

図1 同一農場由来株のプラスミドプロファイル

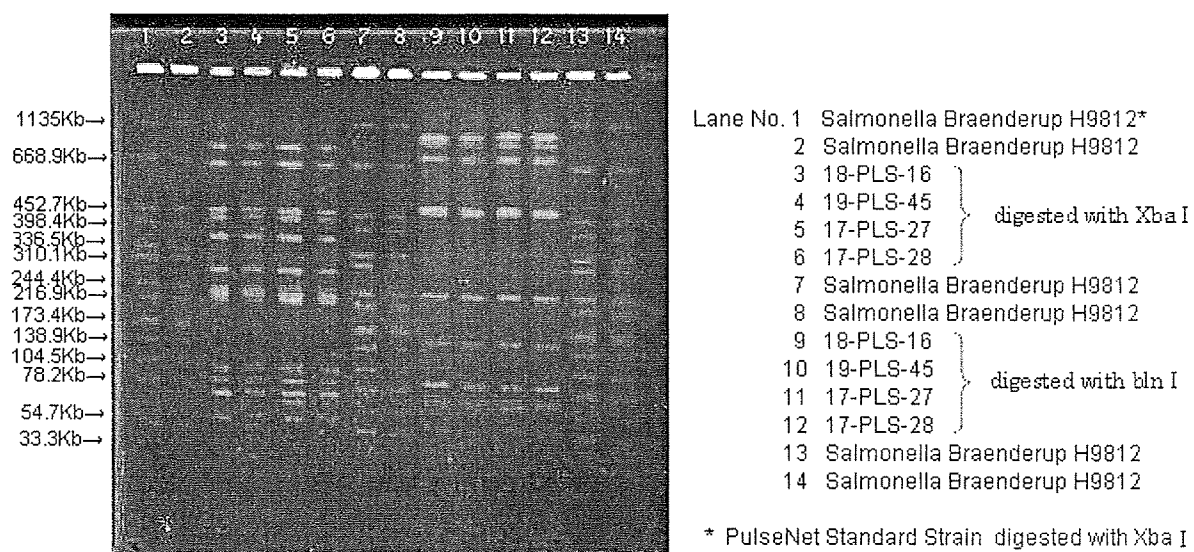


図2 同一農場由来株の PFGE パターン

表1 2008年度に家畜から分離されたサルモネラの血清型

血清型	牛	鶏	豚	計
Typhimurium	32	1	38	71
Choleraesuis			36	36
Infantis	1	11		12
O4:d:-	7			7
Narashino	6			6
O4:i:-	4			4
Thompson	2	1	1	4
Braenderup	3			3
Derby			3	3
London			3	3
Newport	3			3
Saintpaul	3			3
Schwarzengrund		3		3
Stanley	3			3
Grumpensis			2	2
他血清型	9	5	2	16
総計	73	21	85	179

表2 家畜由来サルモネラの薬剤耐性の分布 (2008年度)

	牛 (n=73)				豚 (n=85)			鶏 (n=21)		
	BP	MIC50	MIC90	R(%)	MIC50	MIC90	R(%)	MIC50	MIC90	R(%)
ABPC	32	1	>512	44	512	>512	51	1	32	14
CEZ	32	1	8	1.4	2	8	0	1	4	4.8
	(4)			(40)			(32)			(14)
DSM	32	512	512	70	512	>512	94	128	128	62
GM	16	1	1	0	0.5	32	16	0.5	1	0
KM	64	4	>512	18	4	>512	22	4	>512	48
OTC	16	2	256	42	256	512	82	16	256	62
CP	32	8	32	22	8	512	27	8	8	0
CL	16	1	512	0	1	2	0	1	2	0
NA	32	4	4	0	4	>512	22	4	256	19
ERFX	2	≤0.125	≤0.125	0	≤0.125	0.5	0	≤0.125	0.25	0
TMP	16	0.5	0.5	4.1	0.25	>512	35	0.5	>512	38

表3 家畜から分離されたカンピロバクターの薬剤感受性

薬剤	species	平成19年度*(参考)				平成20年度*			
		MIC 50 (mg/ml)	MIC 90 (mg/ml)	耐性 株数	耐性率 (%)	MIC 50 (mg/ml)	MIC 90 (mg/ml)	耐性 株数	耐性率 (%)
ABPC	<i>C.jejuni</i>	8	32	21	15.9	4	64	14	14.0
	<i>C.coli</i>	4	8	1	1.1	4	16	5	8.8
DSM	<i>C.jejuni</i>	0.5	1	6	4.5	1	2	0	0
	<i>C.coli</i>	16	>512	43	47.3	4	>512	27	47.4
GM	<i>C.jejuni</i>	0.5	0.5			0.25	0.5		
	<i>C.coli</i>	0.5	1			0.5	2		
OTC	<i>C.jejuni</i>	2	128	59	44.7	1	128	29	29.0
	<i>C.coli</i>	64	256	63	69.2	128	512	45	78.9
CP	<i>C.jejuni</i>	4	8	4	3.0	2	4	1	1.0
	<i>C.coli</i>	4	32	31	34.1	4	32	14	24.6
EM	<i>C.jejuni</i>	1	4	0	0.0	1	2	0	0
	<i>C.coli</i>	1	256	30	33.0	8	>512	27	47.4
NA	<i>C.jejuni</i>	8	256	34	25.8	4	256	17	17.0
	<i>C.coli</i>	64	256	51	56.0	8	256	22	38.6
ERFX	<i>C.jejuni</i>	<0.125	8	33	25.0	<0.125	4	16	16.0
	<i>C.coli</i>	2	8	49	53.8	<0.125	8	20	35.1

