

厚生労働科学研究費補助金（食品安全確保研究事業）
平成 20 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

研究分担者 五十君 静信 国立医薬品食品衛生研究所
浅井 鉄夫 農林水産省動物医薬品検査所
田口 真澄 大阪府立公衆衛生研究所
甲斐 明美 東京都健康安全研究センター
研究協力者 岡田 由美子 国立医薬品食品衛生研究所
入口 翔一 国立医薬品食品衛生研究所
石和 玲子 国立医薬品食品衛生研究所
横山 敬子 東京都健康安全研究センター
西本 清仁 大分県食肉衛生検査所

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パルシンと、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の提供を受け、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研究を進めた。

鶏は飼育中に生産性向上のため抗菌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ている。一方、牛については一般的には飼育中にこのような目的で抗菌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る。

前年度に大分県食肉衛生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ゲノムレベルの相関性を調べた。その結果から、ウシ型、鶏型と呼べるゲノムタイプが存在し、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。さらに研究班の他の分担研究により分離されたカンピロバクター分離株を用いて同様な検討を進めた。

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 年に大分県食肉衛生検査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ゲノムレベルの相関性を調べた。生産現場からの分離株は、動物医薬品検査所、臨床分離株は、大阪府立公衆衛生研究所及び東京都健康安全研究センターに協力を依頼し検討を行った。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

検討したカンピロバクター分離株は、生産現場からの分離株（動物医薬品検査所）、食品としては、市販鶏肉由来株（国立医薬品食品衛生研究所と 9 箇所の地方衛生研究所、日本冷凍食品検査協会仙台支所など）ウシ肝臓由来株（大分県食肉衛生検査所）、ヒト食中毒臨床分離株（大阪府立公衆衛生研究所、東京都健康安全研究センター）で、2005～2006 年に分離されたカンピロバクター・ジェジュニ株を対象とした。協力機関の県別所在地は図 1 に示した。耐性の評価はディスク法または MP 法により抗生物

質 NA, TC, EM, CP, GM, ABPC, CPMX, LVFX の 8 剤について、耐性獲得状況を明らかにした。今回分離された市販鶏肉におけるカンピロバクターの汚染菌数レベルは図 2 に示した。牛由来株の 8 薬剤の MIC 値は、表 1 に示す。大阪府に於いて食中毒事例から分離されたヒト臨床分離株 50 株の 6 薬剤の耐性獲得状況は表 2 に示した。生産現場からの分離株 39 株の 7 薬剤の耐性獲得状況は表 3 に示した。

市販鶏肉由来株と牛肝臓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、牛肝臓由来株に比べて市販鶏肉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見られた（図 3、表 4）。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市販鶏肉由来株の一部について、牛肝臓由来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、市販鶏肉由来株、牛肝臓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 4）。市販鶏肉由来株は牛肝臓由来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、市販鶏肉由来株のクラスター内部には一部の牛肝臓由来株が含まれており、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が

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用肉や内臓肉であり、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。

大分県食肉衛生検査所より 2006 年に分離された牛肝臓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。各種抗生物質に対する耐性菌のリスク分析にあたり、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

でどのような経路から感染しているかを明らかにすることは重要である。

生産過程において一般的に抗菌物質に暴露され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、生産過程において抗菌物質を通常ほとんど使用しない牛内臓肉（牛レバー）分離株をモニターし、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。

図3、表4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肝臓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。図5に示した考察から、市販鶏肉由来株の耐性獲得が高く、牛肝臓由来株の耐性獲得が低値であることは予測通りであった。牛分離株がある程度の耐性を獲得していることからこの耐性獲得について検討を進めた。図6に示すように市販鶏肉及び牛肝臓由来株をパルスフィールドゲル電気泳動法によりゲノム分析を試み、遺伝子レベルで由来株の相関を解析した。図4にその分析結果を示す。牛由来株は図4下部にクラスターを形成し、このような遺伝子型がウシ型と呼ぶようなゲノムを持つと思われる。このクラスターに含まれる菌株の耐性獲得は稀でほとんどみられない。一方、図4の上部に示された菌株はニワトリ型のゲノムと思われる。そのほとんどに耐性獲得が見られる。興味深いのはこれらに牛分離株が認められる。この事実は鶏と牛の間である程度の菌株の移行が存在することを示すと思われる。菌株

の移行により鶏で耐性を獲得したカンピロバクター菌株が牛へ移行しているものと考えられる。

研究班の研究分担者からヒト臨床分離株の提供を受け、その耐性獲得状況は表2に示したが、今後これらのヒト臨床分離株のゲノムがニワトリ型かウシ型であるかは興味深い。表5には、カンピロバクター・リファレンスセンターが調べたヒト臨床分離株の2006年度の耐性獲得状況と我々研究班の行った市販鶏肉由来株の比較である。市販鶏由来株の耐性頻度は、ヒト臨床分離株よりやや高いことが判る。市販鶏肉由来株、屠畜場にて分離される牛肝臓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

調査した全ての抗生物質において市販鶏肉由来株は牛肝臓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、低頻度ながら牛肝臓由来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、牛肝臓由来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。鶏由来株やと畜場での牛肝臓由来株における耐性獲得状況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る。

F. 健康危機情報
なし

G. 研究発表
口頭発表

石和玲子「鶏および牛由来カンピロバクター分離株の抗生物質耐性獲得状況について」第24回日本環境感染学会総会シンポジウム, 2009/2/28

論文発表

Igimi S., Okada Y., Ishiwa A., Yamasaki M., Morisaki N., Kubo Y., Asakura H. and Yamamoto S. (2008) Antimicrobial resistance of *Campylobacter*: Prevalence and trends in Japan. *Food Addit Contam.* 25(9):1080-1083.



