

平成 21 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	倉園貴至	埼玉県衛生研究所
研究協力者	青木敦子	埼玉県衛生研究所
研究協力者	砂押克彦	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、ヒトに関係する感染症細菌の中でも最も身近な存在である食中毒細菌において、従来有効であった治療薬剤に抵抗を示す耐性菌の出現や増加が問題となっている。そこで、ヒト、食品および伴侶動物等から分離される食中毒菌、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。

埼玉県内で 2009 年に分離され、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 134 株で 35 血清型に型別された。薬剤耐性では 41 株(30.6%)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三世代セフェム系薬剤に対する耐性株は分離されなかった。また、環境由来株の検討として、伴侶動物を対象としてイヌ 331 頭、ネコ 53 頭の検査を行った。その結果、イヌ 5 頭からサルモネラが分離され、その血清型は *S. Enteritidis* が 1 株、*S. Infantis* が 2 株、*S. Livingstone* が 2 株であった。分離株の感受性は *S. Enteritidis* が ABPC 耐性、*S. Infantis* が 2 株とも KM 耐性、*S. Livingstone* は 2 株とも 12 薬剤に対して感受性であった。

ヒト由来腸管出血性大腸菌は 121 株が分離され、血清型 O157:H7 が 84 株(69.4%)と最も多く分離された。薬剤感受性試験では、121 株中 25 株(20.7%)が供試した 12 薬剤のいずれかに耐性を示したが、サルモネラ同様フルオロキノロン剤や第三世代セフェム系薬剤に対する耐性株は分離されなかった。

赤痢菌では、フルオロキノロン剤や第三世代セフェム系薬剤に対する耐性株が 1 株ずつ分離され、その血清型は *S. sonnei* であった。

食品の汚染実態調査では、100 検体中 7 検体(7.0%)からサルモネラ 8 株が、カンピロバクターは 25 検体中 12 検体(7.0%)から 14 株が分離され、腸管出血性大腸菌と MRSA は分離されなかった。サルモネラでは 6 株が、カンピロバクターでは 4 株が供試した 12 薬剤のいずれかに耐性を示した。

## A. 研究目的

近年、ヒトに関係する感染症細菌の中でも最も身近な存在である食中毒細菌において、従来有効であった治療薬剤に抵抗を示す耐性菌の出現や増加が問題となっている。特にヒトの治療上重要であるフルオロキノロン剤やセフェム系薬剤に抵抗を示す菌株の出現は、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、伴侶動物の保菌状況を調査するため動物指導センターの協力を得て、イヌやネコのサルモネラ保菌状況調査を行った。

## 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化協会(CLSI)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  $\mu$ g)、ストレプトマイシン(SM;10  $\mu$ g)、テトラサイクリン

ン(TC;30  $\mu$ g)、カナマイシン(KM;30  $\mu$ g)、アミノベンジルペニシリン(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・トリメトプリム合剤(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。腸管出血性大腸菌や赤痢菌においても同様に実施した。食品検査においては上記3菌種に加えてカンピロバクター及びMRSAの汚染状況を調査しその耐性化を検討した。カンピロバクターの供試薬剤はNFLX、OFLX、CPFX、NA、TC、EMの6薬剤である。

## C. 研究結果

### (1) 散発事例由来サルモネラ

埼玉県内で2009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134株は35血清型に型別され、最も多く分離されたのは、*S. Enteritidis*が27株、次いで*S. Typhimurium*が10株、*S. Infantis*が9株の順であった。

この134株について薬剤感受性試験を実施した結果、供試した134株のうち41株(30.6%)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 27 株のうち 13 株(48.1%)が耐性を示し、SM 単剤耐性が 10 株と最も多かった。*S.Typhimurium* では 10 株のうち 4 株(40.0%)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 耐性で 11 株が該当し、次いで TC 耐性が 7 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 4 株分離された。2003 年から 2008 年まで連続して検出されていた CPMX や NFLX などの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今回検出されなかった。

