 8)。腸管出血性大腸菌 2 株 (OUT) は供試した 12 薬剤すべてに感受性であった。

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。さらに、2007年6月の感染症法改正により病原体の管理が強化されたため、菌株収集で困難に直面している。特に、四種病原体に該

当していない非チフス性サルモネラが、検査室では分離 10 日以内に廃棄されている現状がある。今後は、病院およ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、臨床検査技師会の協力を得ながら、研修会等を開催し、その場を通じて、菌株の保存収集に対する理解と啓発を図っていく。それと同時に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およ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が前年に引き続き検出された。しかし、2007年6月の感染症法改正により病原体の管理が強化されたため、菌株の収集が困難となり、結果的に耐性菌の検出が困難になりつつある。耐性菌の検出状況を正確に把握するためにも、検査機関や病院の検査室などとの連携が、今まで以上に必要である。

F. 研究発表

(学会発表)

なし

(論文発表)

なし

G. 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(2007)

O血清型	血清型名	国内		海外	計
		有症者	無症者		
O4	<i>S. Paratyphi B</i>	1			1
	<i>S. Stanley</i>	2		1	3
	<i>S. Schwarzengrund</i>	1(1)			1(1)
	<i>S. Saintpaul</i>	5(1)	2(1)		7(2)
	<i>S. Agona</i>	2	3		5
	<i>S. Typhimurium</i>	13(5)	2(2)		15(7)
	<i>S. Brandenburg</i>		1(1)		1(1)
	O4UT	5(2)	1		6(2)
O7	<i>S. Choleraesuis</i>	1(1)			1(1)
	<i>S. Braenderup</i>	2			2
	<i>S. Montevideo</i>	1	3		4
	<i>S. Thompson</i>	3	2		5
	<i>S. Potsdam</i>		1		1
	<i>S. Virchow</i>	3(2)			3(2)
	<i>S. Infantis</i>	4(1)	1		5(1)
	<i>S. Mbandaka</i>		1		1
	<i>S. Tennessee</i>	1			1
O8	<i>S. Nagoya</i>	3	3		6
	<i>S. Manhattan</i>	4(4)	1		5(4)
	<i>S. Newport</i>	2	3		5
	<i>S. Kentucky</i>	1(1)			1(1)
	<i>S. Blockley</i>	1(1)			1(1)
	<i>S. Litchfield</i>	4(1)	1		5(1)
	<i>S. Hadar</i>	2(2)			2(2)
	<i>S. Corvallis</i>	1(1)			1(1)
	O8UT	2			2
O9	<i>S. Typhi</i>	1		1	2
	<i>S. Enteritidis</i>	35(22)	6(4)		41(26)
	<i>S. Panama</i>		1		1
O3, 10	<i>S. Anatum</i>	1(1)		2(2)	3(3)
	<i>S. London</i>	1			1
	<i>S. Weltevreden</i>	1	1		2
	<i>S. Amager</i>		1		1
	<i>S. Lexington</i>		1		1
計	104(43)	35(8)	4(2)	143(53)	

(): 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(2007)

	国内		海外有症者	計
	有症者	無症者		
供試菌株数	104	35	4	143
耐性株数	43	8	2	53
(%)	41.3%	22.9%	50.0%	37.1%
薬剤耐性パターン				
CP	1			1
SM	18	4		22
TC	1			1
ABPC	1			1
NA	1			1
CP・SM	2			2
SM・TC	6	1		7
TC・ABPC			2	2
ABPC・NA	2			2
CP・TC・ABPC	1			1
SM・TC・KM	1			1
SM・TC・ABPC	2			2
TC・KM・ABPC		1		1
CP・SM・TC・ABPC		2		2
CP・SM・TC・ST	1			1
SM・TC・KM・ABPC	1			1
TC・ABPC・NA・ST	1			1
SM・TC・ABPC・NA・CPFX・NFLX・GM	1			1
CP・SM・TC・ABPC・NA・GM・ST	2			2
CP・SM・TC・NA・CPFX・GM・NFLX・ST	1			1
計	43	8	2	53

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(2007)

No.	血清型名	年齢区分	菌分離日	耐性パターン
1	Kentucky	50代	2007年7月	SM・TC・ABPC・NA・CPFX・NFLX・GM
2	Schwarzengrund	60代	2007年8月	CP・SM・TC・NA・CPFX・NFLX・GM・SXT

表 4 イヌおよびネコからのサルモネラ分離状況(2007)

由来動物	検査数	検出数(陽性率)	血清型名	検出数	薬剤感受性
イヌ	227	3 (1.37%)	<i>S. Braenderup</i>	1	感受性
			UT*(O4:i:-)	1	感受性
			UT*(OUT:Z ₄ ,Z ₂₃ : -)	1	感受性
ネコ	72	0(0%)		0	

*: UnTypable

表 5 腸管出血性大腸菌の血清型と毒素型(2007)

血清型	毒素型	検出数	血清型	毒素型	検出数
O157:H7	VT1&2	73	O1:H7	VT2	1
O157:H7	VT2	39	O103:H2	VT1	1
O157:H-	VT1&2	2	O111:H-	VT1	4
O157:H-	VT2	3	O121:H19	VT2	1
O26:H11	VT1	9	合計		134
O26:H11	VT2	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(2007)

	O157:H7	O157:H-	O26:H11	O1:H7	O103:H2	O111:H-	O121:H19	計
供試菌株数	112	6	10	1	1	4	1	134
耐性株数	15	1	5	0	0	1	1	23
(%)	13.4%	16.7%	50.0%	0.0%	0.0%	25.0%	100.0%	17.2%
薬剤耐性パターン								
CP							1	1
SM	4					1		5
TC	1							1
ABPC	2							2
SM・TC	2		4					6
SM・ABPC	2		1					3
CP・SM・TC		1						1
SM・TC・SXT	1							1
SM・ABPC・FOM	1							1
SM・ABPC・SXT	2							2