*平成19年度：*C. jejuni* 132株、*C. coli* 91株、平成20年度：*C. jejuni* 100株、*C. coli* 57株

表4 qnr 保有 *Salmonella* Typhimurium の各種フルオロキノロン剤に対する感受性

株名	Minimum inhibitory concentration ($\mu\text{g/ml}$) of fluoroquinolones								
	ERFX	DNFX	NFLX	OFLX	BFLX	DFLX	OBFX	CPFx	LVFX
18-PLS-16	2	2	2	2	4	8	16	1	1
19-PLS-45	2	2	2	2	4	4	8	1	1

表5 豚からのブドウ球菌の分離

検体	分離数/検査数(%)	
	出荷者	個体
鼻腔スワブ	5/23 (21.7)	10/115 (8.7)
糞便	3/23 (13.0)	5/115 (4.3)

表6 分離されたブドウ球菌

検体の由来	出荷者	検体番号	分離培地 (コロニー)	菌種	<i>mecA</i>	SCC <i>mec</i> type
鼻腔	C	NS11	Chrom Agar (白色)	<i>S. lentus</i>	+	NT*
	E	NS24	BD-MRSA (白色)	<i>S. epidermidis</i>	+	IV
				<i>S. warneri</i>	+	IV
	F	NS30	BD-MRSA (白色)	<i>S. capitis</i>	-	
	N	NS66	Chrom Agar, BD-MRSA (白色)	<i>S. warneri</i>	+	V
				<i>S. haemolyticus</i>	+	NT
		NS67	Chrom Agar, BD-MRSA (白色)	<i>S. haemolyticus</i>	+	NT
		NS68	Chrom Agar, BD-MRSA (白色)	<i>S. warneri</i>	+	V
		NS102	Chrom Agar (白色)	<i>S. warneri</i> , <i>S. lugdunensis</i>	- -	
	T	NS103	BD-MRSA (白色, 卵黄反応+)	<i>S. aureus</i>	+	NT
<i>S. warneri</i>				-		
NS104		Chrom Agar (白色)	<i>S. lugdunensis</i>	-		
NS105		Chrom Agar (白色)	<i>S. spp.</i>	+	NT	
糞便	F	RC29	BD-MRSA (白色)	<i>S. haemolyticus</i>	+	V
				<i>S. haemolyticus</i>	+	V
	N	RC67	BD-MRSA (白色)	<i>S. warneri</i>	+	NT
				<i>S. warneri</i>	+	NT
	W	RC111	BD-MRSA (白色, 卵黄反応+)	<i>S. aureus</i>	-	

*Not typeable

表7 分離 MRSA 株の薬剤感受性

	Break Point	MRSA ST221 NS103	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212
ABPC	0.5	128<	=1	=1
MPIPC	4	256	0.25	16
CEZ	32	8	=1	-
CTF	8	2	1	-
DSM	32	128<	8	64
GM	16	1	=0.5	16
KM	64	8	=4	64
CP	32	8	8	4
OTC	16	=0.5	=0.5	16
EM	8	0.5	0.5	2
AZM	8	2	2	8
TS	-	2	2	2
VCM	16	2	2	4
ERFX	4	0.063	0.063	0.25
TMP	16	=1	2	=0.5

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 年度分担研究報告書

課題名：家畜由来腸内細菌の薬剤耐性化機構の解析

分担研究者 秋庭正人 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所
研究協力者 楠本正博 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所
研究協力者 岩田剛敏 農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所
研究協力者 黒田 誠 国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター

研究要旨

国内一部地域の牛からセフェム系薬剤に耐性を示す *Salmonella* Typhimurium (ST) が継続的に分離されている。これらの株ではセフェム耐性を規定する bla_{CMY-2} 遺伝子が IncA/C プラスミドの一部とともに染色体に挿入されていることが明らかにされている。今年度はこの挿入配列の構造を明らかにするとともに、これらの株が保有する巨大プラスミド（約 140 kb）の構造解析を実施した。その結果、挿入配列には 14 の薬剤耐性遺伝子（うち 2 つは truncated）と伝達性に関与する遺伝子群が含まれ、全長塩基配列は決定していないものの、全体として IS26 を両端にもつ conjugative transposon である可能性が示唆された。また、巨大プラスミドは 7 つの薬剤耐性遺伝子を含んでおり、血清型特異的病原性プラスミドと薬剤耐性プラスミドの一部が融合した病原性-薬剤耐性プラスミドである可能性が示唆された。

A. 研究目的

本研究では、家畜、家禽の生産現場で分離された食中毒菌の新しい解析技術を開発し、サーベイランスシステムをさらに高度化することを目指す。今年度は小児のサルモネラ症治療で極めて重要であるとされるセフェム系薬剤に耐性を示す牛由来サルモネラの薬剤耐性化機構を解析した。

B. 研究方法

国内一部地域の牛からセフェム系薬剤に耐性を示す *Salmonella* Typhimurium (ST) が 2000 年代半ば以降、継続的に分離されている。これ