#### (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 3)。動物指導センターの協力を得てイヌ 331 頭、ネコ 53 頭の便を材料として実施した。イヌでは 331 頭中 5 頭(1.5%)から分離されたが、ネコでは 53 頭のいずれからも分離されなかった。5 頭から分離された血清型は、*S.Enteritidis* が 1 株、*S.Infantis* と *S.Livingstone* が 2 株ずつであった。薬剤感受性では、*S.Livingstone* が 2 株とも供試した 12 薬剤に対して感受性を示した。*S.Enteritidis* は ABPC に、1 株、*S.Infantis* は KM にそれぞれ耐性を示した。

#### (3) 腸管出血性大腸菌

埼玉県内で 2009 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 4 に示した。分離された 121 株で最も多く分離された血清型は、O157:H7 (VT1&2 産生)が 67 株、次いで O157:H7 (VT2 産生)の 17 株であった。分離 121 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 25 株(20.7%)であった(表 5)。耐性株の耐性パターンは 9 パターンに分かれた。最も多かったのは SM・TC 耐性で 6 株が該当し、次いで SM・TC・ABPC 耐性が 5 株分離された。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。

#### (4) 赤痢菌

2009 年に埼玉県内で分離された赤痢菌からフルオロキノロン剤や第三世代セフェム系薬剤である CTX に対する耐性株が 1 株ずつ分離され、その血清型は *S.sonnei* であった(表 6)。CTX 耐性株が分離された患者は、海外渡航歴が無く、国内での感染が疑われたが、その原因を究明することはできなかった。また分離株は CTX-M-1 グループの遺伝子を持つ ESBL 産生菌であった。フルオロキノロン耐性株は 1 年以上を海外で放浪生活していた 20 代の患者から分離されたが、推定感染地は発症前後に滞在したインドが疑われた。

#### (5) 食品からの分離

平成 21 年 7 月から平成 22 年 2 月にかけて、埼玉県内の市場等で食肉、食鳥肉、内臓肉及び漬物、計 100 検体を購入し、腸管出血性大腸菌、サルモネラについては 100 検体全てを、MRSA は 90 検体を、カンピロバクターは牛レバー 15 検体及び食鳥肉 10 検体のみを対象とした(表 7)。

その結果、サルモネラは牛挽肉(輸入)およびサイコロステーキ(輸入) 2 検体、豚挽肉(輸入) 1 検体、牛豚合挽肉(輸入・国産混合) 1 検体、鶏挽肉(国産及び輸入) 3 検体から検出された。カンピロバクターは牛レバー 6 検体、鶏挽肉(国産及び輸入) 6 検体から検出された。腸管出血性大腸菌はいずれの検体からも検出されなかった。MRSA は、食肉 90 検体中 28 検体から検出された 68 株の黄色ブドウ球菌について、クロモアガー MRSA 培地での発育及び *mecA* 遺伝子の保有を検討した結果、すべて該当しなかった。

検出されたサルモネラの血清型及び薬剤感受性は、鶏肉(2 検体)、牛肉(1 検体)、牛豚合挽肉(1 検体)由来の *S. Infantis* が SM・TC・SXT 耐性、鶏肉(1 検体)由来の *S. Infantis* が SM・TC 耐性、豚肉(1 検体)由来の *S. Brandenburg* が TC 耐性であった。また、牛肉由来の *S. Orion* 及び鶏肉由来の *S. Schwarzengrund* が供試薬剤すべてに感受性であった(表 8、9)。

カンピロバクターの薬剤感受性は、

鶏肉(1 検体)由来の *C. coli* 及びレバー(1 検体)由来の *C. jejuni* が NFLX・OFLX・CPFX・TC 耐性、レバー(2 検体)由来の *C. jejuni* が TC 耐性であった。レバー(4 検体)及び鶏肉(6 検体)由来の *C. jejuni* は供試薬剤(NFLX、OFLX、CPFX、NA、TC、EM)すべてに感受性であった(表 10、11)。

#### D. 考察

2009 年に県内で分離されたヒト由来サルモネラ 134 株で供試した 12 薬剤のいずれかに対して耐性を示したのは 41 株(30.6%)であり、例年と同様の耐性率であった。2003 年に調査を開始してから毎年分離されていた、フルオロキノロン剤や第三世代セフェム系薬剤に対する耐性株は分離されなかったが、継続してその動向を注視する必要があると思われた。伴侶動物としてのイヌやネコなどの保菌状況調査では、ネコからの分離はなかったが、イヌからは 331 頭中 5 頭からサルモネラが分離され、そのうち 3 頭は ABPC や KM に対して耐性を示した。所有物や愛玩動物から、よりヒトの生活に密着した伴侶動物での保菌状態は、ヒトの健康に直接影響を及ぼす可能性が高く、今後も監視していかなければならない。