図1. 市販鶏肉または牛由来カンピロバクター
分離株採集地

上記9都府県において市販鶏肉または牛由来検体の収集、
カンピロバクターの分離および薬剤耐性獲得状況について
調査が行われた

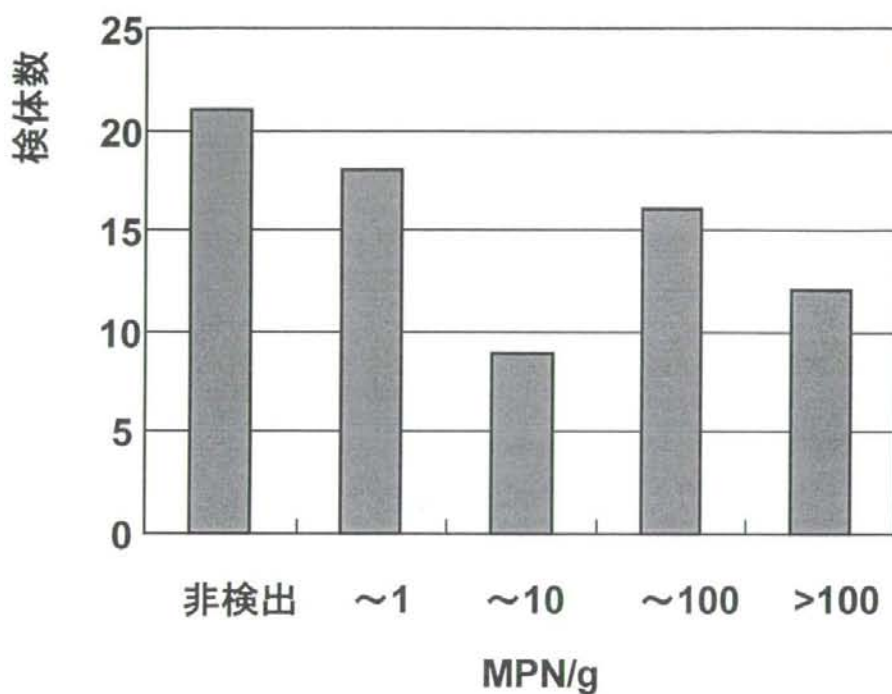


図2. 市販鶏肉におけるカンピロバクター汚染菌数レベル

鶏肉検体1g当たりのカンピロバクター生菌数 (n=76)

表1. 牛由来 *C. jejuni* 49株の薬剤耐性獲得状況

	薬剤濃度 (μg/ml)											
	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128※	>128※
NA				1	1	6	18	5		3	10	5
CPFX	29	6	2	4	2		5	1				
LVFX	17	18	3	3	1	3	4					
EM	12	26	7	2		1					1	
TC	20	11	4	2	2	1				6	1	2
ABPC	9	4	9	5	5	2	8	2	5			
GM	1	7	11	22	3	5						
CP			4	12	22	6	5					