までの研究で、これら菌株の pulsed-field gel electrophoresis 像は互いに類似しており、由来が同一である可能性が示唆されている。また、薬剤耐性型には若干の多様性が認められること、約 140 kb の巨大プラスミド（140 kb プラスミド）を保有すること、セフェム耐性を規定する bla_{CMY-2} 遺伝子が IncA/C プラスミドの一部とともに染色体上に挿入されていることなどが明らかにされている。今後、ヒトで類似の株が分離された場合に株の異同を検証する解析系が必要となる。そこで本研究ではセフェム耐性 ST L-3553 の bla_{CMY-2} を含む挿入配列の構造解析を実施した。また、L-3553 の薬剤耐性に関わる 140

kb プラスミドの役割を明らかにするため、本プラスミドの構造解析を試みた。具体的方法は以下の通り。

1) 大腸菌由来 IncA/C プラスミド pAR060302 (167 kb) の全塩基配列を参考にして、両隣とオーバーラップする 14 領域 (図 1, L1~14) を LA-PCR で増幅し、それら断片の塩基配列を決定することで挿入配列の構造を解析した。

2) 挿入配列と染色体との結合部位はウォーキングの手法で探索した。

3) 次世代シーケンサー (イルミナ社 Genome Analyzer) により L-3553 の全ゲノム解析を実施し、得られた配列を用いて 1) の手法による塩基配列決定法の精度確認、挿入配列と染色体との連結部位探索、及び gap closing を試みた。

4) PCR 及び LA-PCR により挿入配列の gap closing を試みた。

5) 遺伝子データベースに存在する既知プラスミド上にマップされる 3) の L-3553 配列を検索することで、この株が保有する 140 kb プラスミドの構造を解析した。

なお、L-3553 は以下に示す薬剤に耐性を示す。アンピシリン, AMP; セファゾリン, CFZ; セファロチン, CEF; セフォキシチン, FOX; セフロキシム, CXM; セフボドキシム, ストレプトマイシン, STR カナマイシン, KAN; テトラサイクリン, TET; クロラムフェニコール, CHL; ST 合剤, SXT。

C. 結果

1) LA-PCR を行った 14 領域のうち、L12 を除く 13 領域で増幅を認め、それら断片の塩基配列を決定した。得られた配列をアセンブルしたところ、そのサイズは 125.9 kb であった。pAR060302 が保有する *repA* 遺伝子は存在しなかったが、14 の薬剤耐性遺伝子 (うち 2 つは truncated) とプラスミド伝達に関与する遺伝子群が保存され

ていた (図 2)。この領域には *bla_{CMV-2}* の他、STR、TET、CHR、サルファ剤等に対する耐性遺伝子が存在していた (図 3)。

2) 増幅を認めなかった L12 の領域に染色体との連結部位が存在すると予想し、ウォーキングの手法で探索したが、繰り返し配列 (IS26) の存在により連結部位特定には至らなかった。

3) 1) で得られた 125.9 kb 断片の塩基配列に次世代シーケンサーによるゲノム解析で得られた配列をマッピングしたところ、2 塩基の相違を認めたので、これを修正した。また、125.9 kb 断片の片側が IS26 を介して ST の染色体と連結していることが明らかとなった。ST 染色体の反対側末端は IS26 を介して別の断片と連結していた。これは以前、我々が塩基配列を決定した断片 (AB365868) で、トリメトプリム耐性を規定する *dfrA12* を座上するクラス 1 インテグロンを含む。IS26 も含めると、そのサイズは 8.4 kb であった。挿入配列両端 IS26 の染色体側には 8 bp (ctccacaa) の direct repeat (DR-L, DR-R) が存在していた (図 2)。

4) PCR 及び LA-PCR では 8.4 kb 断片と 125.9 kb 断片の間の gap closing に成功しなかった。

5) 80 kb の L-3553 配列が ST 由来血清型特異的病原性プラスミド、pSLT (NC_003277, 94 kb) にマップされた。この中にはサルモネラの病原性に関与する *spvRABCD* オペロンが含まれていた。また、46 kb の L-3553 配列が ST 由来薬剤耐性プラスミド pU302L (AY333434, 85 kb) にマップされた。この中には AMP、STR、KAN、TET、サルファ剤に対する耐性遺伝子が含まれていた (図 4)。

D. 考察

125.9 kb 断片には 14 の薬剤耐性遺伝子 (うち 2 つは truncated) に加えて、プラスミドに由来

すると考えられる多くの伝達性関連遺伝子群が含まれていた。また、8.4 kb 断片にはトリメトプリム耐性を規定する *dfrA12* を含むクラス1インテグロンが存在していた。両者は ST LT2 の STM0869 および STM0870 相同遺伝子の間で、それぞれ IS26 を介して染色体に連結することが明らかとなった。IS26 の染色体側には 8 bp の direct repeat が存在しており、全体として両断片を含む挿入配列は conjugative transposon である可能性が示唆された。

PCR および RT-PCR による両断片間の gap closing を試みたが成功しなかった。gap が予想以上に大きい可能性が考えられるので、コスミドベクターによるゲノムライブラリーを用いた gap closing を今後、試みる予定である。具体的にはトリメトプリム耐性と両側末端塩基配列を指標に gap を含むクローンを選択し、インサートの塩基配列を決定する。これにより、まずは composite transposon としての構造を確認し、アノテーション後、DDBJ に全長塩基配列を登録する。そして、挿入配列の可動性を伝達試験等で確認することで、conjugative transposon である可能性を検証する。

ゲノム解析で得られた配列は ST 由来の血清型特異的病原性プラスミド pSLT および薬剤耐性プラスミド pU302L 配列上にマップすることができ

た。80 kb の pSLT 配列が L-3553 に存在しており、この中にはサルモネラの病原性に関与する *spvRABCD* オペロンも含まれていた。また、46 kb の pU302L 配列が L-3553 に存在しており、この中には 7 つの薬剤耐性遺伝子が含まれていた。L-3553 株が保有する 140 kb プラスミドは血清型特異的病原性プラスミドと薬剤耐性プラスミドの一部が融合した病原性-薬剤耐性プラスミドである可能性が示唆された。

