

図12. 家畜由来*Campylobacter jejuni*の薬剤感受性

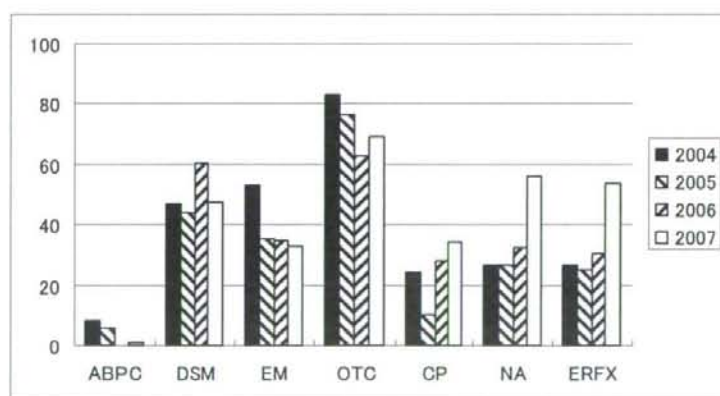


図13. 家畜由来*Campylobacter coli*の薬剤感受性

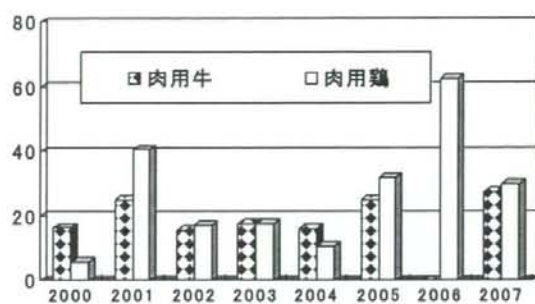


図14. 肉用牛及び肉用鶏由来*C. jejuni*におけるフルオロキノロン耐性の推移

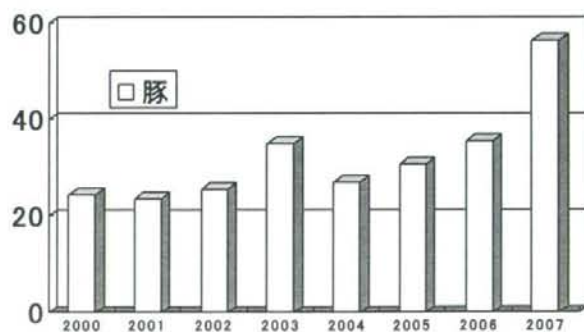


図15. 豚由来*C. coli*におけるフルオロキノロン耐性の推移

図16. ヒト由来*C. jejuni*の耐性頻度の推移

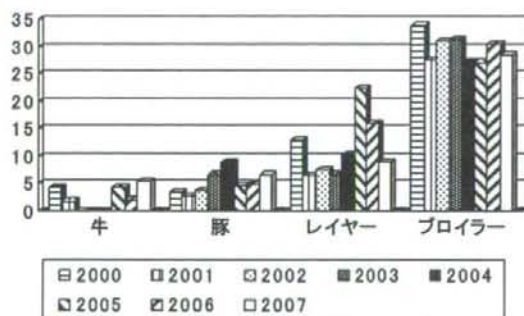
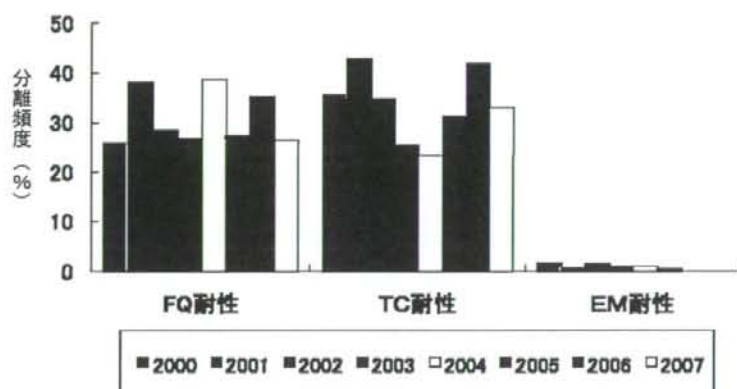