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:アミノペニシリン, NA:ナリジクス酸, CTX:セフトキシム, CPM: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 食肉および食肉製品からのサルモネラ分離状況(2007)

区分	検体数	陽性数	血清型名(検出数)
鶏肉	11	6	S.Infantis (5) S.Hadar (1)
加工肉	5	0	
内臓肉	15	5	S.Derby (2) S.Typhimurium (1) S.Infantis (1) O UT:r:1,5 (1)
ミンチ肉	42	2	S.Infantis (2)
食肉製品	6	0	
計	79	13	

表 8 食肉および食肉製品から分離されたサルモネラの血清型と耐性パターン(2007)

耐性パターン	血清型名				
	Derby	Typhimurium	Infantis	Hadar	その他
感受性			2		
SM,TC	1		3	1	
TC,NA					1
SM,TC,SXT			1		
CP,SM,TC,ABPC		1			
SM,TC,KM,ABPC,SXT			2		
CP,SM,TC,KM,ABPC,NA	1				

厚生労働科学研究費補助金（食品の安心・安全確保推進研究事業）
「薬剤耐性食中毒菌サーベイランスに関する研究」
平成19年度 分担研究報告書

課題名 ヒト由来腸内細菌の薬剤耐性の疫学的研究

分担研究者 東京都健康安全研究センター・微生物部
甲斐 明美

研究協力者 東京都健康安全研究センター・微生物部
横山 敬子, 金子 誠二, 小西 典子

研究要旨：

ヒトおよび食品から分離された食中毒起因菌について薬剤耐性化の動向を把握することは、耐性菌がヒトへ与える影響を判断するためのデータとして重要である。そこで本年は食品およびヒト由来サルモネラ血清型 Typhimurium (ST) およびカンピロバクターを対象に、薬剤耐性菌の出現状況について調べた。更に食品の MRSA 汚染状況についても調べた。

2007年に分離された食品由来 ST はいずれも感受性株であった。一方、2000年～2007年に分離されたヒト由来 ST 株の耐性率は25～70%で、TC, Su, ABPC, SM に耐性を示す株が多かった。2007年に分離された ST 17 株中 7 株 (63.6%) が耐性株であった。これらは全て 2 薬剤以上に耐性を示した多剤耐性株で、11 薬剤以上に耐性を示した株も 2 株分離された。これらはいずれもニューキノロン耐性で、いずれも 3 才以下の幼児から検出されたが、感染源等は不明であった。

C.jejuni のニューキノロン耐性率は30%前後で推移していた。治療の第一選択薬である EM に対する耐性率は毎年1～2%程度で推移しており、大きな変動はなかった。

食品中の MRSA 汚染を調べた結果、1 件（レバ刺し）から MRSA が検出された。今後、より正確に汚染状況を把握すると共に、ヒトへの影響等を考察するためにも、菌株数を増やして調査していく必要がある。

A. 研究目的

近年、サルモネラやカンピロバクター等の食中毒起因菌の薬剤耐性化、特にニューキノロン剤を含む多剤耐性化が世界的に問題になっている。

ヒトおよび食品から分離された食中毒起因菌について薬剤耐性化の動向を把握することは、耐性菌がヒトへ

与える影響を判断するためのデータになるだけでなく、耐性菌出現のメカニズムを解明するためにも重要である。

そこで今回、本年はサルモネラの中でも検出頻度の高いサルモネラ血清型 Typhimurium (ST) およびカンピロバクターを対象に、薬剤耐性菌の出

現状について調べた。

また食品中のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) 汚染状況を把握するために、食品から分離された黄色ブドウ球菌についてメチシリン耐性を調べた。

B. 研究方法

1. 供試菌株

1) サルモネラ血清型 Typhimurium

2000年～2007年に病院等で分離され当研究センターに搬入されたヒト由来株および当センターで分離されたヒト由来株合計 71 株を供試した。集団事例由来株については、1 事例 1 株とした。

また 2007 年については食品由来 2 株および環境由来株 8 株を供試した。

2) ヒト由来カンピロバクター

2006 年に東京都内で分離された散发下痢症由来 *C.jejuni* 168 株および *C.coli* 19 株を供試した。

3) 食品由来黄色ブドウ球菌

食中毒関連食品 (残品, 検食, 参考品) 92 検体から分離された黄色ブドウ球菌 94 株を供試した。

2. 薬剤感受性試験

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

(FOM), ノルフロキサシン (NFLX), スルfoisキサゾール (Su) の 14 薬剤を供試した。ただし 2000 年から 2004 年までは OFLX の代わりにトリメトプリム (TMP) を使い, Su は 2004 年から追加した。

カンピロバクターには NA, NFLX, OFLX, CPFX, エリスロマイシン (EM) および TC の 6 薬剤を供試した。

感受性試験は米国臨床検査標準化協会 (CLSI) に従い, センシディスク (BBL) を用いた KB 法によって行った。

3. MRSA の検出

食品から分離された黄色ブドウ球菌について, オキサシリンを用いた薬剤感受性試験 (KB 法) および MRSA スクリーニング培地 (BBL) 上での発育試験を行った。オキサシリン耐性および MRSA スクリーニング培地上に発育が認められた株を MRSA と判定した。

C. 研究結果

1. ST の薬剤耐性

2000 年～2007 年にヒトから分離された 71 株について薬剤感受性試験を行った成績を図 1 に示した。年次別耐性菌出現率は 55.6% (2000 年), 46.2% (2001 年), 35.5% (2002 年), 55.5% (2004 年), 71.4% (2005 年), 25.0% (2006 年), 63.6% (2007 年) であり, 耐性率は 25～70% で年により差が認められたが, 著しい増加傾向は認められなかった。