E. 結論

L-3553 の染色体上に存在する挿入配列は conjugative transposon である可能性が示唆された。また、本株が保有する 140 kb プラスミドは病原性-薬剤耐性プラスミドである可能性が示唆された。

F. 健康危害情報

なし

G. 研究発表

なし

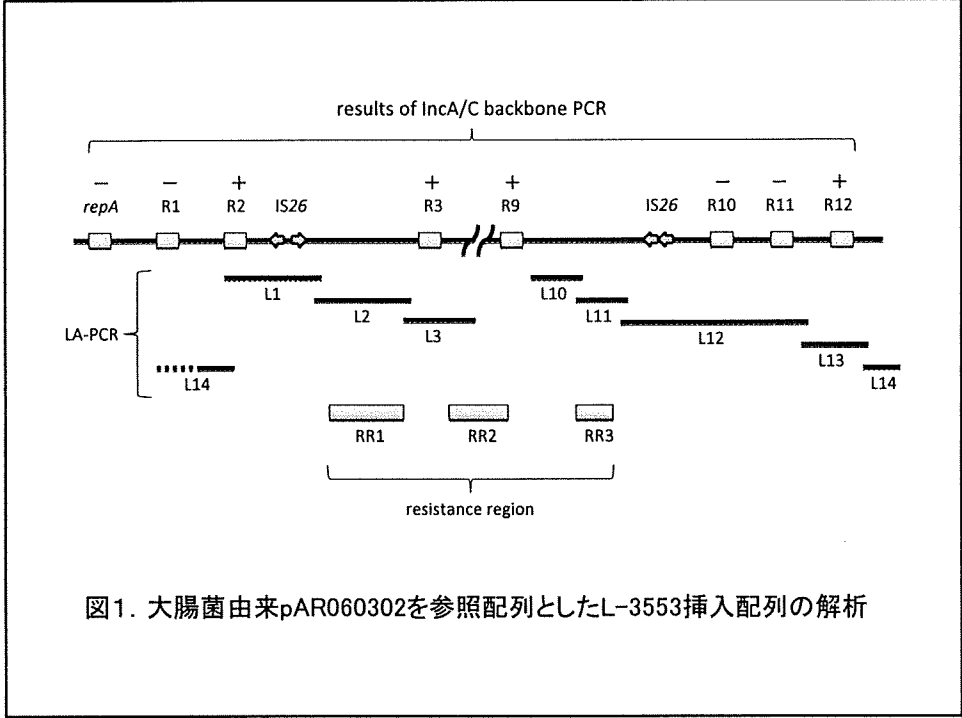


図1. 大腸菌由来pAR060302を参照配列としたL-3553挿入配列の解析

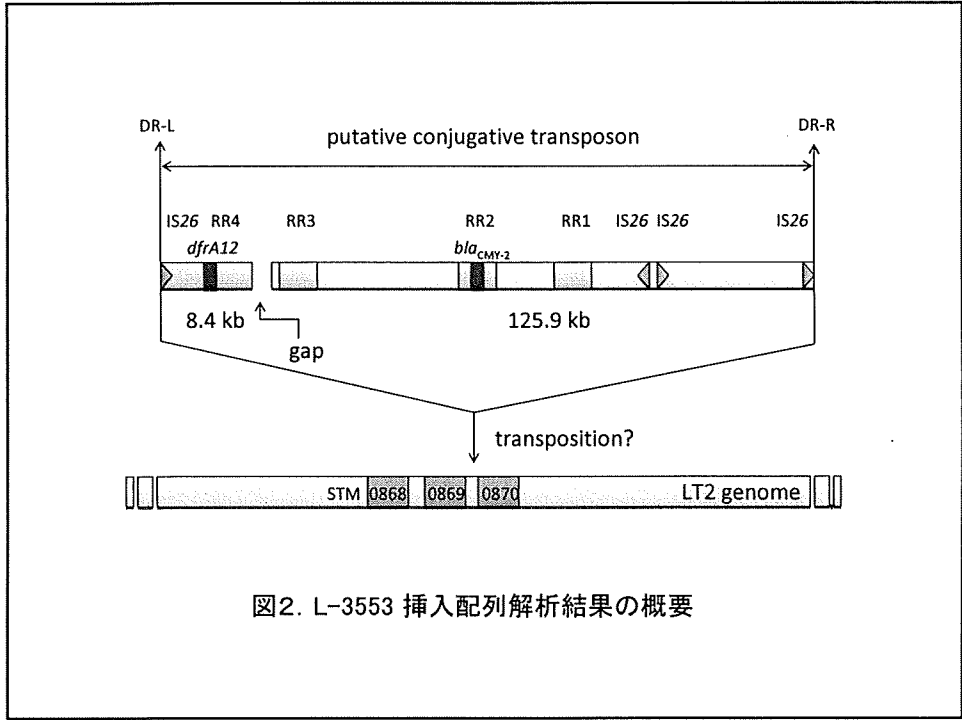
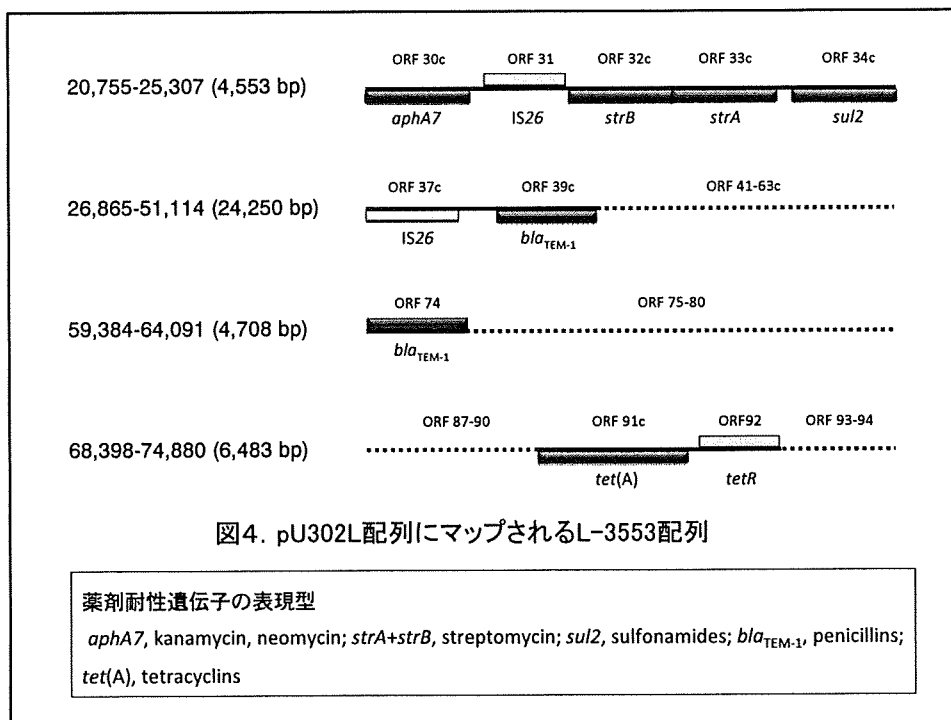
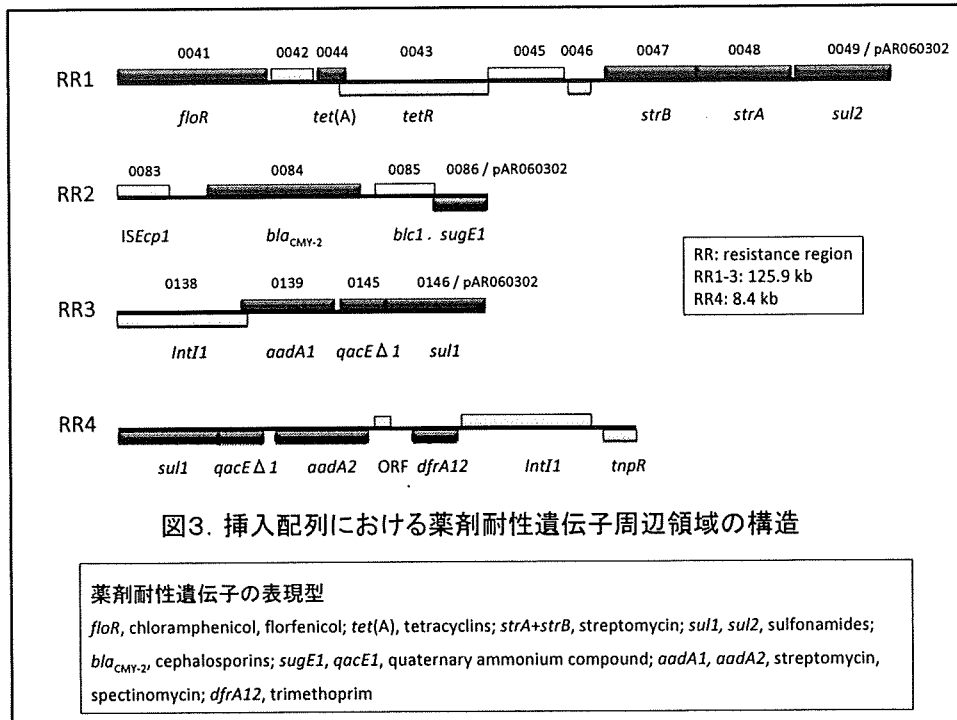


図2. L-3553 挿入配列解析結果の概要



平成 21 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」

分担研究報告書

分担課題名：食品汚染腸内細菌の薬剤耐性疫学

研究分担者	田口真澄	大阪府立公衆衛生研究所
研究協力者	河原隆二	大阪府立公衆衛生研究所
研究協力者	勢戸和子	大阪府立公衆衛生研究所
研究協力者	原田哲也	大阪府立公衆衛生研究所
研究協力者	井澤恭子	大阪府立公衆衛生研究所