図17. 健康動物由来大腸菌における動物種別ナリジクス酸に対する耐性率の年度別推移

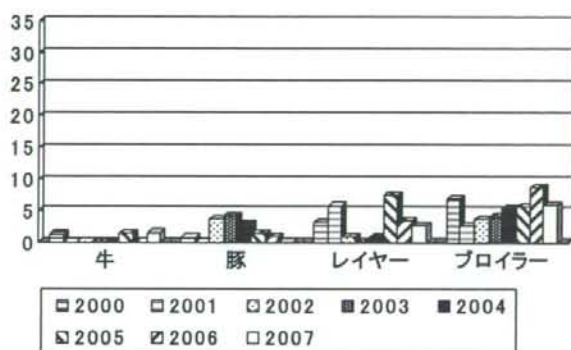


図18. 健康動物由来大腸菌における動物種別フルオロキノロン剤に対する耐性率の年度別推移

平成 18-20 年度 厚生労働省 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」

分担研究報告書

分担課題名:サルモネラをはじめとした食中毒菌の薬剤耐性に関する遺伝学的研究

研究分担者	泉谷秀昌	国立感染症研究所 細菌第一部
研究協力者	寺嶋淳	国立感染症研究所 細菌第一部
研究協力者	松本裕子	横浜市衛生研究所

研究要旨:本研究班では、ヒトの健康への脅威となる食品由来細菌感染症に関して、主として薬剤耐性に着目し、薬剤耐性食中毒菌による健康被害の発生動向を把握するための監視体制に関して、ヒト、食品、環境および家畜といった多方面からの情報整備をすることを目的とする。本分担研究においては、特に、細菌性食中毒の原因物質の第 1 に挙げられるサルモネラをはじめ、食品汚染を介した細菌感染症に着目して発生動向の解析を行う。

A. 研究目的

2007 年厚生労働省食中毒統計における細菌性食中毒の患者総数は 12,964 名であった。このうち、28%にあたる 3,603 名がサルモネラによるものであり、本菌の公衆衛生上の重要性を示している。サルモネラには約 2,500 種の血清型が含まれるが、中でも *Salmonella enterica* serovar Enteritidis (*S. Enteritidis*、以下 SE) による患者数は 1990 年代に急増し、現在も

なお血清型別での検出頻度で第一位を占めている。同じく *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*、以下 ST) は、SE が台頭してくる以前は血清型別で最も多く検出されていた。ST は現在でもなお、血清型別検出頻度の上位を占めている。

一方、腸管出血性大腸菌 (EHEC) は所謂感染症新法で 3 類感染症に挙げられており、本菌による年間の患者数は

3-4 千名にのぼる。

食中毒細菌における菌株の耐性化の傾向は異なっており、SEにおける耐性株の報告は少ないものの、ST においては多剤耐性化が顕著であると言われている。また、*S. Infantis* (SI)は鶏肉から効率的に分離される血清型で、ST 同様ヒト由来サルモネラでは主要なものの一つである。

本研究では、こうした食中毒菌の耐性化の動向を調査するとともに、耐性因子等について遺伝学的解析を行うことで、耐性機構の解明および耐性化の広がり状況を明らかにすることを目指す。

(倫理面への配慮)

食中毒事例に関し、ヒトの臨床情報等を扱う場合には、事前に研究倫理委員会の承認を得た上で、個人情報の取り扱いに注意し、研究を遂行する。分離した菌株に関しては、匿名化を図り、特定の個人に不利益が生じないように配慮する。

B. 研究方法

1. 供試菌株: 全国の地方衛生研究所等および動物医薬品検査所等の協力により得られたサルモネラ分離株を使用し

た。

2. 薬剤感受性試験: BBL 社のセンシディスクを用いて、CLSI に準拠した方法により試験し耐性を決定した。使用した薬剤はアンピシリン(A)、ストレプトマイシン(S)、テトラサイクリン(T)、シプロフロキサシン(Cip)、カナマイシン(K)、セフトキシム(Ct)、クロラムフェニコール(C)、ST 合剤(Sx)、ゲンタマイシン(G)、ナリジクス酸(N)、サルファ剤(Su)、ホスホマイシン(F)の 12 剤であった(場合によってセファロチン(Cf)も使用)。最小発育阻止濃度 MIC は Etest を用いて決定した。