※TCのみ100

黒字: Sensitive
 青字: Intermediate
 赤字: Resistant

表2. 大阪府ヒト臨床分離株50株

	R	S	耐性率
NFLX	18	32	36
OFLX	18	32	36
CPFX	18	32	36
NA	18	32	36
EM	0	50	0
TC	18	32	36

表3. 動薬検分離株39株

	R	S	耐性率 (%)
ABPC	8	31	21
DSM	2	37	5
EM	0	39	0
OTC	33	6	85
CP	1	38	3
NA	16	23	41
ERFX	14	25	36

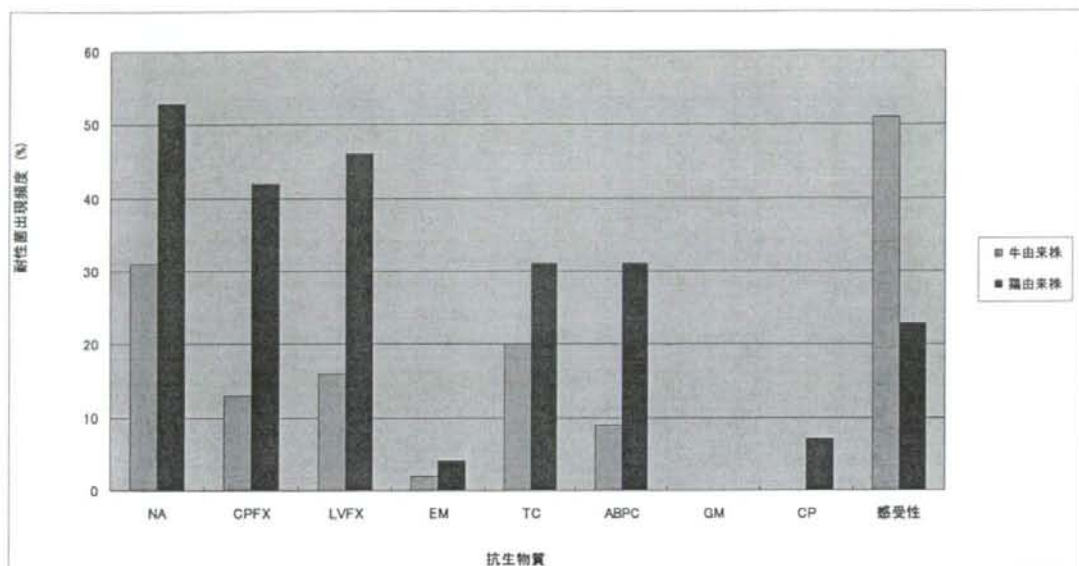
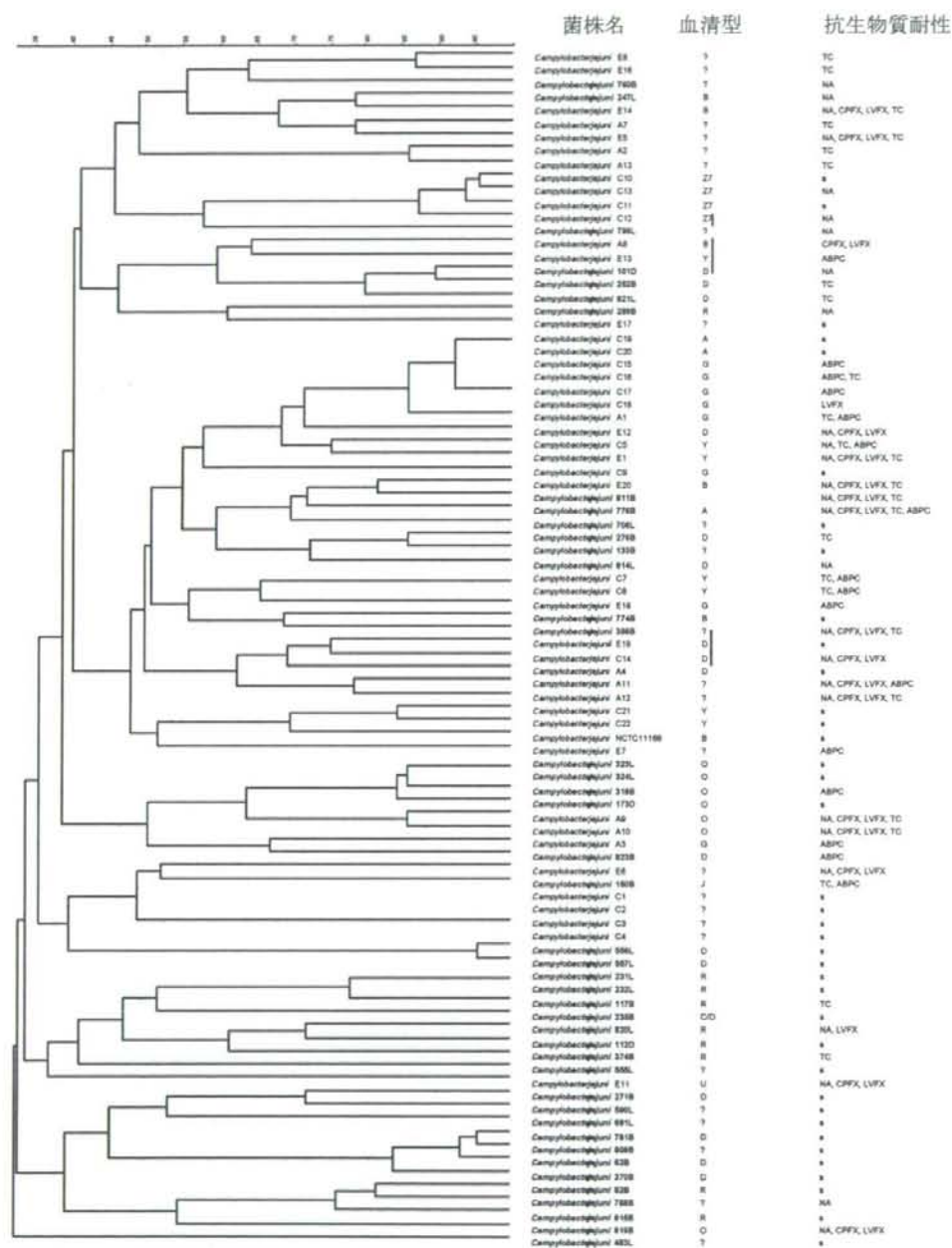


図3. 各種抗生物質耐性株出現頻度の比較(鶏と牛由来株)

表4. 各種抗生物質耐性株出現頻度の比較
(鶏由来株・牛由来株)