薬剤別耐性率では、TC が 49.3%、Su 48.6%、ABPC 45.1%、SM 43.7%、CP 40.8%で比較的高く、その他の薬剤は 2.9%~18.3%の耐性率であった。FOM 耐性株は認められなかった (図 2)。

耐性率が高かった TC, Su, ABPC, SM について、耐性率の年次変化を調べた結果、いずれも耐性率に大きな変化はなかった (図 3)。

2007 年に分離された ST 中ヒト由来株では 17 株中 7 株 (41.2%) が耐性株であった。一方、食品由来の 2 株および環境由来の 8 株はいずれも感受性株であった (表 1)。ヒト由来の耐性菌 7 株はいずれも 2 薬剤以上の多剤耐性株で、11 薬剤あるいは 12 薬剤に耐性であった株が各 1 株 (No.5, No.7) 認められた (表 2)。菌株 No.5 および No.7 のキノロン系薬剤に対する MIC 値を測定した結果、いずれも CFX の MIC 値が 2.0 μ g/ml 以上であり、キノロン系薬剤に対し耐性菌であった (表 3)。

2. カンピロバクターの薬剤耐性

2006 年に東京都内で分離された散发下痢症由来 *C.jejuni* 168 株および *C.coli* 19 株の薬剤感受性試験を実施した。*C.jejuni* では TC 耐性が 28 株 (16.7%)、NA や CFX をはじめとしたキノロン系薬剤耐性株が 60 株 (35.7%) で、1 剤以上の薬剤に耐性株が全体の 52.4%であった (表 4)。一方 *C.coli* では、19 株中 8 株 (42.1%) が耐性株であった (表 5)。薬剤別耐性率

を調べた結果、*C.coli* は *C.jejuni* に比べて、EM 以外の薬剤で耐性率が高かった (図 4)。

1996~2006 年までに分離されたカンピロバクターのキノロン系薬剤耐性率は、25%~38%程度でほぼ横ばい状態である。一方治療の第一選択薬である EM 耐性率は低く 1~2%程度であった (図 5)。

3. 食品からの MRSA の検出

食中毒関連食品 92 検体から分離された黄色ブドウ球菌 94 株について、オキサシリンに対する薬剤感受性および MRSA スクリーニング培地上での発育を調べた結果、1 株 (1.1%) が MRSA であると推定された。MRSA が検出された食品は、レバ刺し (参考品) で、黄色ブドウ球菌数は食品 1g あたり 300 個以下と低かった。

D. 考察

2007 年に分離された食品由来 ST 株は 2 株であったが、いずれも薬剤感受性株であった。

一方、ヒト由来 ST 株の耐性率は 25~70%であった。薬剤別では TC, Su, ABPC, SM で耐性率が高い傾向が認められたが、耐性率の年次変化を調べた結果、いずれも耐性率に大きな変化はなかった。

2007 年に分離された ST 17 株中 7 株 (41.2%) が耐性株であった。これらは全て 2 薬剤以上に耐性を示した多剤耐性株で、11 薬剤あるいは 12 薬剤に耐性であった株も各 1 株認められた。

これらはいずれもニューキノロン耐性株であった。11 薬剤耐性株は 3 才男児から、12 薬剤耐性株は 1 才男児から検出され、いずれも多剤耐性株は幼児からの分離であった。1 才男児は発症前に生鶏肉の喫食が疑われたが、いずれも感染源等は不明であった。

下痢症患者由来 *C.jejuni* のニューキノロン耐性率は毎年 30%前後で推移しており、2004 年の 38.8%が最も高かった。治療の第一選択薬である EM では耐性菌はほとんど出現しておらず、大きな変動はなかった。

C.coli は *C.jejuni* に比べて分離数が非常に少なかったが、EM 以外のいずれの薬剤でも *C.jejuni* より耐性率が高い傾向であった。今後もこれらの動向に注意する必要がある。

食品中の MRSA 汚染を調べた結果、1 件 (レバ刺し) から MRSA が検出された。更に、より正確に汚染状況を把握すると共に、ヒトへの影響等を考察するためにも、今後菌株数を増やして調査していく必要がある。

E. 結論

2007 年に分離された食品由来 ST 株は 2 株であったが、いずれも薬剤感受性株であった。しかしヒト由来 ST 株の耐性率は 25~70%であった。薬剤別では TC, Su, ABPC, SM で耐性率が高い傾向であったが、大きな年次変化は認められなかった。2007 年には 11 薬剤または 12 薬剤に耐性を示した株が検出された。これらはいずれもニューキノロン耐性株で 3 才以下の

幼児からの検出であったが、感染源等は不明であった。

C.jejuni のニューキノロン耐性率は 30%前後で推移していた。治療の第一選択薬である EM に対する耐性率は毎年 1~2%程度で推移しており、大きな変動はなかった。

C.coli の耐性率は *C.jejuni* よりも高かった。今後の動向に注意が必要である。

MRSA は食品 92 検体中 1 検体 (レバ刺し) から分離された。

F. 健康危機情報

ST の耐性率は年によって異なるが、耐性菌では、2 薬剤以上の薬剤に耐性を示す多剤耐性菌が多く検出される傾向にある。特に 11 薬剤以上に耐性を示す株は幼児から検出される例が多いため、注意が必要である。

カンピロバクターのニューキノロン耐性菌出現率は毎年 30%前後であった。今後、食品の汚染実態調査も含め、耐性菌出現状況を的確に把握し、耐性菌出現の要因についても精査する必要がある。