3. ファージ型別: 英国 HPA より分与された型別用ファージを使用して標準法に従って型別を行った。

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じて実施した。

5. MLVA (multilocus variable number-tandem repeat analysis) : Lindstedt ら(2003)、Liu ら(2003)、Ramisee ら(2004)の方法を参考に行った。

6. 薬剤耐性遺伝子の解析: 薬剤耐性パターンから推測された遺伝子に関して、既報の類似耐性遺伝子の配列からプラ

イマーを設計し、PCRによるDNAの増幅を行った。定法のアガロースゲル電気泳動によってDNA増幅を確認した後、Dye-terminator法によって塩基配列の決定を行った。得られた配列に対してBlast等を用いて相同性検索を行った。

7. レプリコンタイピング: Carattoliら(2005)の方法に従って行った。各レプリコンに対するTaqManプローブを作成し、リアルタイムPCR法の検討も行った。

C. 研究結果および考察

1. EHEC耐性株の分布: 2006年から2008年に当部に送付されたEHEC菌株から、計554株を抽出し薬剤感受性試験を行った。各薬剤に対する耐性率は、S、Su、T、Aが10-25%と比較的高かった(図1)。これらの耐性率に関して年次別では大きな変化はなかった。また、治療において重要な薬剤の一つであるF(ホスホマイシン)に対する耐性率も3%弱を推移し、大きな変化は見られなかった。EHEC耐性率の変化は今後も監視をしていく必要があるだろう。

2. SE集団事例関連株における薬剤耐性の分布: 当部に送付されたSE菌株のうち2005-2007年に発生した集団事例128件について、その関連株の感受性

試験を行った。各薬剤に対する耐性率は、Sに対して15-25%、Aに対して5%前後、Nに対して5-15%であり、Sに対する耐性は若干減少している傾向が見られた(図2)。N耐性は近年一定の頻度で観察された。

3. 鶏肉由来SEに関するナリジクス酸耐性について: 横浜市で分離された鶏肉由来SE 80株について、ナリジクス酸耐性率を調べた。その結果、38%がN耐性を示した。これらのほとんど(93%、不明を除けば100%)が外国産鶏肉に由来していた。また、これら耐性菌のファージ型(PT)は、PT1,4など、ヒトから分離されるものと同様であった(表1)。今後、こうしたN耐性SEに関して外国産鶏肉等の監視を強化していく必要がある。

4. ESBL産生性SE: 上記鶏肉由来SE株の中にセフトキシム耐性株が(R-ACtNcf)1株同定された。本菌株は2004年中国産鶏肉から分離されたもので、ナリジクス酸に対しても耐性を示した。セフトキシム耐性がクラブラン酸によって抑制されたことからクラスAの基質拡張性β-ラクタマーゼ(ESBL)産生性であることが推測され、実際blaCTX-M-14遺伝子を保有することが明らかとなった。また、本研究で以前同定したヒト由来

ESBL 産生性 SE(2003 年)とも薬剤耐性および耐性遺伝子に共通性が見られたが、N 耐性に関与する *gyrA* の変異については、2003 年散発例由来株では GAC→AAC (D87N)であったのに対し、2004 年鶏肉由来株では GAC→GGC (D87G)と異なっていた。これは複数の起源をもつ Ct 耐性株が発生していることを示唆している。

5. ヒト、食品、動物(家畜)由来 SI 株の遺伝子型別による比較:本研究班で収集した SI のヒト由来株、食品由来株、動物(家畜)由来株について、PFGE による遺伝子型別を行った(図 3)。一部にヒト由来株あるいは動物由来株が多く占めるクラスターが観察されたが、全体的には、由来によらず種々の株が混在した形でクラスターが形成された。また、SI においては特に食品由来株でセフェム系抗菌薬耐性株が見つかり、*bla*CMY-2, CTX-M-2, TEM-52, TEM-20 などの遺伝子が同定された。これらについても同様に、特定の菌株グループが耐性を獲得しているのではなく、遺伝子型によらずに耐性菌が分布している状況が明らかとなった。ヒト由来のセフェム系抗菌薬耐性株は 1 株だけ(*bla*TEM-20 保有)であったが、他の菌株との違いはなく、汚