腸管出血性大腸菌は、分離された 121 株で供試した 12 薬剤のいずれかに耐性を示したのは 25 株(20.7%)であった。血清型 O157:H7 の 12 薬剤に対する耐性率は 2006～2008 年が 17.1%、

2009 年が 16.7%とほとんど変化が見られなかった。小児や高齢者で特に深刻な症状を示す血清型 O157:H7 で、その耐性率の低下が見られないため、その動向には十分注意する必要がある。

赤痢菌ではフルオロキノロン剤や第三世代セフェム系薬剤 (CTX) に対する耐性株が 1 株ずつ分離された。CTX 耐性菌は 2006 年にも同一血清型 (*S. sonnei*) で分離されており、耐性パターンもほとんど同じであった。ともに患者の海外渡航歴がないことから、国内感染が疑われるが、疫学情報の不足によりその原因を究明することはできていない。今後は更なる情報収集の強化を図る必要がある。

食肉および食肉製品を含む食品の汚染実態調査において、分離された菌株の薬剤感受性では、サルモネラは 8 株中 6 株が、カンピロバクターでは 14 株中 4 株が供試 12 薬剤のいずれかに耐性を示した。カンピロバクターではフルオロキノロン耐性株が分離されていた。また、今回は分離されなかった腸管出血性大腸菌や MRSA も

過去あるいは他機関の検査で報告例があり、いずれも調査を継続する必要があると思われた。

#### E. 結論

ヒトや食品から分離される食中毒菌の抗生物質に対する耐性率の低下は見られておらず、今後とも耐性菌の動向調査を継続していくことが重要である。

#### F. 健康危機情報

*S. sonnei* において、CTX 耐性菌が分離されたが、2006 年にもほぼ同じ耐性パターンを示す株が分離されており、渡航歴もなかったことから、その関連性を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

表 1 ヒトから分離されたサルモネラの血清型 (2009)

O血清型	血清型名	国内		海外	計
		有症者	無症者		
O4	S.Stanley	2(1)			2(1)
	S.Schwarzengrund	2(2)			2(2)
	S.Saintpaul	7	5		12
	S.Derby		2		2
	S.Agona	2(1)			2(1)
	S.Typhimurium	9(3)	1(1)		10(4)
	S.Brandenburg	1			1
	S.Heidelberg	1(1)	1		2(1)
	O4UT	8(2)			8(2)
O7	S.Oslo		1		1
	S.Rissen		1		1
	S.Montevideo	2	4		6
	S.Thompson	5(1)	3(1)		8(2)
	S.Virchow	1			1
	S.Infantis	8(4)	1(1)		9(5)
	S.Altona		1		1
	S.Bareilly	1	1		2
	S.Mbandaka	2	4		6
	S.Tennessee	1	1		2
	O7UT	1			1
O8	S.Nagoya	6	2		8
	S.Manhattan	1(1)			1(1)
	S.Newport	2	4(3)		6(3)
	S.Litchfield	5(1)	1		6(1)
	S.Corvallis	1			1
	S.Hadar	1(1)	1(1)		2(2)
O9	S.Typhi			1(1)	1(1)
	S.Enteritidis	22(12)	5(1)		27(13)
O3, 10	S.London			1	1
	S.Lexington			1	1
O1, 3, 19	S.Senftenberg		2		2
O16	S.Hvitvingfoss		1		1
O18	S.Cerro	1(1)			1(1)
O21	S.Minnesota		1(1)		1(1)
O42	O42UT	1			1
計		92(31)	39(9)	3(1)	134(41)

( ) : 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(2009)