MP法によるカンピロバクターの抗生物質耐性獲得情況の比較 (2005年度分離株による)

	市販鶏肉由来株 (%)		牛肉由来株 (%)
分離株総数	137		45
抗生物質			
NA耐性	72	(53)	14 (31)
CPFV耐性	57	(42)	6 (13)
LVFX耐性	63	(46)	7 (16)
TC耐性	43	(31)	9 (20)
EM耐性	6	(4)	1 (2)
ABPC耐性	43	(31)	4 (9)
GM耐性	0	(0)	0 (0)
CP耐性	10	(7)	0 (0)
8薬剤感受性株	32	(23)	23 (51)



緑:鶏由来株 青:牛由来株

図4. パルスフィールドゲル電気泳動パターンによる牛・鶏由来 *Campylobacter jejuni* 分離株の系統樹解析および各菌株の性状比較

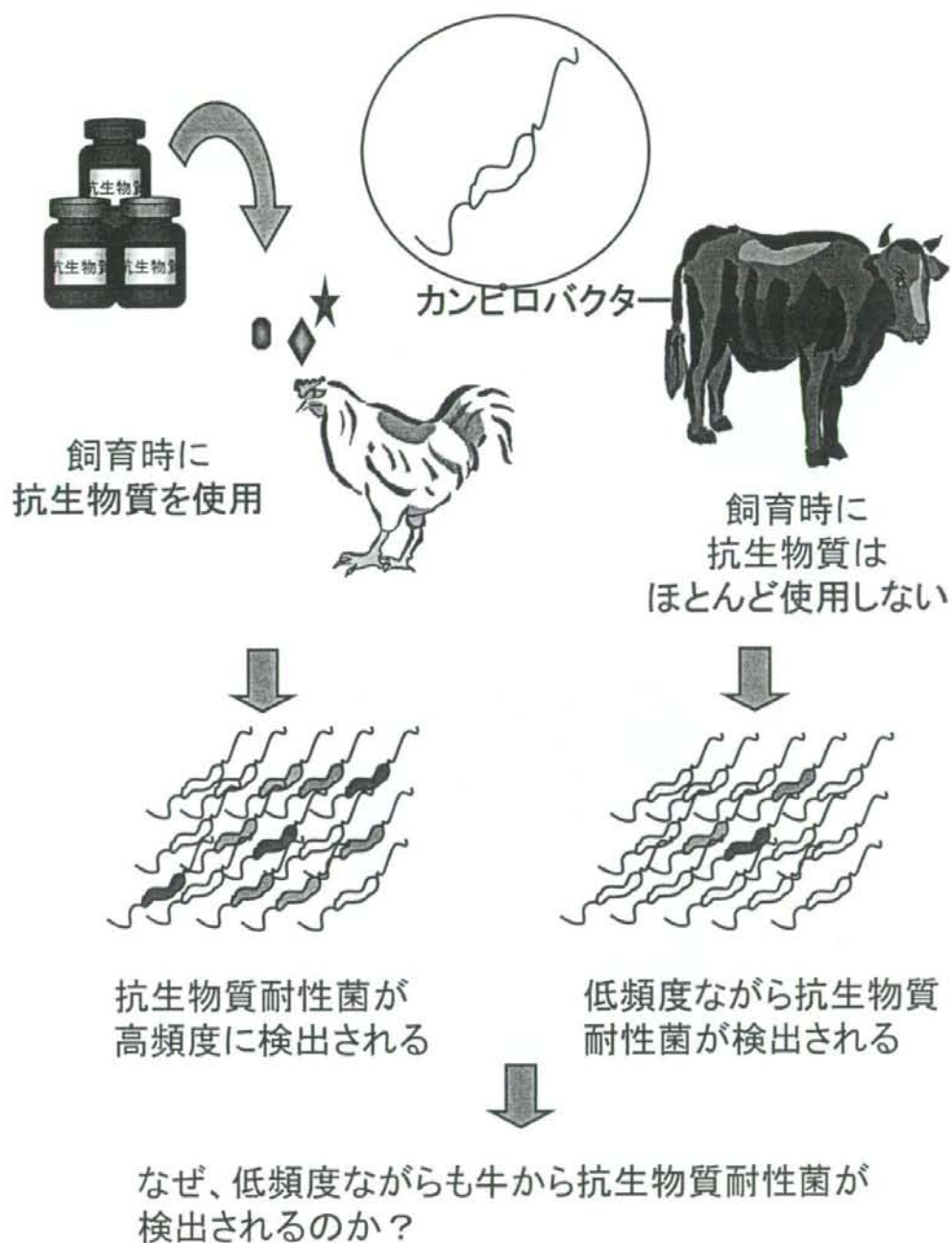


図5. ウシとニワトリ分離株の耐性獲得の考察

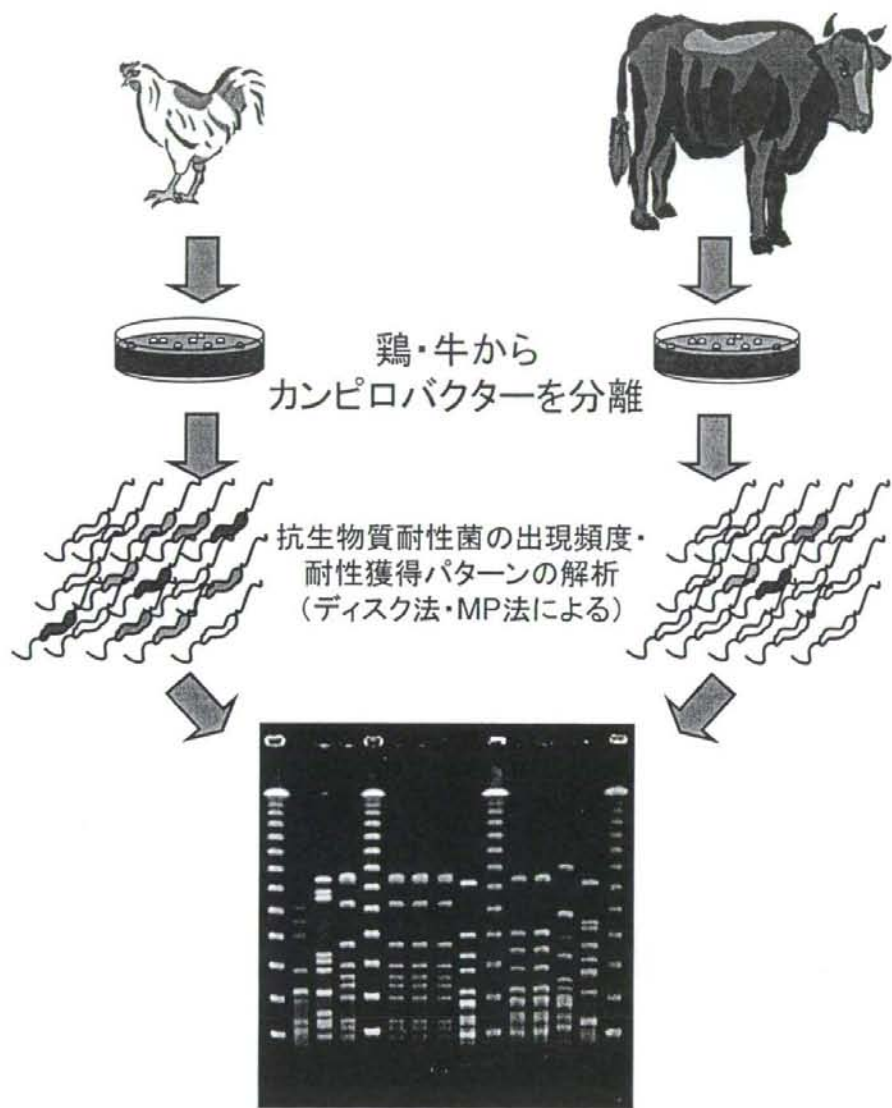


図6. 解析方法の概要

表5. 臨床分離株と鶏由来株における抗生物質耐性菌
分離状況の比較

	臨床分離株	鶏由来株
供試合計	422*	128
NFLX	129 (31%)	56 (44%)
OFLX	125 (30)	57 (45)
CPFX	122 (29)	55 (43)
NA	120 (28)	64 (50)
EM	7 (2)	10 (8)
感受性	277 (66%)	60 (47%)