染食品の喫食が患者発生につながる状況にあることが示唆された。

6. レプリコンタイピングの検討:耐性サルモネラ、特にセフェム系抗菌薬耐性株についてはプラスミドとの関連性が指摘されている。近年プラスミドの型別の一つとして PCR をベースとしたレプリコンタイピングが発表された。そこで、これまでに収集した耐性株を供試菌株として同法の検討を行った。供試菌株として、セフェム系抗菌薬耐性サルモネラを使用した。SI, *S. Manhattan*, ST それぞれ 27 株、1 株、5 株についての結果は表 2 のようであった。試験した 33 株中 16 株において何らかのレプリコンが検出された。*bla*CMY-2 遺伝子保有株において報告のある IncA/C も今回の株に含まれていることが明らかとなった。今後、これらの菌株についてプラスミドプロファイル、伝達性試験等の詳細な解析を行い、その結果とあわせて本タイピングシステムを更に検討していく必要があるものの、本法が、耐性菌を型別する上で、また、耐性機構を解明する上で有用な指標となることが示された。

7. ST 耐性株の MLVA:これまでに分離されたフルオロキノロン(FQ)耐性 ST に関し、他の ST 株と併せて MLVA を行った

(図4)。FQ 耐性供試菌株にはヒト由来株および動物由来株が含まれる。解析の結果観察された大きなグループの1つとして流行性の多剤耐性 DT104 があるが、FQ 耐性株はそれとは異なり、なおかつ比較的ユニークなグループを形成することが明らかとなった。これに関して、PFGE でも同様の傾向が示された(図5)。FQ 耐性は *gyrA*, *parC*, *parE* などの染色体性遺伝子に依存するためかもしれないが、SI のセフェム系抗菌薬耐性株が他の株と混在した形で型別されるのと対照的な結果が得られた。

今後、こうした耐性菌のさらなる解析、ならびに動向の変化に注意が必要である。

D. 結論

細菌感染症において菌の耐性化は、非常に重要な問題である。サルモネラおよび EHEC 感染症は家畜等の動物およびそこから派生する食品から由来する感染症の代表的なものである。本研究において、特にサルモネラに関して、N 耐性 SE、FQ 耐性 ST、Ct 耐性 SI など、ヒト、食品あるいは動物由来株において一定の共通性があることが示唆された。今後、より詳細な解析方法の開発を行い、また、

その結果をデータベース化していき、そこにさらに疫学情報を加えていくことで農場から食卓までの一貫した耐性菌のコントロールを整備していくことの重要性が示唆された。

E. 健康危険情報

セフェム系抗菌薬もしくはフルオロキノロン系抗菌薬耐性サルモネラが、ヒト、食品、家畜において同定されており、こうした菌株の発生動向ならびにさらなる耐性の獲得状況に関する注意が必要である。

F. 研究発表等

- (1) M. Morita, K. Mori, K. Tominaga, J. Terajima, K. Hirose, H. Watanabe, and H. Izumiya: Characterization of lysine decarboxylase-negative strains of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis disseminated in Japan. FEMS Immunol. Med. Microbiol. 46, 381-385, 2006.
- (2) M. Taguchi, K. Seto, W. Yamazaki, T. Tsukamoto, H. Izumiya and H. Watanabe: CMY-2 β -lactamase-producing *Salmonella enterica* serovar Infantis isolated from poultry in Japan. Jpn. J. Infect. Dis. 59,