G. 研究発表 準備中

H. 知的所有権の取得状況 なし

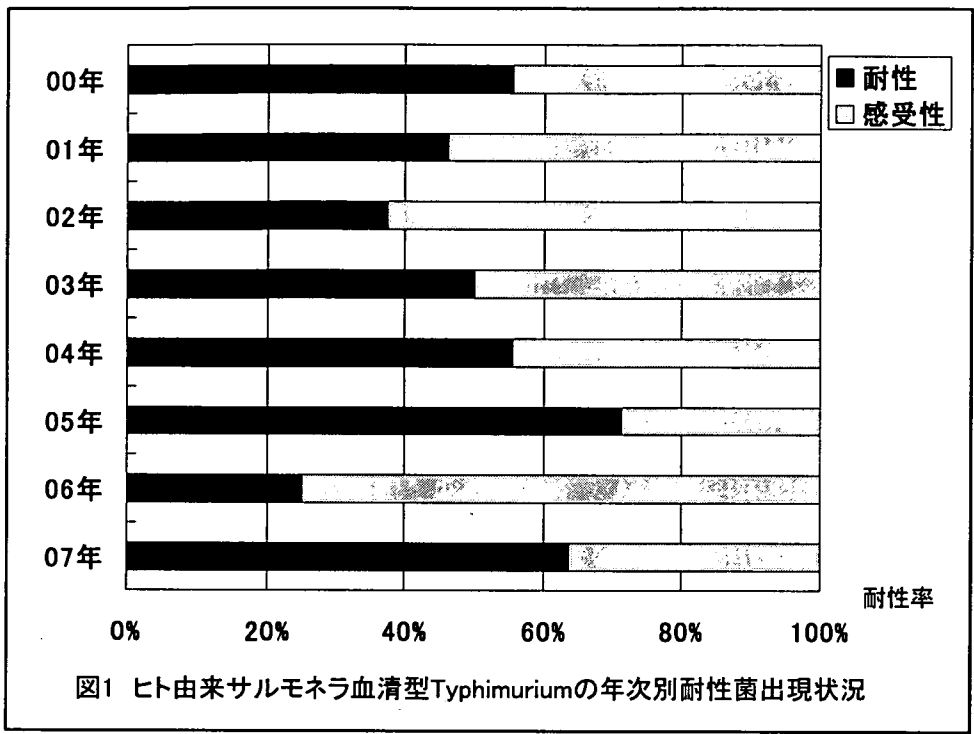


図1 ヒト由来サルモネラ血清型Typhimuriumの年次別耐性菌出現状況

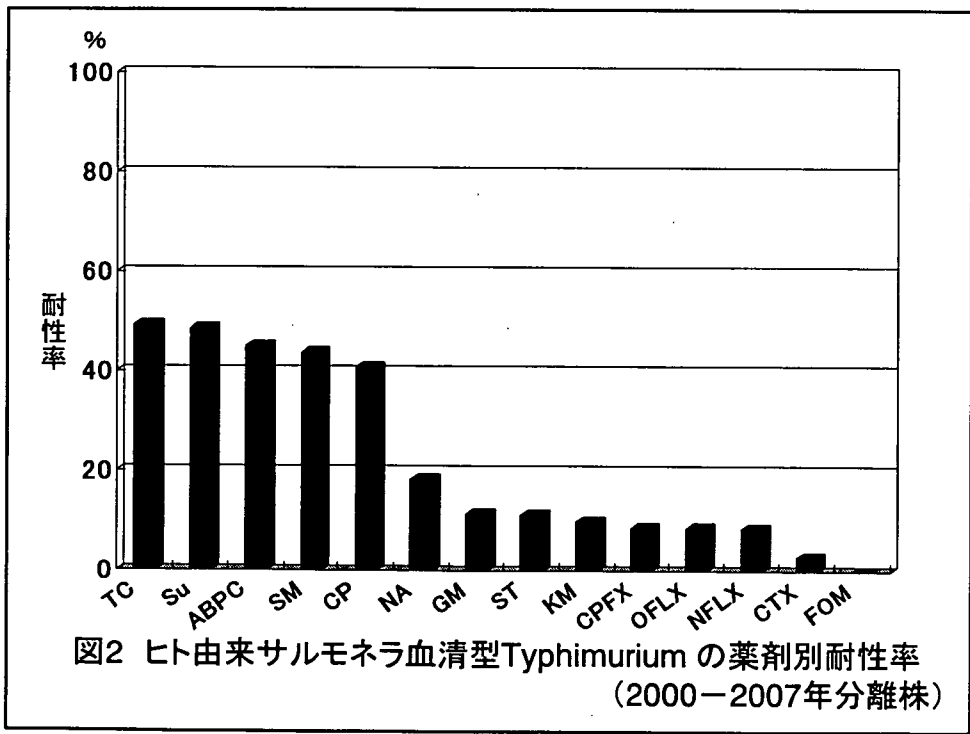


図2 ヒト由来サルモネラ血清型Typhimuriumの薬剤別耐性率 (2000-2007年分離株)