*臨床分離株の数値はカンピロバクター・リファレンスセンター集計データによる

平成20年度厚生労働省食品の安心・安全確保推進研究事業分担研究報告書

研究課題名：薬剤耐性食中毒菌サーベイランスに関する研究

分担課題名：家畜由来腸内細菌の疫学的研究

研究分担者：浅井鉄夫、（農林水産省動物医薬品検査所）

研究協力者：荻野智絵、小澤真名緒（農林水産省動物医薬品検査所）

研究要旨

食用動物に抗菌性物質が使用される中で出現した薬剤耐性菌もしくは耐性遺伝子が食品を介して、人の細菌感染症の治療を困難にするという問題に対して、科学的なリスク分析が不可欠である。家畜における薬剤耐性菌の分布には様々な要因が関与するため、薬剤耐性菌のリスク管理は、生産から流通・消費にわたる幅広い視点で検討する必要がある。本研究では、家畜衛生分野における薬剤耐性菌実態調査システムであるJVARM事業より、全国から収集された家畜由来のサルモネラ及びカンピロバクターを用いて、その薬剤耐性について疫学的研究を進めている。今年度は、家畜における両菌種の薬剤耐性についての全国動向を解析し、サルモネラでは医療上重要な薬剤であるフルオロキノロン剤に対する耐性 *Salmonella* Typhimurium(ST)の薬剤機構を調べると共に、人症例由来 *S. Choleraesuis*(SC)を豚由来株と、また、鶏肉由来 *S. Schwarzengrund*(SS)を肉用鶏由来株と比較した。さらに、カンピロバクターではアンピシリン耐性の遺伝子解析を試みた。