	国内		海外有症者	計
	有症者	無症者		
供試菌株数	92	39	3	134
耐性株数	31	9	1	41
(%)	33.7%	23.1%	33.3%	30.6%
薬剤耐性パターン				
SM	11			11
TC	3	4		7
ABPC	1			1
NA	3		1	4
FOM	1			1
SM・TC	1	1		2
TC・KM		1		1
SM・TC・KM	4	1		5
SM・TC・ABPC	1			1
SM・TC・NA	1			1
SM・TC・SXT	1			1
TC・KM・NA		1		1
TC・NA・SXT	1			1
CP・SM・TC・ABPC	2			2
TC・KM・ABPC・SXT	1			1
CP・SM・TC・KM・NA・GM・SXT		1		1
計	31	9	1	41

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：セフォタキシム，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，SXT：ST合剤

表 3 イヌおよびネコからのサルモネラ分離状況 (2009)

由来動物	検査数	検出数 (陽性率)	血清型名	検出数	薬剤耐性
イヌ	331	5 (1.51%)	S.Enteritidis	1	ABPC
			S.Infantis	2	KM
			S.Livingstone	2	感受性
ネコ	53	0 (0%)		0	



表 4 腸管出血性大腸菌の血清型と毒素型(2009)

血清型	毒素型	検出数	血清型	毒素型	検出数
O157:H7	VT1&2	67	O26:H-	VT1	4
O157:H7	VT2	17	O111:H-	VT1	1
O157:H-	VT1&2	9	O103:H2	VT1	1
O157:H-	VT2	2	O145:H-	VT1	1
O26:H11	VT1	16	O165:H-	VT2	1
O26:H11	VT1&2	2	合計		121

表 5 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(2009)

	O157:H7	O157:H-	O26:H11	O26:H-	O103:H2	O111:H-	O145:H-	O165:H-	計
供試菌株数	84	11	18	4	1	1	1	1	121
耐性株数	14	1	7	0	0	1	1	1	25
(%)	16.7%	9.1%	38.9%	0.0%	0.0%	100.0%	100.0%	100.0%	20.7%
薬剤耐性パターン									
SM		1					1	1	3
TC	1								1
ABPC			2						2
SM・TC	4		2						6
SM・SXT	1								1
ABPC・SXT	2								2
CP・SM・TC	2								2
SM・TC・ABPC	4					1			5
SM・ABPC・GM			3						3

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，SXT：ST合剤

表 6 埼玉県内のCTX耐性 およびフルオロキノロン耐性赤痢菌分離例 (2009)

No.	血清型	年齢区分	菌分離月	耐性パターン	海外渡航歴
1	<i>S.sonnei</i>	20代	2009年7月	SM・TC・ABPC・CTX・SXT	なし
2	<i>S.sonnei</i>	20代	2009年12月	SM・TC・NA・CPFX・ NFLX・SXT	インド他

表7 食品からの食中毒菌分離状況(2009)

検体の種類	検体数	STEC	サルモネラ	カビ <sup>°</sup> ハ <sup>°</sup> ク <sup>°</sup>	MRSA
牛レバー	15	0/15	0/15	6/15	0/15
鶏挽肉	10	0/10	3/10	6/10	0/10
豚挽肉	14	0/14	1/14		0/10
牛豚挽肉	18	0/18	1/18		0/15
牛挽肉	16	0/16	1/16		0/13
サイコロステーキ(牛肉)	2	0/2	1/2		0/2
漬物	25	0/25	0/25		0/25
計	100	0/100	7/100	12/25	0/90

表 8 食肉からのサルモネラ分離状況(2009)

区分	検体数	陽性株数	血清型 (検出数)
牛レバー	15	0	
鶏肉	10	4	<i>S. Infantis</i> (3) <i>S. Schwarzengrund</i> (1)
豚ひき肉	14	1	<i>S. Brandenburg</i> (1)
牛豚挽肉	18	1	<i>S. Infantis</i> (1)
牛挽肉	16	1	<i>S. Infantis</i> (1)
サイコロステーキ	2	1	<i>S. Orion</i> (1)
計	75	8	

表 9 食肉から分離されたサルモネラの血清型と耐性パターン(2009)

耐性パターン	血清型名			
	Infantis	Orion	Schwarzengrund	Brandenburg
感受性		1	1	
TC				1
SM, TC	1			
SM, TC, SXT	4			

表10 食肉からのカンピロバクター分離状況（2009）

区分	検体数	陽性株数	血清型（検出数）
牛レバー	15	7	<i>C. jejuni</i> (7)
鶏肉	10	7	<i>C. jejuni</i> (6) <i>C. coli</i> (1)
計	25	14	