研究要旨：食品を汚染している病原細菌の薬剤耐性が、ヒトへどのように影響を与えているかを調べる目的で、サルモネラとカンピロバクターについて、食肉由来菌株とヒト由来菌株の比較を行った。さらに食肉中のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌汚染状況も調査した。そして腸管出血性大腸菌 O157、海外渡航者由来株の腸管病原性大腸菌の薬剤耐性を調べた。鶏肉由来サルモネラの調査で CPDX 耐性菌が 25 株(17.7%)、NA 耐性菌が 26 株(16.5%)認められた。ヒト由来株では CPDX 耐性の *S. Infantis* が 3 株あり、NA 耐性菌が 6 株認められた。*C. jejuni* の鶏肉由来菌株では 38.1%、散発下痢症患者では 34.9%、食中毒患者 50.0%がフルオロキノロン耐性であった。

A.研究目的

食品を汚染している病原細菌の薬剤耐性が、ヒトへどのように影響を与えているかを調べる目的で、サルモネラ、カンピロバクター、腸管出血性大腸菌 O157 について、食肉由来株とヒト由来株の比較を行う。さらに食肉中のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)汚染状況を調査する。また海外渡航者由来株の薬剤耐性を調べることにより、海外から国内に持ち込まれる薬剤耐性菌の現状を把握する。