A. 研究目的

これまで半世紀以上、畜産現場において法的規制の下での抗菌性物質の使用により細菌感染症による損耗が抑制され、安全な畜産物の安定した供給に貢献してきた。一方、医療や獣医療において使用された抗菌性物質によって薬剤耐性菌が出現・増加し、薬剤耐性菌による感染症は、治療効果の低下につながる深刻な問題となっている。そのため、「食用動物に対して抗菌性物質を使用することにより、どの程度耐性菌が選択され、家畜で新たに生じた耐性菌あるいは耐性遺伝子が食物連鎖を介して人へ伝播され、拡散しているのか。さらに、このことが人への細菌感染症の治療を困難にする潜在的危険性を評価し、それをどの程度予測できるのか。」という点を明らかにしなければならない。平成20年度は、公衆衛生上重要性の高いサルモネラとカンピロバクターに注目して、家畜由来株の薬剤耐性動向の調査結果を踏まえ、耐性菌出現要因の疫学的・遺伝学的解析を目的に、1) 薬剤

耐性の現状と薬剤耐性因子の確認及び、2) 人あるいは食品由来株と家畜由来株との比較を実施した。

B. 研究方法

(1) 供試サルモネラ株：

2007年度に全国の家畜保健衛生所で健康な家畜の糞便から分離したサルモネラ39株（肥育牛由来0株、肥育豚由来7株、採卵鶏由来5株、肉用鶏由来27株）と病性鑑定材料から分離された169株（牛由来62株、豚由来48株、鶏由来59株）を用いた。

フルオロキノロン耐性遺伝子の検索は、2002~2007年に家畜から分離されたST237株を用いた。

SCは、2006~2008年に豚から分離された37株と2007~2008年に人症例から分離された2株を用いた。

SSは、2005~2007年に市販鶏肉から分離された10株を用いて、昨年度用いた肉用鶏由来18株と比較した。

(2)供試カンピロバクター株：

薬剤感受性動向のとりまとめは、2006~2007年度に全国の家畜保健衛生所で健康な家畜の糞便から分離したカンピロバクター306株(牛31株、豚92株、採卵鶏92株、肉用鶏91株)を用いた。

ABPC耐性の遺伝子解析には2002~2006年に分離されたアンピシリン(ABPC)耐性 *Campylobacter jejuni* (*C.jejuni*) 42株を用いた。

(3)薬剤感受性試験法

サルモネラは、ABPC、セファゾリン(CEZ)、ジヒドロストレプトマイシン(DSM)、カナマイシン(KM)、ゲンタマイシン(GM)、オキシテトラサイクリン(OTC)、コリスチン(CL)、クロラムフェニコール(CP)、ナリジクス酸(NA)、エンロフロキサシン(ERFX)、トリメトプリム(TMP)、の11薬剤について、カンピロバクターはABPC、DSM、OTC、CP、エリスロマイシン(EM)、NA、ERFXの7薬剤について薬剤感受性を調べた。

薬剤感受性試験は、NCCLSガイドラインに準拠した寒天平板希釈法により最小発育阻止濃度(MIC)を測定した。各薬剤の耐性限界値(ブレイクポイント)は、サルモネラについてはCLSIのガイドライン及び既報(J Antimicrob Chemother. 53: 266-270, 2004.)、カンピロバクターについては既報(J. Appl. Microbiol. 100: 153-160, 2006)に従い設定した。

(4)パルスフィールドゲル電気泳動(PFGE)

米国疾病管理センター(CDC)により推奨されているパルスネットプロトコールに準拠して行った。

(5)耐性遺伝子の解析

サルモネラのキノロン耐性遺伝子(*qnr*)

の検索は、Cattoirらの報告したプライマーを用いて *qnrA*、*qnrB* 及び *qnrC* を対象にPCR法で実施した。PCR産物は、ダイレクタシークエンスを行った。

カンピロバクターではアンピシリン耐性の遺伝子の検索は、*blaOXA₆₁*の塩基配列からプライマーを設計しPCR法で実施した。

C. 研究結果

1. 2007年度分離サルモネラの薬剤感受性(表1, 2)

健康動物由来サルモネラ株の血清型は、6種類認められ、そのうち *S. Infantis* が21株(プロイラー由来16株、採卵鶏由来5株)で、約半数以上を占めた。SSは、肉用鶏由来株の26%であった。一方、病畜由来株の血清型は、29種類認められ、そのうちSTが57株(34%)と最も多く、次いで *Infantis* が35株(21%)、SCが26株(15%)であった。

健康動物由来株では、DSM及びOTCに対する耐性率は60%以上を示し、KM及びTMPに対する耐性率は約20~30%であった。一方、病畜由来株では、DSM及びOTCに対する耐性率は約60%で、ABPC、KM、NA及びTMPに対する耐性率は20%以上を示した。病畜由来株で、CEZ耐性が13株(7.6%)、牛由来 *Typhimurium* 4株、牛由来 *Senftenberg* 9株及びERFX耐性が1株(0.6%、*Typhimurium*)で認められた。

2. 牛由来フルオロキノロン耐性 *S. Typhimurium* (表3, 4)