- 144-146, 2006.
- (3) M. Morita, K. Ito, K. Hirose, H. Takahashi, K. Shimuta, J. Terajima, M. Ohnishi, M. Harada, M. Matsuzaki, H. Watanabe, and H. Izumiya: Development of a real-time PCR assay for detection of *gyrA* mutations associated with reduced susceptibility to ciprofloxacin in *Salmonella enterica* serovar Typhi and Paratyphi A. *Microbiol. Immunol.* 50, 707-711, 2006.
- (4) Y. Matsumoto, H. Kitazume, M. Yamada, Y. Ishiguro, T. Muto, H. Izumiya, and H. Watanabe: CTX-M-14 type β -lactamase producing *Salmonella enterica* serovar Enteritidis isolated from imported chicken meat. *Jpn. J. Infect. Dis.* 60, 236-8, 2007.
- (5) S. Yamasaki, K. Hara, H. Izumiya, H. Watanabe, N. Misawa, K. Okamoto, and K. Takase: Lysine decarboxylase-negative *Salmonella enterica* serovar Enteritidis: Antibiotic susceptibility, phage and PFGE typing. *J. Vet. Med. Sci.* 69, 813-818, 2007.
- (6) K. Kawagoe, H. Mine, T. Asai, A. Kojima, K. Ishihara, K. Harada, M. Ozawa, H. Izumiya, J. Terajima, H. Watanabe, E. Honda, T. Takahashi, and T. Sameshima: Changes of multi-drug resistance pattern in *Salmonella enterica* subspecies *enterica* serovar typhimurium isolates from food-producing animals in Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, 69, 1211-3, 2007.
- (7) Y. Une, A. Sanbe, S. Suzuki, T. Niwa, K. Kawakami, R. Kurosawa, H. Izumiya, H. Watanabe, and Y. Kato: *Salmonella enterica* serotype Typhimurium infection causing mortality in Eurasian tree sparrows (*Passer montanus*) in Hokkaido. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 61, 166-167, 2008.
- (8) T. Asai, K. Harada, A. Kojima, T. Sameshima, T. Takahashi, M. Akiba, M. Nakazawa, H. Izumiya, J. Terajima, and H. Watanabe: Phage type and antimicrobial susceptibility of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis from food-producing animals in Japan between 1976-2004. *New Microbiol.* 31, 555-559, 2008.
- (9) 泉谷秀昌: 事例から見たサルモネラ食中毒。食と健康、第 50 巻第 12 号、8-15、2006。
- (10) 泉谷秀昌: サルモネラ食中毒。化

学療法領域、第 24 巻第 7 号、
1009-1015、2008 年 7 月。

(11) H. Izumiya, J. Terajima, and Haruo
Watanabe: Fluoroquinolone-resistant
Salmonella enterica serovar
Typhimurium in Japan. 48th Annual
ICAAC/ISDA 46th Annual Meeting, Oct.
2008, Washington, DC, USA.