B.研究方法

I. 供試菌株

1. サルモネラ

(1)食肉由来菌株：2009 年に大阪府内で流通している食肉から分離した 160 株（国産鶏肉由来 158 株、国産牛肉由来 2 株）を供試した。

(2)ヒト由来菌株：2009 年に大阪府内で発生した食中毒事例（10 事例）患者由来 24 株、散発下痢症患者由来 3 株（1 株は海外渡航者由来）、食品従事者など保菌者から分離した 18 株の合計 45 株を供試した。

2. カンピロバクター

(1)食肉由来菌株:2009年に大阪府内で流通している国産鶏肉から分離した116株を供試した。

(2)ヒト由来菌株:2009年に大阪府内で発生した食中毒事例(30事例)の患者由来62株および散発下痢症患者由来88株の合計150株を供試した。

3. 腸管出血性大腸菌 0157

2009年に大阪府内の患者および健康者から分離された93株を供試した。

4. 海外渡航者下痢症患者由来大腸菌

2009年3月にインドより帰国した患者から赤痢菌(*S.flexneri* 88-893、感受性株)と同時に検出された腸管病原性大腸菌1株を供試した。

5. MRSA

2009年8月に大阪府内で流通している国産食肉60検体(鶏肉、牛肉、豚肉各々20検体)から分離した2株を供試した。

II. 薬剤感受性試験

サルモネラ、腸管出血性大腸菌、腸管病原性大腸菌

CLSIのディスク感受性試験実施基準に基づき、センシディスク(BD)を用いて行った。供試薬剤はアンピシリン(ABPC)、クロラムフェニコール(CP)、ストレプトマイシン(SM)、テトラサイクリン(TC)、カナマイシン(KM)、ゲンタマイシン(GM)、ST合剤(ST)、ホスホマイシン(FOM)、ナリジクス酸(NA)、シプロフロキサシン(CPFX)、セフトキシム(CTX)、セフトキシム(CPDX)の12剤を使用した。最小発育阻止濃度(MIC)はドライプレート(栄研)またはE-test(AB Biodisk)を使用して測定した。

カンピロバクター

供試薬剤はノルフロキサシン(NFLX)、OFLX、CPFX、NA、TC、エリスロマイシン(EM)、ABPC、アモキシシリン/クラブラン酸(AMC)、GMの9剤で、センシディスクを用いて行った。

MRSA

MICはドライプレートで測定した。

ESBL産生菌

ESBL産生は、セフトキシム、セフトキシム、セフトキシムとクラブラン酸との合剤を用いたディスク法で確認した。

III. 薬剤耐性遺伝子および病原因子の解析

染色体上のキノロン耐性決定領域(QRDR)の変異は、Giraudらの方法に従い、*gyrA* 遺伝子上のQRDRの81位、83位、87位と*parC* 遺伝子上のQRDRの80位の変異を調べた。

プラスミド性キノロン耐性(PMQR)遺伝子の検出は、*qnr*、*qepA* および *aac(6)-Ib-cr* 遺伝子に対するPCRで行った。得られた増幅産物がPMQR遺伝子であるかは塩基配列を決定して確認した。

MRSAを疑う菌株については *mecA* 遺伝子、SCC*mec* 型、toxic shock syndrome toxin 1 (TSST-1) 遺伝子およびブドウ球菌エンテロトキシン-C (*sec*) 遺伝子をPCRで確認した。

C. 研究結果および考察

1. サルモネラ

(1)食肉由来菌株:

160株は、13血清型に型別された。*S. Infantis* が97株と最も多く、次いで *S. Schwarzengrund* 33株、*S. Manhattan* 14株が

多い血清型であった(表 1)。

薬剤感受性試験結果は 156 株 (97.5%) が耐性菌であった。その中で CPDX 耐性菌が鶏肉由来で 25 株(17.7%)あった。NA 耐性菌は鶏肉で 26 株(16.5%)認められた。*S. Enteritidis* は 4 株のみの検出であったが全て NA 耐性であった。*S. Enteritidis* の NA 耐性は外国産鶏肉で多く認められるという報告があることから、本血清型の国内産鶏肉でのキノロン耐性の監視が必要である。

鶏肉由来株を 2008 年と 2009 年で比較すると、2008 年では *S. Infantis* が 68.5%を占めていたが 2009 年には 60.6%に減少した。これに対し、*S. Schwarzengrund* は 8.9%から 20.9%に増加した。また、*S. Infantis* の CPDX 耐性率が 15.3%から 26.0%に上昇した(表 2)。

今後は血清型別に耐性状況を比較し、大阪府内で流通している鶏肉のサルモネラ汚染状況の変化を継続的に把握する必要がある。

(2)ヒト由来菌株:

45 株は 7 つの血清型に型別され、*S. Enteritidis* が最も多い血清型であった(表 3)。薬剤感受性試験結果は食中毒事例では 3 事例のみが耐性であり、保菌者では 18 株中 13 株(66.7%)が耐性であった。NA 耐性菌は患者で 3 事例(25.0%)、保菌者で 3 株(16.7%)認められた。CPDX 耐性の *S. Infantis* が保菌者由来株で 3 株あり、鶏肉由来株との比較が必要であると考えられた。

(3) ナリジクス酸耐性サルモネラの MIC およびキノロン耐性遺伝子:

センシディスク法で NA が中間(I)を示す株は認められなかった。耐性(R)を示した 32 株について NA および CPFY の MIC を E-test を用いて測定し、さらに染色体上の