表11 食肉から分離されたカンピロバクターの血清型と耐性パターン（2009）

耐性パターン	菌種名	
	<i>C. jejuni</i>	<i>C. coli</i>
感受性	10	
TC	2	
NFLX, OFLX, CPMX, TC	1	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）

「薬剤耐性食中毒菌に係る解析技術の開発及びサーベイランスシステムの高度化に関する研究」

平成 21 年度 研究分担報告書

課題名 ヒト由来腸内細菌の薬剤耐性の疫学的研究

研究分担者	甲斐 明美	東京都健康安全研究センター・微生物部
研究協力者	横山 敬子	東京都健康安全研究センター・微生物部
	小西 典子	東京都健康安全研究センター・微生物部
	仲真 晶子	東京都健康安全研究センター・微生物部

研究要旨：

2009年に分離されたヒトおよび食品由来のサルモネラ血清型 Typhimurium (ST) および血清型 Manhattan (SM) の薬剤耐性率を調べた結果、いずれもヒト由来株より食品由来株の方が高い耐性率であった。ヒト由来 SM の耐性パターンは全て TC,SM,SIX であった。一方、食品由来株の耐性パターンは、TC,SM,ABPC,SIX の 4 薬剤耐性 (3 株)、TC,SM,SIX の 3 薬剤耐性 (2 株)、TC,SM,NA,SIX の 4 薬剤耐性 (1 株) であった。いずれの血清型においてもヒト由来株と食品由来株の薬剤耐性パターンは非常に似ていることから、何らかの関連が推定された。

2008年に分離された下痢症患者由来 *C.jejuni* のキノロン系薬剤耐性率は 37.9%であり、例年と同様の耐性率であった。分離数は少ないが、*C.coli* 8 株のキノロン系薬剤耐性率は 87.5%であり、*C.jejuni*と比較して耐性率が高い傾向が認められた。EMについては、*C.jejuni*ではほとんど耐性菌は出現していないが、*C.coli*では 2003 年以降 10~40%の耐性率が認められた。

食中毒関連食品中の MRSA 汚染を調べた結果、食品 296 検体中 1 検体 (牛の小腸) から MRSA が検出された。また糞便検体 3,021 件から MRSA は 5 件 (0.17%) 検出された。いずれも MRSA 検出率は高くないが、今後さらに食品中の汚染状況を把握すると共にヒト由来株との詳細な比較も必要である。

#### A. 研究目的

近年、食中毒起因菌を初めとした腸管系病原菌では抗菌薬に対する耐性化、特にニューキノロン剤を含む多剤耐性化や ESBL 産生菌の拡大が世界的に問題になっている。食中毒起因菌について耐性化の動向を把握

することは、治療を行う際の資料となるだけでなく、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。

本研究では、ヒトおよび食品から分離されたサルモネラ血清型 Typhimurium (ST) および血清型 Manhattan (SM)、腸管出血

性大腸菌 O157 (EHEC O157), カンピロバクターを対象に薬剤耐性菌出現状況を調べた。また, 食品中のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) の汚染状況を把握するために糞便および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の出現状況を調べた。

## B. 研究方法

### 1. 供試菌株

#### 1) サルモネラ

ヒト由来株: 2009 年に下痢症患者等から分離され当センターに搬入された株および当センターで分離された ST 10 株および SM 6 株を供試した。

食品由来株: 2009 年に食中毒原因菌調査のために搬入された食品から分離した ST 7 株および SM 6 株を供試した。

#### 2) EHEC O157

ヒト由来株: 2009 年に下痢症患者等から分離され当センターに搬入された株および当センターで分離された 281 株を供試した。

食品由来株: 食中毒原因菌調査のために搬入された食品から分離した 7 株を供試した。

#### 4) カンピロバクター

2008 年に東京都内で分離された散発下痢症由来 *C. jejuni* 206 株および *C. coli* 8 株を供試した。

#### 5) 黄色ブドウ球菌

ヒト由来株: 2009 年 1 月~11 月に食中毒調査のために搬入された糞便検体 (食中毒患者, 喫食者, 調理従事者等) 3,021 検体から分離した 308 株を供試した。