G. 知的財産権の出願・登録状況
なし

※解析に使用した菌株を提供して
いただいた全国の地方衛生研究所、動物医
薬品検査所、動物衛生研究所等の諸先
生方に深謝いたします。

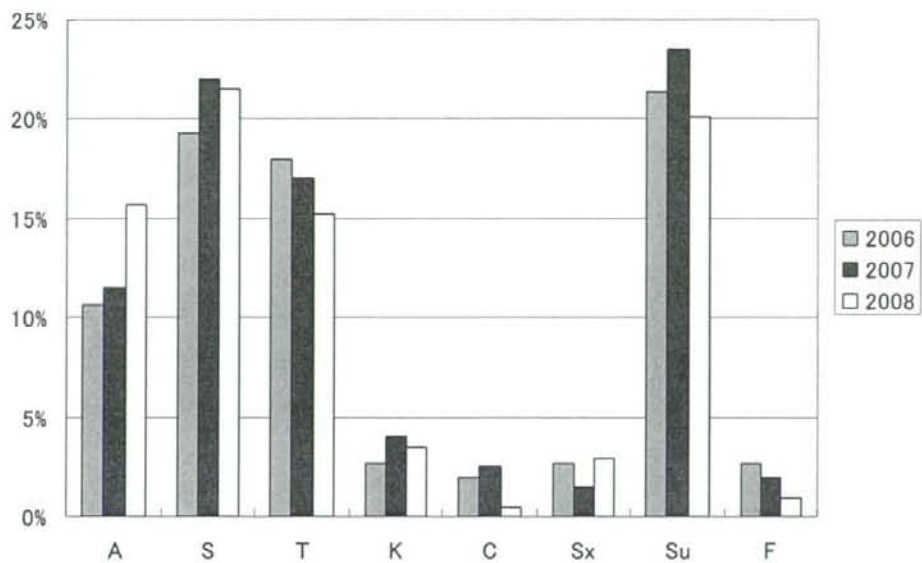


図 1. EHEC 分離株(2006-2008 年)の各種薬剤に対する耐性率。

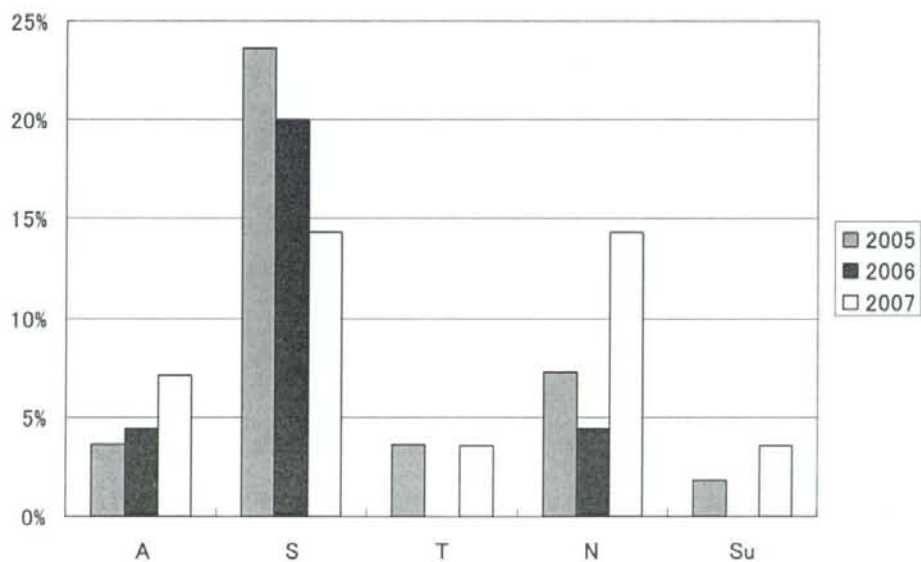


図 2. SE 集団事例関連株(2006-2008 年)の各種薬剤に対する耐性率。

PT	輸入		国産	不明	総計
	N 耐性	N 感性	N 感性	N 耐性	
1	10	6	6		22
3	1				1
4	11	9	5	1	26
5a			12		12
6	1	2			3
6a	1	1			2
7		1			1
7a	1				1
21		1			1
47		1	2		3
RDNC	2		2	1	5
UT	1	2			3
総計	28	23	27	2	80

表 1. 鶏肉由来 SE 株の N 耐性、ファージ型、輸入国産別の分布。

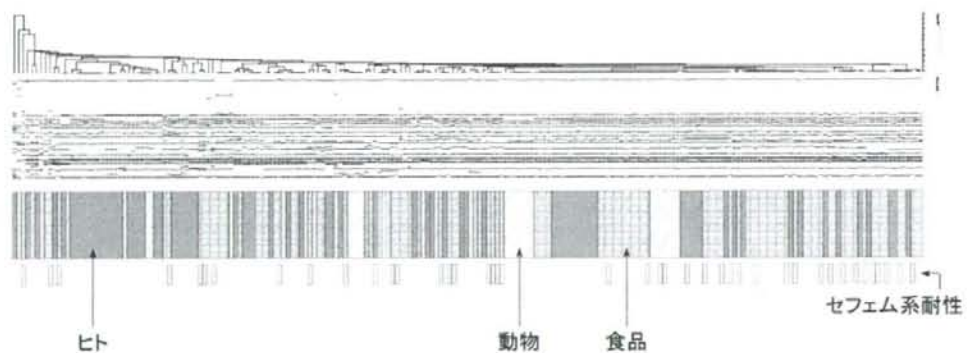


図 3. SI 株の PFGE 解析。使用制限酵素は *Xba*I。

耐性遺伝子 (<i>bla</i>)	レプリコン	血清型			総計
		Infantis	Manhattan	Typhimurium	
CMY-2	-	12			12
	A/C	4			4
	FIA+FIB+A/C			1	1
	A/C+FIIIs			1	1
	I1	2			2
	I1+FIIIs			1	1
	FIB+I1+FIIIs			1	1
	FIB+A/C+FIIIs			1	1
CTX-M-14	FrepB	2			2
	FrepB+B/O	1			1
CTX-M-2	N	1	1		2
CTX-M-3	-	1			1
TEM-20v	-	1			1
TEM-52	-	2			2
TEM-52c	-	1			1
総計		27	1	5	33