キノロン耐性決定領域(QRDR)の変異およびプラスミド性キノロン耐性 (PMQR) 遺伝子の検出を行った(表 4)。QRDR の変異は、ヒト由来の *S. Infantis* 1 株を除いた 31 株で *gyrA* 遺伝子の 83 位または 87 位のどちらかに変異が認められた。QRDR の変異が認められなかった 1 株については、*gyrB* 遺伝子など今回調べた以外の変異によるアミノ酸置換が考えられるので、今後検討する必要がある。

PMQR 遺伝子はすべての株で認められなかった。

2. カンピロバクター

(1)国産鶏肉由来菌株:

116 株は *C. jejuni* が 105 株、*C. coli* が 11 株であった。*C. jejuni* では 40 株(38.1%)、*C. coli* では 11 株すべてがフルオロキノロン耐性であった。エリスロマイシン耐性は *C. coli* で 1 株認められた。

(2)ヒト由来菌株:

C. jejuni 139 株、*C. coli* 11 株の結果は、*C. jejuni* では散発下痢症患者で 29 株(34.9%)、食中毒患者で 28 株(50.0%)がフルオロキノロン耐性、*C. coli* では散発下痢症患者で 4 株(80.0%)、食中毒患者で 4 株(66.7%)がフルオロキノロン耐性であった(表 5)。

3. 腸管出血性大腸菌 O157

耐性菌は 18 株(19.4%)から検出された。 β -ラクタマーゼ産生菌および NA 耐性菌は検出されなかった(表 6)。

4. 海外渡航者下痢症患者由来大腸菌

供試した EPEC O101: HNM は ABPC・TC・GM・ST・CPDX・CTX・NA 耐性で、ESBL 産生菌であった。NA および CPFY の MIC が $64 \mu\text{g/mL}$ 、 $0.25 \mu\text{g/mL}$ であったこ

とから、プラスミド性キノロン耐性を疑い遺伝子の検索を行ったところ *aac(6')-Ib-cr* 遺伝子保有を確認した (表 7)。

5. MRSA

国内産豚肉、国内産牛肉それぞれ 1 検体から MRSA を検出した。MRSA 検出検体の購入店舗は同一であった (表 8)。2 株のオキサシリンの MIC は $4 \mu\text{g/mL}$ 以上であり、*mecA* 遺伝子を保有し、SCC*mec* は type IV、TSST-1 および *sec* 遺伝子陽性であった (表 9)。MRSA 汚染原因は不明であるため、今後調査を継続することが必要であると考えられる。

D. 結論

鶏肉由来サルモネラの調査で CPDX 耐性菌が 25 株 (17.7%)、NA 耐性菌が 26 株 (16.5%) 認められた。血清型別では *S. Infantis* の CPDX 耐性率が昨年より上昇した。ヒト由来株では CPDX 耐性の *S. Infantis* が 3 株あり、NA 耐性菌が 6 株認められた。

C. jejuni の鶏肉由来菌株では 38.1%、散発下痢症患者では 34.9%、食中毒患者 50.0% がフルオロキノロン耐性であった。

今後は分離株について疫学マーカー解析を行い、食肉の薬剤耐性菌汚染状況の変化とヒト由来株の変化の関連を比較する必要がある。

E. 健康危機情報

鶏肉由来サルモネラでセフェム系抗菌薬耐性率上昇が認められた。今後も患者や食品由来株についての監視が必要である。

F. 研究発表 (論文発表)

Masumi Taguchi, Ryuji Kawahara, Kazuko Seto, Kiyoshi Inoue, Akihiro Hayashi Nobuaki Yamagata, Kazumasa Kamakura, and Etsuro Kashiwagi : Plasmid-mediated quinolone resistance in *Salmonella* isolated from patients with overseas travelers diarrhea in Japan. Jpn. J. Infect. Dis. 62:312-314, 2009.

(口頭発表)

- (1) 河原隆二、田口真澄、勢戸和子、笠井正志、中矢秀雄：第三世代セフェム耐性腸内細菌における各種 β -ラクタマーゼの保有状況について、第 83 回日本感染症学会総会、2009 年 4 月、東京
- (2) 勢戸和子、田口真澄、河原隆二：大阪府における毒素原性大腸菌 (ETEC) 分離状況-2004~2008 年、第 83 回日本感染症学会総会、2009 年 4 月、東京
- (3) 勢戸和子、田口真澄、原田哲也、河原隆二：中国旅行者下痢症の原因菌調査と分離株の薬剤耐性、第 49 回感染性腸炎研究会総会、2010 年 3 月、東京

G. 知的財産権の出願・登録状況 なし

表1 食肉由来のサルモネラの血清型と薬剤感受性パターン(2009年)