2005年に血便を呈し死亡した牛から分離されたERFX耐性 *S. Typhimurium* (17-PL S-75) は、NA (256µg/ml) 及びERFX (16 µg/ml) とともに高いMICを示し、GyrA(S83F, D87N)とParC(S80R)のキノロン耐性決定領域(QRDR)に変異が認められた。

2006-2007年に同一農場の異なる牛の下痢便から分離されたERFX耐性 *S. Typhimu*

rium(18-PLS-16及び19-PLS-45)では、NA(32µg/ml)及びERFX(4µg/ml)のMICが、17-PLS-75より低く、*qnrS1*を保有していた。

2002~2007年に分離された*S. Typhimurium* 237株では、2株を除いて*qnrS*遺伝子は陰性で、*qnrS*遺伝子の陽性率は0.8%であった。*qnrA*及び*qnrB*の陽性株は認められなかった。

3. 人と豚由来 *S. Choleraesuis* の性状比較 (表5、図1)

埼玉衛研から分与された人症例由来SCは、硫化水素非産生株(*Choleraesuis*)と産生株(Kunzendorf)であった。豚由来株は、*Choleraesuis* 26株、Kunzendorf 10株、Decatur 1株であった。

人由来*Choleraesuis*株は、8剤(ABPC-DSM-GM-KM-OTC-CP-NA-TMP)耐性、Kunzendorf株は、DSM-NA耐性であった。豚由来*Choleraesuis*株は、26株中17株が6~7剤耐性で、7種類の耐性パターンを示し、Kunzendorf株は、5種類の耐性パターンを示したが、人由来株と同一の耐性型は認められなかった。人由来株のPFGEプロファイルは、豚由来株と類似していた。

4. 肉用鶏と鶏肉由来 *S. Schwarzengrund* の比較 (図2)

鶏肉由来株は、肉用鶏由来株と同様、ピコザマイシン(BCM)とサルファ剤(SDMX)に耐性を示し、DSM、OTC、KM、TMP耐性を高率に保有していた。PFGE型は、肉用鶏由来株で区分された2つのPFGE型のうち、優勢なPFGE型と一致していた。

5. 2006~2007年度カンピロバクターの薬剤感受性状況(表6)

*C. jejuni*及び*C. coli*の薬剤感受性を比較したところ、ABPCを除いて*C. coli*に耐性化傾向が見られた。人のカンピロバクター症の第一次選択薬であるEMに対する耐性は、

*C. coli*の約30%で認められたが、*C. jejuni*には全く認められなかった。ERFXに対する耐性は、*C. jejuni*(H18, H19: 37.5%, 25.8%)及び*C. coli*(30.2%, 53.8%)で認められた。

6. ABPC耐性カンピロバクターのβ-lactamase(表7)

ABPC耐性*C. jejuni* 42株中40株がblaOXA61を保有していた。血清群別では、B群12株中11株、D群9株中9株、G群21株中20株で差は認められなかった。

D. 考察

家畜由来サルモネラにおいて、フルオロキノロン耐性とセファロsporin耐性が病畜由来株で継続的に分離されている。これまでの調査で、フルオロキノロン耐性は、2001年に病豚由来*S. Choleraesuis*で認められたが、2005年以降に病牛由来*S. Typhimurium*で毎年確認されている。今年度、2005~2007年に分離された*S. Typhimurium*3株の耐性機構を調べたところ、*qnrS1*遺伝子によるフルオロキノロン耐性2株が、国内の家畜由来株ではじめて認められた。2002~2007年に病畜から分離された*S. Typhimurium*では、*qnr*遺伝子が*qnrS1*遺伝子を保有する2株を除いて検出されなかったこと、また、2株が同一農場から分離された株であることから、*qnr*遺伝子保有*S. Typhimurium*は、限定された農場での浸潤の可能性が示唆された。しかし、本遺伝子が一般にプラスミド上に局在することから、他のサルモネラの血清型や他菌種を対象にした本遺伝子の浸潤調査が必要と考えられた。

セファロsporin耐性サルモネラは、2006年以降、牛及び肉用鶏由来Newport、Typhimurium、Infantis、Senftenbergなど多様な血清型で認められている。これまで、健康家畜由来大腸菌においても、肉用鶏由来株を中心に全ての畜種で認められていること

から、国内の家畜間に広く浸潤していることが推察される。今後、家畜由来株の性状解析を進めるとともに、家畜・食品・人症例由来株の関連を検討するために有用な疫学マーカーを利用したデータベースの構築が必要と考えられた。

S. Choleraesuis は、近年、と場出荷豚の食肉検査で摘発されるサルモネラ症の主要な血清型で、東京、神奈川、栃木、鹿児島等の食肉衛生検査所で報告されている。埼玉県で分離された人症例由来株の性状を調べたところ、生物型 Kunzendorf と *Choleraesuis* で多剤耐性を示し、豚由来株と同様の傾向を示した。また、人由来株の PFGE 型も豚由来株のものと同様であることから、豚や豚肉との関連について背景を調査する必要がある。