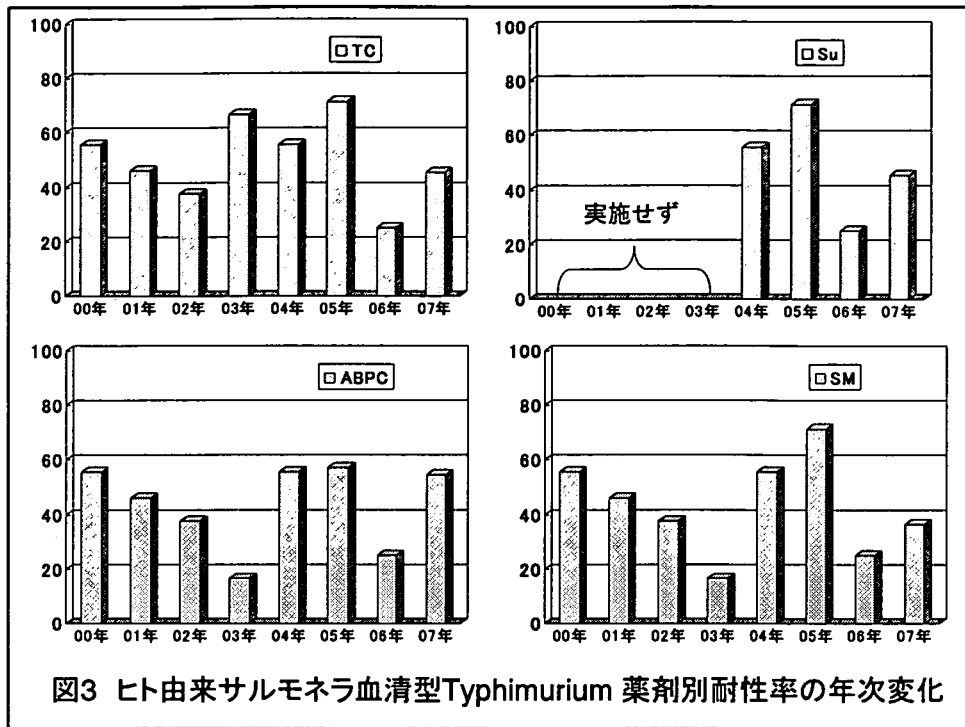


表1 2007年に分離されたS.Typhimurium の薬剤感受性試験成績

由来	分離数	感受性菌	耐性菌	備考
ヒト	17*	10	7 (41.2%)	
食品	2	2	0	肉団子, 合鴨生肉
環境	8	8	0	同一事例由来株

表2 2007年に分離されたヒト由来多剤耐性 *S. Typhimurium*

No	搬入月日	年齢	性別	耐性数	耐性薬剤
1	5月29日	2才	男	5薬剤	CP,TC,SM,ABPC,Su
2	6月18日	51才	男	5薬剤	CP,TC,SM,ABPC,Su
3	6月22日	不明	不明	2薬剤	ABPC,KM
4	8月2日	65才	男	4薬剤	KM,ABPC,GM,NA
5	8月13日	3才	男	11薬剤	CP,TC,GM,SM,ABPC,ST,NA,CPFX,OFLX,NFLX,Su
6	8月16日	71才	女	4薬剤	CP,TC,ST,Su
7	2月5日(分離)	1才	男	12薬剤	CP,TC,GM,SM,ABPC,ST,NA,CTX,CPFX,OFLX,NFLX,Su

表3 2007年に分離された多剤耐性 *S. Typhimurium* のキノロン系薬剤に対するMIC値

No.	MIC ($\mu\text{g/ml}$)				
	CPFX	NA	OFLX	NFLX	LVFX
No.5	12	>256	>32	32	8
No.7	8	>256	>32	24	8

CFLX(基準値)

耐性: ≥ 2.0 , 低感受性: $0.1-1.0$, 感受性: < 0.1

表4 散発下痢症由来*C.jejuni*の薬剤耐性パターン
(2006年, 東京都)

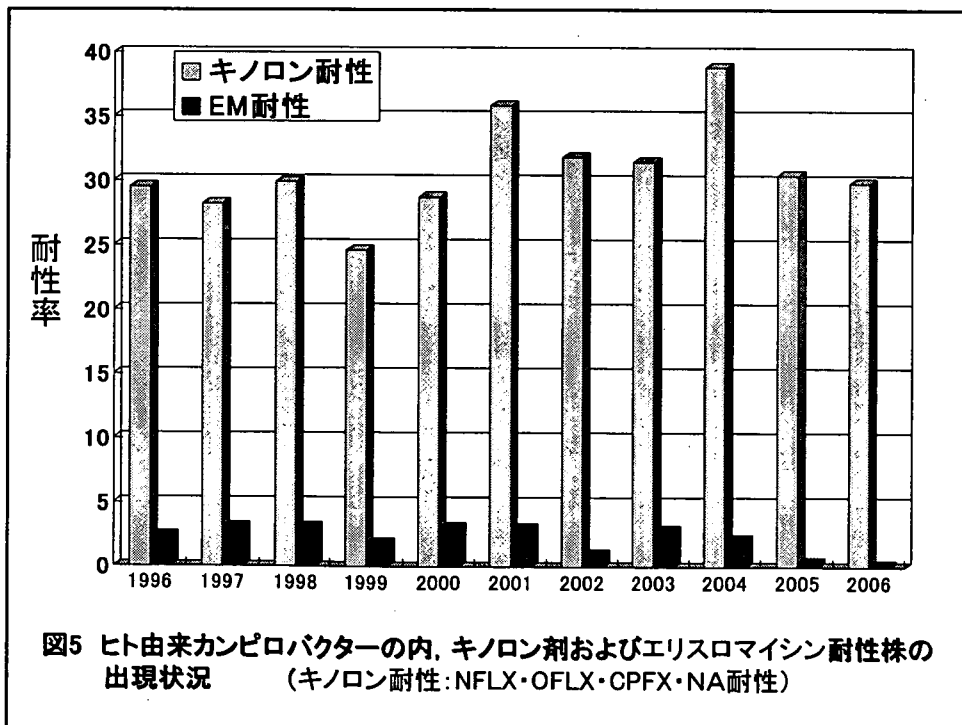
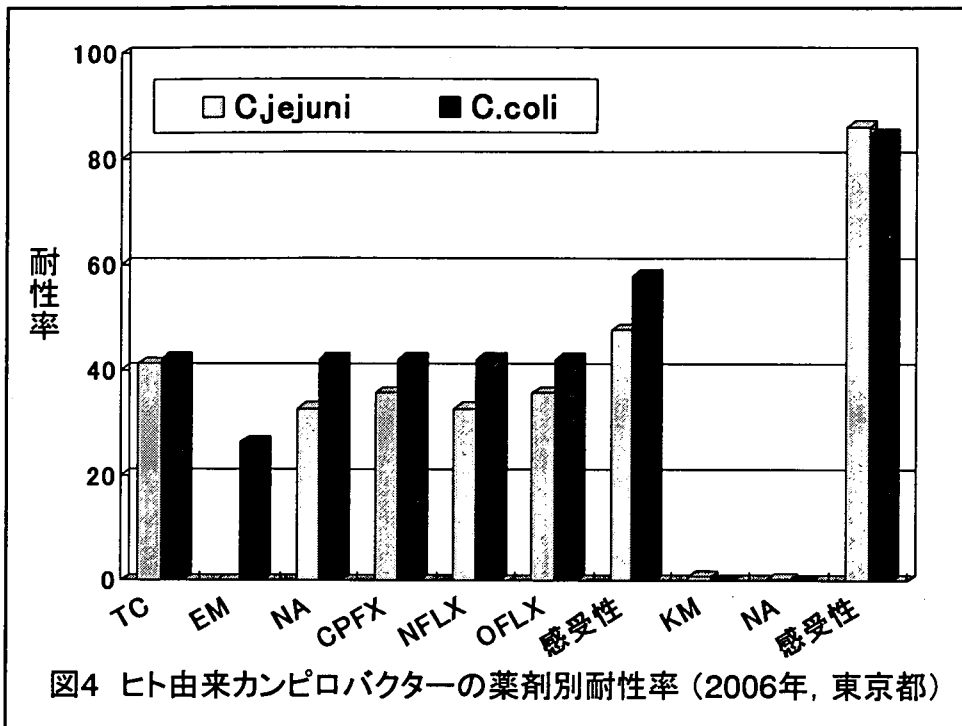
耐性パターン	耐性菌株数(%)
TC	28 (16.7)
CPFX,OFLX,TC	5 (3.0)
CPFX,NFLX,OFLX,NA	19 (11.3)
CPFX,NFLX,OFLX,NA,TC	36 (21.4)
感受性	80 (47.6)
合計	168 (100)