表 2. セフェム系抗菌薬耐性サルモネラを用いたレプリコンタイピング。

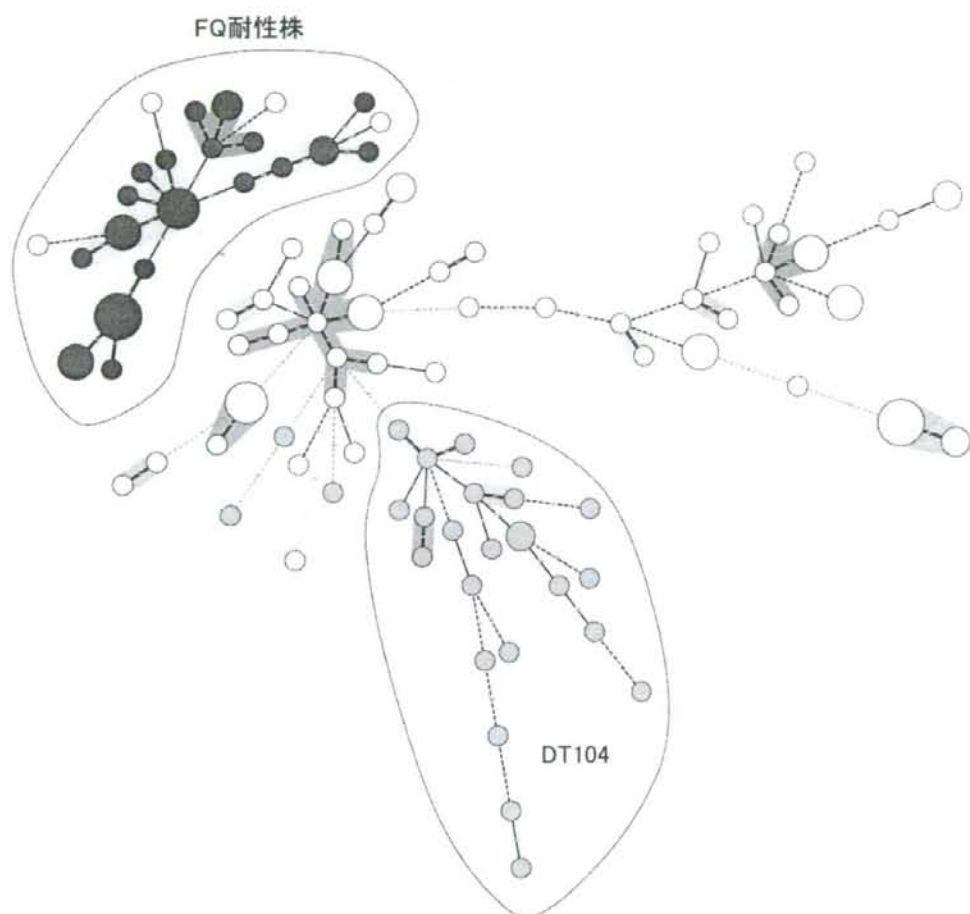


図 4. ST 株を用いた MLVA の結果。左上: FQ 耐性株のグループ。下: DT104 関連株のグループを囲ってある。



図 5. ST 株の PFGE 解析。使用制限酵素は *Xba*I。

平成18～20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

研究分担者	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
研究協力者	上野裕之	さいたま市健康科学研究センター

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465株で55血清型に型別された。薬剤耐性では168株（36.1%）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や第3世代セフェム系薬剤のCTXに対して耐性を示すサルモネラが17株分離された。その血清型はTyphimuriumが9株、Typhi、Kentucky、Schwarzengrundがそれぞれ1株、残りの5株は型別不能であった。Typhimuriumでは、2株がフルオロキノロン剤とCTXに対して耐性を示した。また、環境由来株の検討として、イヌ619頭、ネコ323頭の検査を行った。その結果、イヌ8頭、ネコ10頭からサルモネラが分離され、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339株が分離され、血清型O157:H7が245株（72.3%）と最も多く分離された。薬剤感受性試験では、339株中79株（23.3%）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。

赤痢菌ではフルオロキノロン耐性株とCTX耐性株がそれぞれ2株分離され、血清型は*S. sonnei*であった。フルオロキノロン耐性株は2株ともインド帰国者から分離された。CTX耐性株は発症時期から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サルモネラ汚染実態調査では、273 検体中 28 検体 (10.3%) からサルモネラ 29 株が分離された。薬剤感受性試験では、サルモネラ 29 株中 25 株が供試した 12 薬剤のいずれかに対して耐性を示したが、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。