食品由来株: 2009 年に食中毒の原因追求調査のために搬入された食品 (残品, 検食,

参考品) 294 検体から分離した 296 株を供試した。

### 2. 黄色ブドウ球菌の検出

1) 糞便: 2009 年 1 月~11 月に当センターに搬入された糞便を卵黄加マンニット食塩培地に塗抹し黄色ブドウ球菌の分離を行った。

2) 食品: 2009 年に食中毒の原因追及調査のために搬入された食品 (残品, 検食, 参考品) を対象に, 食品の 5 倍乳剤液 1ml を 7.5%食塩加ペプトン水 10ml に加え選択増菌培養後, 卵黄加マンニット食塩培地に塗抹して, 黄色ブドウ球菌の分離を行った。

### 3. 薬剤感受性試験

#### 1) サルモネラおよび EHEC O157

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 (CPF), 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), スルフィソキサゾール (SIX) の 14 薬剤を供試し, 米国臨床検査標準化委員会 (CLSI) 法に従いセンシディスク (BD) を用いた KB 法で行った。

#### 2) カンピロバクター

シプロフロキサシン (CPF), ノルフロキサシン (NFLX), オフロキサシン (OFLX), ナリジクス酸 (NA), テトラサイクリン (TC), エリスロマイシン (EM) の 6 薬剤を供試した。

### 4. MRSA の検出

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 スクリーン培地 (BBL) 上での発育試験を行った。オキサシリン耐性および MRSA スクリーン培地上に発育が認められた株を MRSA と判定した。

分離された MRSA については、耐性遺伝子である *mecA* の保有を PCR 法で確認した。

### C. 研究結果

#### 1. サルモネラ血清型 Typhimurium の耐性出現状況

ヒト由来株は全て散発事例由来株で、10 株中 4 株 (40%) がいずれかの薬剤に耐性を示す株であった。薬剤耐性パターンは、TC, KM, ABPC, NA の 4 薬剤耐性が 2 株、TC, SM, SIX の 3 薬剤および KM, ABPC の 2 薬剤耐性株が各 1 株であった。一方、食品由来株は、分離された 7 株全てが耐性菌であった。このうち 6 薬剤に耐性を示す株が 1 株、5 薬剤耐性株が 3 株、4 薬剤耐性が 1 株、2 薬剤耐性が 2 株であった (表 1)。ST が分離された食品はササミ、鶏レバー等の鶏肉関連や牛レバー等の牛肉関連であった。

#### 2. サルモネラ血清型 Manhattan の耐性菌出現状況

ヒト由来株 6 株中 4 株 (うち 2 株は同一食中毒事例由来株) が耐性菌であった。耐性菌 4 株の耐性パターンは全て TC, SM, SIX であった。一方、食品由来株 6 株は全て耐性株であった。耐性パターンは、TC, SM, ABPC, SIX の 4 薬剤耐性が 3 株、TC, SM, NA, SIX の 4 薬剤耐性が 1 株、TC, SM, SIX の 3 薬剤耐性が 2 株であった (表 2)。SM が分離された食品は全て鶏肉

関連 (ツクネ、セセリ、鶏レバー等) であった。

#### 3. EHEC O157 の耐性菌出現状況

ヒト由来株は 281 株中 50 株 (17.8%) が、食品由来株では 7 株中 1 株 (14.3%) が耐性菌であった。食品由来の耐性菌 1 株は国産牛ハツ由来で SM, ABPC, SIX の 3 薬剤に耐性を示す株であった。ヒト由来株では TC, SM, ABPC, SIX の 4 薬剤に耐性を示す株が 18 株と最も多く、次いで TC, SIX が 6 株、SM, ST, ABPC, SIX が 5 株、TC, CP, SM, SIX および TC, SM, SIX がそれぞれ 4 株などであった (表 3)。

#### 4. カンピロバクターの薬剤耐性

##### 1) 耐性菌出現状況

*C. jejuni* 206 株ではキノロン系薬剤耐性株が 78 株 (37.9%)、EM 耐性が 8 株 (3.9%)、感受性株 82 株 (39.8%) であった。