供試薬剤: CPFX, NFLX, OFLX, NA, TC, EM

表5 散発下痢症由来*C.coli*の薬剤耐性パターン
(2006年, 東京都)

耐性パターン	耐性菌株数(%)
CPFX,NFLX,OFLX,NA, TC	3 (15.8)
CPFX,NFLX,OFLX,NA, TC, EM	5 (26.3)
感受性	11 (57.9)
合計	19 (100)

供試薬剤: CPFX, NFLX, OFLX, NA, TC, EM



厚生労働科学研究費補助金（食品安全確保研究事業）

平成 19 年度 分担研究報告書

食中毒菌の薬剤耐性獲得のリスクマネジメントに関する研究

分担研究者 五十君静信 国立医薬品食品衛生研究所 室長
研究協力者 山本茂貴 国立医薬品食品衛生研究所 部長
研究協力者 岡田由美子 国立医薬品食品衛生研究所 主任研究官
研究協力者 朝倉 宏 国立医薬品食品衛生研究所 研究員
研究協力者 山崎 学 国立医薬品食品衛生研究所 協力研究員
研究協力者 石和 玲子 国立医薬品食品衛生研究所 協力研究員

研究要旨

わが国において、カンピロバクターやサルモネラは、食中毒発生事例が多く、代表的な食中毒起因菌であるが、抗生物質耐性菌が増加傾向にあり、問題となっている。一方、スウェーデン王立研究所の研究により、鶏に用いられたアポバルシンと、バンコマイシン耐性腸球菌の出現に因果関係が示され、耐性菌の出現に食肉動物の飼料に用いられた抗菌物質が関与していることが示唆されている。本分担研究では、主にカンピロバクターに注目して食品分離株における耐性に関わる検討を行うと共に、研究班全体より得られた生産段階、食品、臨床といったそれぞれの分離株に関する耐性に関する情報を基に、耐性菌出現防止に関わるリスクマネジメント手法の検討を目的とした。

鶏は飼育中に各種の抗生物質を使用するため、これが鶏由来カンピロバクター分離株に抗生物質耐性菌が高率に出現する一因と考えられる一方、牛については一般的には飼育中に抗生物質を使用しないため、鶏由来のカンピロバクター分離株と比較した場合、牛由来のカンピロバクター分離株は抗生物質耐性菌の出現率は低いものと推測された。

H19 年度においては、前年度に従来法であるディスク法との整合性を検証したマイクロタイタープレート法（MP 法）により、大分県食肉検査所から提供を受けた牛由来カンピロバクター分離株について、各種抗生物質に対する耐性獲得状況の調査を行い、全国 9 箇所の地方衛生研究所の協力により収集された全国の鶏由来カンピロバクター分離株の抗生物質耐性獲得状況との比較を行った。その結果、牛由来カンピロバクター分離株においては、調査した全ての抗生物質について、鶏由来カンピロバクター分離株よりも耐性獲得株が少ないことが判明した。しかし、鶏由来分離株に比べて低頻度ではあっても、牛由来カンピロバクター分離株の中にも抗生物質耐性株が含まれており、これらの抗生物質耐性株の動物並びに環境中での挙動を推定するため、パルスフィールドゲル電気泳動法により、鶏由来カンピロバクター分離株と、牛由来カンピロバクター分離株のパターンを比較した。その結果から、一部で鶏と牛間のカンピロバクター菌株の移動があることが示唆された。

A. 研究目的

カンピロバクター等の食中毒菌の抗菌剤耐性獲得に関するデータを収集し、耐性菌出現防止に関わるリスクマネジメント手法の基礎となり、耐性菌の出現の防止に有効な対策に関する情報を提供する。