S. Schwarzengrund は、肉用鶏由来株で *S. Infantis* に次いで多く分離される血清型で、ピコザマイシンとサルファ剤耐性を保有し2つの系統に分類される PFGE を示すことを昨年報告した。今年、鶏肉由来株の性状を調べたところ、肉用鶏由来株と同一性状を示すことが明らかとなった。現状では、肉用鶏の間では *S. Infantis* が優勢であるが、*S. Schwarzengrund* の汚染が拡大した場合、肉用鶏でのサルモネラ汚染様式の解明につながる可能性があるため、*S. Schwarzengrund* の動向については継続的に把握する必要があると考えられる。

健康家畜由来カンピロバクターの薬剤感受性の動向として、2000～2003年に比べて2006～2007年の ERFX 耐性は、*C. jejuni* と *C. coli* とともに耐性の増加傾向が認められた。増加要因として、肉用鶏由来 *C. jejuni* 及び豚由来 *C. coli* における ERFX 耐性の増加に起因していた。しかし、肉用鶏や豚由来の大腸菌やサルモネラでのキノロン剤 (NA、ERFX) 耐性の増加は認められていない。現在、動物におけるフルオロキノロン剤の流通量との関連について解析中である。

国内で家畜から分離される *C. jejuni* において主要な血清型である B、D、G 及び Y 群の中で、G 群の ABPC 耐性率が高いことを昨年報告した。そこで、ABPC 耐性遺伝子を調べたが、大部分の ABPC 耐性株が *blaOXA₆₁* を保有し、血清群による差は耐性遺伝子の違いに起因していなかった。今後、*blaOXA₆₁* 遺伝子の局在等について検討する必要があると考えている。

E. 結論

家畜に分布するサルモネラとカンピロバクターの薬剤感受性状況を調査した結果、医療上重要なフルオロキノロン剤やセファロsporin に対する耐性が出現・増加している可能性が示唆された。また、人症例及び食品 (市販鶏肉) 由来株は、家畜由来株と類似していた。今後も、疫学マーカーを利用して家畜・食品・人症例由来株の関連の検討が必要と考えられた。

F. 健康危害情報

健康家畜由来サルモネラ及びカンピロバクターにおけるフルオロキノロン剤やセファロsporin に対する耐性菌の food chain を介した耐性菌の伝播を防止するため、畜種、分離菌の菌種及び血清型等要因を反映した耐性菌対策を構築する必要がある。

G. 研究発表

1. Asai, T., Harada, K., Kojima, A., Sameshima, T., Takahashi, T., Akiba, M., Nakazawa, M., Izumiya, H., Terajima, J., Watanabe, H. 2008. Phage type and antimicrobial susceptibility of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis from food-producing animals between 1976 and 2004. *New Microbiologica* 31: 557-561.
2. Harada, K., Ozawa, M., Ishihara, K.,

- Koike, R., Asai, T. and Ishikawa, H. 2009. Prevalence of antimicrobial resistance among serotypes of *Campylobacter jejuni* isolates from cattle and poultry in Japan. *Microbiol Immunol.* (in press)
3. Asai, T., Murakami, K., Ozawa, M., Koike, R., Ishikawa, H. 2009. Relationship of Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serovar Schwarzengrund between broiler chickens and retail chicken meats in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* (in press)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし
- ※ JVARM 事業を通して菌株の提供等ご協力いただきました全国の家畜保健衛生所の諸先生方に深謝いたします。

表1 2007年度分離サルモネラの血清型

病畜由来株

serovar	牛	豚	鶏	計
Typhimurium	42	14	1	57
Infantis		1	34	35
Choleraesuis		26		26
Senftenberg	9			9
Mbandaka	3	1	4	8
Enteritidis			3	3
Schwarzengrund			3	3
Agona			2	2
Bradenbrug	2			2
Derby		2		2
Give	1		1	2
London		2		2
Thompson			2	2
その他血清型	5	9	2	16
計	62	48	59	169

健康家畜由来株

serovar	豚	肉用鶏	採卵鶏	計
Infantis		16	5	21
Schwarzengrund		7		7
Typhimurium	5			5
Agona		2		2
Livingstone	2			2
Manhattan		2		2
計	7	27	5	39

表2 2007年度分離サルモネラの薬剤感受性

	健康畜 (n=39)					病畜 (n=169)			
	BP (mg/l)	MIC50 (mg/l)	MIC90 (mg/l)	耐性 菌株数	耐性率 (%)	MIC50 (mg/l)	MIC90 (mg/l)	耐性 菌株数	耐性率 (%)
ABPC	32	1	1	0	0	2	>512	69	40.6
CEZ	32	1	1	0	0	1	8	13	7.6
DSM	32	128	>512	28	71.8	64	512	113	66.5
KM	64	2	>512	8	20.5	2	>512	55	32.4
GM	16	0.5	1	0	0	0.5	1	9	5.3
OTC	16	128	512	25	64.1	128	256	100	58.8
CL	16	0.5	4	0	0	0.5	1	2	1.2
CP	32	4	8	1	2.6	4	256	19	17.1
NA	32	4	16	3	7.7	4	8	13	7.6
ERFX	2	≤0.125	≤0.125	0	0	≤0.125	≤0.125	1	0.6
TMP	16	0.5	512	12	30.8	0.25	>512	42	24.7