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 (センシディスク: 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 μ g)、ストレプトマイシン (SM; 10 μ g)、テトラサイクリン (TC; 30 μ g)、カナマイシン (KM; 30 μ g)、アミノベンジルペニシリン (ABPC; 10 μ g)、ナリジクス酸 (NA; 30 μ g)、セフトキシム (CTX; 30 μ g)、シプロフロキサシン (CPFX; 5 μ g)、ゲンタマイシン (GM; 10 μ g)、ホスホマイシン (FOM; 50 μ g)、ノルフロキサシン (NFLX; 5 μ g)、スルファメトキサゾール・トリメトプリム合剤 (ST; 25 μ 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

(1) 散発事例由来サルモネラ

埼玉県内で 2006~2008 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 465 株は 55 血清型に型別され、最も多く分離されたのは、

S. Enteritidis が 101 株、次いで *S. Typhimurium* が 59 株、*S. Thompson* が 27 株の順であった。

この 465 株について薬剤感受性試験を実施した結果、供試した 465 株のうち 168 株 (36.1%) 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 101 株のうち 57 株 (56.4%) が耐性を示し、*S. Typhimurium* では 59 株のうち 31 株 (52.5%) が耐性を示した。分離株の区分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 53 株が該当し、次いで SM・TC 耐性が 21 株分離された。また 4 剤以上の薬剤に耐性を示す多剤耐性株が 40 株分離された。医療現場で使用頻度の高いフルオロキノロン剤や第 3 世代セフェム系薬剤の CTX に対して耐性を示すサルモネラが 17 株分離された。その血清型は *Typhimurium* が 9 株、*Typhi*、*Kentucky*、*Schwarzengrund* がそれぞれ 1 株、残りの 5 株は型別不能であった。事例 No. 7 の *Typhi* 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フォ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 determining 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 位のアスパラギン酸)、*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。

残念ながらフルオロキノロン耐性サルモネラが分離されても、医療機関の協力が十分に得られず、その詳細は不明な例が多く、今後課題を残した。

(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 619 頭、ネコ 323 頭の便を材料として実施した。イヌでは 619 頭中 8 頭 (1.3%)、ネコでは 323 頭中 10 頭 (3.1%) からサ

ルモネラが分離された。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 2006～2008 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 339 株で最も多く分離された血清型は、O157:H7 (VT1&2 産生) が 141 株、次いで O157:H7 (VT2 産生) の 103 株であった。分離 339 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 79 株 (23.3%) 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、2006 年 3 月に吐き気、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フルオロキノロン剤や第 3 世代セフェム系薬剤の CTX に対する耐性株が分離された。その概要を表 7 に示す。埼玉県で 2005 年以前に分離された赤痢菌の耐性パターンでは、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。CTX 耐性株が分離された事例 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 2006 年 8 月に千葉県の子供帰国者から、同年 10 月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。また、2008 年にはフルオロキノロン耐性株が 2 例から分離された。これらの株が分離された患者はいずれもインドへの渡航歴があり、その血清型は *S. sonnei* であった。

(5) 食肉および食肉製品からの分離

汚染実態調査のため、2006 年から

2008 年にかけて、埼玉県内の卸売り市場等で食肉及び食肉製品 273 検体を購入し、検査をした。その結果、28 検体 (10.3%)、からサルモネラ 29 株が分離された (表 8)。分離株について薬剤感受性試験を行った結果、Typhimurium 2 株、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 9)。

D. 考察

近年、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や腸管出血性大腸菌での耐性菌の出現、特に治療に汎用されるフルオロキノロン耐性菌や第 3 世代、第 4 世代セフェム系薬剤に対する耐性化の把握は、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となっている。調査を開始した 2003 年から連続してフルオロキノロン耐性菌や第 3 世代セフェム系薬剤耐性菌が検出されたことは、耐性化の進行およびその定着を窺わせる結果となった。しかし、患者及び食品など原因物質の遡り調査が十分に行えたとは言えず、汚染源の究明も不十分であった。今後は詳細な疫学データを得られるよう、今まで以上に分離機関や医師との協力関係の構築が求められる。また、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、医療機関や検査機関での菌株保管が難しくなっている。そのため、菌株収集が困難になる可能性が高い。今後は医療機関や検査機関に対する研修会等を開催し、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り、それと同時に詳細な疫学データを得られるよう分離機関や医師への協力を要請することが急務となってくる。

E. 結論

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。

F. 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