B. 研究方法

食中毒菌特にカンピロバクターを主な対象菌として日本国内における情報およびデータの収集を行うとともに、食品（鶏肉および牛肉）における定量的な汚染実態と抗生物質耐性獲得状況についてわが国の実態を明らかにする。米国 FDA により行われたリスクアセスメントの情報を参考に、耐性獲得リスクマネジメントに関する検討を試みる。実験としては、以下に示す 10 機関において 2005～2006 年に市販鶏肉より分離されたカンピロバクター分離株の提供を受け、MP 法により得られた抗生物質耐性獲得状況を、同様に 2006 年に大分県食肉処理所で分離された牛由来カンピロバクター分離株の提供を受け、MP 法により得られた抗生物質耐性獲得状況と比較した。

国立医薬品食品衛生研究所
東京都健康安全研究センター
埼玉県衛生研究所
秋田県衛生科学研究所
群馬県衛生環境研究所
愛知県衛生研究所
大阪府立公衆衛生研究所
広島市衛生研究所
山口県環境保健研究センター
熊本県保健環境科学研究所

また、上記 10 機関の分離株の一部について、

パルスフィールドゲル電気泳動により、牛由来株と電気泳動パターンを比較した。尚、ゲノムパターンを比較した株については、パルスフィールドゲル電気泳動と併せて、各種形質（Penner 血清型、PCR による遺伝子マーカーの検出、プラスミドの有無等）についての調査も行った。

C. 研究結果

2006 年に分離された牛由来カンピロバクター分離株について、MP 法により抗生物質 NA, TC, EM, CP, GM, ABPC, CPF, LVFX の 8 剤について、耐性獲得状況の検査を行うと同時に、個々の抗生物質 NA, TC, EM, CPF, LVFX, ABPC について耐性獲得のブレイクポイントとなる最小成育阻止濃度 (MIC) を決定した (図 2～図 9)。この結果を、前年度に得られた市販鶏肉由来カンピロバクター分離株の耐性獲得状況と比較した (表 1、2 および図 11)。表 1、2 に示すとおり、鶏由来株と牛由来株の薬剤耐性獲得状況を比較したところ、検証を行った全ての抗生物質において、牛由来株に比べて鶏由来株のほうがより高い頻度で耐性を獲得している傾向が示された。しかしながら、牛の飼育中には一般的に抗生物質を使用しないにも関わらず、牛由来のカンピロバクター分離株にも低頻度ながら抗生物質耐性菌が含まれることが判明した。一方、全国 9 地域から収集された鶏由来分離株の一部について、牛由来分離株とともにパルスフィールドゲル電気泳動法（制限酵素は *KpnI* を使用）により、各分離株のゲノムを比較し、分離株同士の類縁関係を解析したところ、鶏由来株、牛由来株はそ

れぞれに由来動物ごとのクラスターを形成していることが判明した(図10)。鶏由来分離株は牛由来分離株のクラスターに比べ、より近縁な菌株が多数集合したクラスターを形成していた。更に、鶏由来分離株のクラスター内部には一部の牛からの分離株が含まれており、牛由来のカンピロバクター分離株の一部は鶏から移動した可能性が強く示唆された。また、少数ながら牛型株のクラスターにも一部鶏からの分離株が含まれており、鶏と牛の間で一部にカンピロバクター菌株の移動が起こりうると考えられた。

D.考察

カンピロバクター食中毒の直接の原因となる危険性が高いのは、鮮度が高い状態で供給される食肉であり、更に、生の喫食を前提としている食肉の場合は、危険性が更に増大する。わが国において、これらの条件に該当し、既にカンピロバクターによる汚染・感染事例が確認されている食肉として挙げられるものには鶏肉(鮮度が高い状態で供給される場合が多く、時に生あるいは不完全な加熱調理を行って喫食される)および「牛のレバ刺し」(生食を前提に鮮度の高い状態で供給されるため)がある。本研究では、これら2種の動物由来の食肉を重点的にモニターすることにより、ヒトへの感染を起こしうるカンピロバクターの抗生物質耐性獲得状況を効率よく把握できるものと判断した。

大分県食肉処理所より2006年に分離された牛由来カンピロバクター分離株の提供を受け、抗生物質耐性獲得状況を調べた。更に、前年度に地方衛生研究所のネットワ

ークにより図1に示す各都府県において分離された市販鶏肉由来カンピロバクター分離株の抗生物質耐性獲得状況と比較した。

各種抗生物質に対する耐性菌のリスク分析にあたり特に重要となるのは、医療機関における耐性菌の出現およびその影響に関する予測である。今年度、本研究において、各種抗生物質に対する耐性菌のリスク分析にあたり重要であると判断して着手したのはヒトに感染を起こすカンピロバクターがどのような由来であるかの解析である。

生産過程において抗菌物質暴露されうる鶏肉に由来するカンピロバクター分離株には、抗生物質耐性菌が高頻度に出現することが調査により判明しているが、本年度においては、生産過程において抗生物質を一般的には使用しない食肉(牛レバー)をモニターし、両者の耐性獲得状況を比較することにより、生産過程における抗生物質の使用がどの程度ヒトにおける臨床的な耐性菌分離に影響を与えているかを示す目的で、収集した鶏由来株と牛由来株についての耐性獲得状況の比較を行った。

表1、2に示すとおり、比較を行った全ての抗生物質について、市販鶏肉由来株は牛由来株に比べて高頻度に耐性を獲得していることが判明した。従って、市販鶏肉由来分離株、屠畜場にて分離される牛由来耐性菌をモニターすることにより、医療の現場における耐性菌の出現およびその耐性獲得パターンを予測すると同時に、抗生物質耐性菌の伝播経路の推定およびヒトへの感染経路の推定にも有用であると期待される。抗生物質耐性菌の伝播・循環経路を推定し、鶏-牛間および家畜(食肉製品)を介したヒトへの県境影響の評価を検討する