一方、*C. coli* では 8 株全てがいずれかの薬剤に耐性を示す株であった。キノロン系薬剤耐性株は 7 株 (87.5%) であった。

2000 年～2008 年に分離された *C. jejuni* および *C. coli* について、キノロン系薬剤、TC および EM に対する耐性株出現状況について比較した結果、キノロン系薬剤耐性率は *C. jejuni* で 26%～38.6% であったが、*C. coli* では年によって大きく異なり、低い年では 23.1% (2000 年)、高い年では 100% (2001 年) であった。全体的に、*C. coli* は *C. jejuni* より耐性率が高かった (図 1)。TC および EM の耐性率も *C. jejuni* と比較して *C. coli* の方が高い傾向であった。特に EM に対する耐性率は *C. jejuni* では 0～3.9% 程度に対し、*C. coli* では 2003 年以降 11.1～41.7% の耐性率であった (図 2, 図 3)。

## 5. MRSA の検出

食中毒関連の食品検体から分離された 296 株の黄色ブドウ球菌についてオキサシリンに対する薬剤感受性試験および MRSA スクリーン培地上での発育を調べた結果、1 株 (0.3%) が MRSA であると推定された。MRSA が検出された食品は、牛の小腸 (参考品) で、一般生菌数は  $1.6 \times 10^5$  個/g、黄色ブドウ球菌数は 1g あたり 300 個以下と低かった (表 4)。

糞便検体 3,021 件から黄色ブドウ球菌が検出されたのは 308 件 (10.2%) であった。308 検体から分離された 636 集落の黄色ブドウ球菌についてオキサシリンに対する薬剤感受性試験および MRSA スクリーン培地上での発育を調べた結果、5 検体由来の 14 集落が MRSA と推定された (表 5)。食品および糞便から分離された MRSA は全て *mecA* 遺伝子陽性であった。

### D. 考察

2009 年に分離された ST の耐性率は、ヒト由来株で 40% (4 株)、食品由来株では 100% (7 株) であり、食品由来株の方が高かった。耐性株は全て 2 薬剤以上に耐性を示す多剤耐性株であった。中でもレバー由来の 1 株は TC, SM, KM, ABPC, NA, SIX の 6 薬剤、牛レバーおよびミノ由来の 2 株は TC, SM, CP, ABPC, SIX の 5 薬剤に耐性であった。牛レバーおよびミノ由来株は、その耐性パターンからファージ型 DT104 である可能性が高いことが推定された。

2009 年にはヒトおよび食品由来共に SM が多く分離された。SM も ST と同様に食品由来株の方が高い耐性率であった。いずれ

の血清型においてもヒト由来株と食品由来株の薬剤耐性パターンは似ていることから、何らかの関連があるものと推定された。今後も耐性株の動向に注意が必要である。

EHEC O157 の耐性率はヒト由来株で 17.8%、食品由来株で 14.3% とサルモネラと比較してもそれ程高くはなかった。

2008 年に分離された下痢症患者由来 *C.jejuni* のキノロン系薬剤耐性率は 37.9% であり、例年と同様の耐性率であった。分離数は少ないが、*C.coli* 8 株のキノロン系薬剤耐性率は 87.5% であり、*C.jejuni* と比較して耐性率が高い傾向が認められた。TC 耐性率は年ごとに変化があるが、2003 年以降は *C.jejuni* で 30% 前後、*C.coli* は 60% 前後の耐性率であった。EM については、*C.jejuni* ではほとんど耐性菌は出現していないが、*C.coli* では 2003 年以降 10~40% の耐性率が認められており、近年は増加傾向である。*C.coli* は *C.jejuni* に比べていずれの薬剤でも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。

食中毒関連食品中の MRSA 汚染を調べた結果、食品 296 検体中 1 検体 (牛の小腸) から MRSA が検出された。また糞便検体 3,021 件から MRSA は 5 件 (0.17%) 検出された。いずれも MRSA 検出率は高くないが、今後さらに食品中の汚染状況を把握すると共にヒト由来株との詳細な比較も必要である。

### E. 結論

2009 年に分離されたヒトおよび食品由来の ST および SM の薬剤耐性率を調べた結果、いずれもヒト由来株より食品由来株の方が耐性率が高かった。ヒト由来 ST の