上で、重要なデータを取得・提供できるものと期待される。

E. 結論

MP 法により、牛由来分離株の抗生物質耐性獲得状況を調査し、市販鶏肉由来分離株の抗生物質耐性獲得状況と比較した。その結果、調査した全ての抗生物質において市販鶏肉由来株は牛由来株よりも高頻度に耐性を獲得していたことが明らかになる一方で、低頻度ながら牛由来分離株にも抗生物質耐性菌が含まれることが確認された。また、パルスフィールドゲル電気泳動によるゲノムの比較により、牛由来分離株の一部は鶏から移行したものである可能性が示唆された。これにより、カンピロバクターの鶏-牛間の移動により、抗生物質耐性株の伝播・拡散があることが示された。この結果から、鶏由来株の耐性株をモニターすることにより、将来的に医療機関において

出現するヒト臨床分離株における動物性食品を介すると思われる耐性株の傾向の予測が可能となりうると期待された。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

口頭発表

石和玲子、山崎学、岡田由美子、朝倉宏、山本茂貴、五十君静信「市販鶏肉から分離されたカンピロバクター株の抗生物質耐性に関する検討」日本食品微生物学会 2007/9/28

論文発表

藤尾公輔、清水晃、松村浩介、河野潤一、北川浩、五十君静信。(2007) 市販食肉、ヒト、豚および鶏から分離された黄色ブドウ球菌の薬剤感受性。日本食品微生物学会雑誌 24(2):100-106

Campylobacter strains from retail poultry

Total 137

Campylobacter strains from Cattle

Total 45

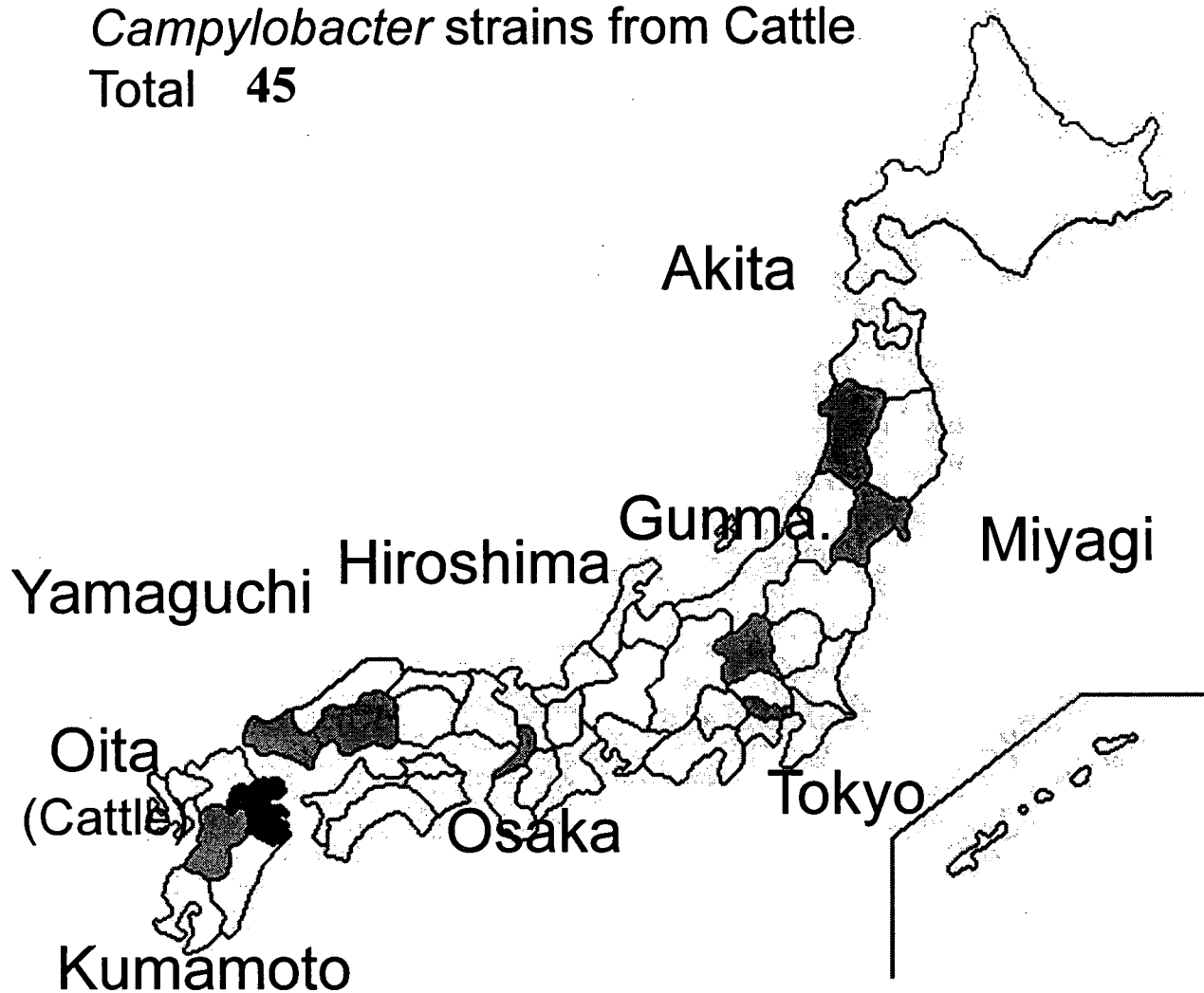


図1. 市販鶏肉または牛肉由来カンピロバクター分離株採集地域