産地	種類	血清型	菌株数計	菌株数	薬剤耐性パターン		
国産 (160株)	鶏肉 (158株)	S. Infantis	96	13	ABPC,SM,TC,CPDX		
				4	ABPC,SM,TC,ST,CPDX		
				3	ABPC,SM,TC,KM,CPDX		
				2	ABPC,SM,TC,CPDX,CTX		
				1	ABPC,SM,TC,CPDX,NA		
				1	ABPC,SM,TC,KM,ST,CPDX		
				1	ABPC,TC,CPDX		
				32	SM,TC		
				12	SM,TC,KM		
				9	SM,TC,NA		
				6	SM,TC,ST		
				4	ABPC,SM,TC,KM		
				4	SM,TC,KM,ST		
				2	SM,TC,KM,NA		
				1	SM,TC,ST,NA		
				1	感受性		
				S. Schwarzengrund	33	24	SM,TC,KM
						4	SM,TC
						2	KM
	1	SM,TC,NA					
	1	SM,TC,ST					
	1	TC,KM					
	S. Manhattan	14	2			ABPC,SM,TC,CPDX	
			4			SM,TC,NA	
			7			SM,TC	
			1			感受性	
	S. Enteritidis	4	4	NA			
S. Agona	1	1	TC				
S. Bareilly	1	1	感受性				
S. Blockley	1	1	SM,TC,KM,CP				
S. Minnesota	1	1	TC				
S. Montevideo	1	1	感受性				
S. (1) O7:HNM	1	1	ABPC,SM,TC,KM,CPDX				
S. (1) O8	2	2	SM,TC,NA				
S. (1) OUT;r;1.5	1	1	SM,TC,ST,NA				
S. (1) OUT;r;1.5	1	1	SM,TC,ST				
S. (1) OUT;r;1.5	1	1	SM,TC,NA				
牛肉 (2株)	S. Infantis	1	1	SM,TC,ST			
				S. Typhimurium	1	1	SM

供試薬剤

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

表2 鶏肉由来サルモネラの2008年と2009年の比較

比較内容		2008年	2009年
血清型別検出率	<i>S. Infantis</i>	68.5%	60.6%
	<i>S. Schwarzengrund</i>	8.9%	20.9%
薬剤耐性率	セフトロキジム耐性	12.1%	17.7%
	(<i>S. Infantis</i> のセフトロキジム耐性)	(15.3%)	(26.0%)
	ナリジクス酸耐性	14.5%	16.5%

表3 ヒト由来サルモネラの血清型と薬剤耐性パターン(2009年)

血清型	薬剤耐性パターン	食中毒事例 (菌株数)		散发事例	
		患者	保菌者	患者	保菌者
<i>S. Enteritidis</i>	SM	1	(6)		
	NA	2	(2)	1	
	感受性	7	(16)	1	1
<i>S. Infantis</i>	ABPC,SM,TC,ST,CPDX,CTX				1
	ABPC,SM,TC,CPDX,CTX				1
	ABPC,SM,TC,CPDX				1
	SM,TC,NA				2
	SM,TC				1
	TC,KM				1
	感受性				1
<i>S. Schwarzengrund</i>	SM,TC,KM				3
	SM,TC,NA				1
	SM,TC				2
<i>S. Kiambu</i>	感受性				1
<i>S. Stanley</i>	感受性				1
<i>S. ParatyphiB</i>	感受性				1
<i>S. Rissen</i>	SM,TC,ST			1*	
合計	45株	10	(24)	3	18

*:海外渡航者

供試薬剤

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

表4 ナリジクス酸耐性サルモネラのMICおよびキノロン耐性遺伝子

由来	血清型	菌株数	E-test MIC		<i>gyrA</i>			<i>parC</i>	Plasmid性 キノロン耐性	
			(μ g/mL)	NA	CPF	81 通常Gly	83 通常Ser	87 通常Asp		80 通常Ser
ヒト(6株)										
<i>S. Enteritidis</i>		3	2	>256	0.125	○	○	Asn	○	陰性
			1	>256	0.125	○	○	Tyr	○	陰性
<i>S. Infantis</i>		2	1	>256	0.25	○	○	Asn	○	陰性
			1	>256	0.25	○	○	○	○	陰性
<i>S. Schwarzengrund</i>		1	1	>256	0.125	○	○	Asn	○	陰性
鶏肉(26株)										
<i>S. Enteritidis</i>		4	1	>256	0.125	○	○	Asn	○	陰性
			1	>256	0.25	○	○	Asn	○	陰性
			1	>256	0.125	○	○	Tyr	○	陰性
			1	>256	0.125	○	Tyr	○	○	陰性
<i>S. Infantis</i>		13	5	>256	0.125	○	○	Tyr	○	陰性
			2	>256	0.125	○	○	His	○	陰性
			2	>256	0.125	○	Tyr	○	○	陰性
			1	>256	0.125	○	○	Asn	○	陰性
			1	>256	0.125	○	○	Gly	○	陰性
			1	>256	0.25	○	○	Tyr	○	陰性
			1	>256	0.064	○	○	Tyr	○	陰性
<i>S. Manhattan</i>		4	2	>256	0.125	○	○	Tyr	○	陰性
			1	>256	0.25	○	Phe	○	○	陰性
			1	>256	0.25	○	○	Tyr	○	陰性
<i>S. (1) O8</i>		2	1	>256	0.125	○	○	Asn	○	陰性
			1	>256	0.125	○	○	Gly	○	陰性
<i>S. (1) OUT;r;1.5</i>		2	1	>256	0.125	○	Tyr	○	○	陰性
			1	>256	0.125	○	○	Tyr	○	陰性
<i>S. Schwarzengrund</i>		1	1	>256	0.125	○	○	Tyr	○	陰性

○: 変異なし

表5 カンピロバクターの薬剤感受性試験成績(2009年)

薬剤耐性パターン	鶏肉由来株	ヒト由来株	
		散発	食中毒(30事例)
<i>C. jejuni</i>			
NFLX,OFLX,CPFX,NA,TC,ABPC	4	3	2
NFLX,OFLX,CPFX,NA,TC	11	12	11
NFLX,OFLX,CPFX,NA,ABPC	4		3
NFLX,OFLX,CPFX,NA	21	14	12
フルオロキノロン耐性 小計	40(38.1%)	29(34.9%)	28(50.0%)
TC,ABPC	2	3	2
TC	15	10	2
ABPC	13	3	1
感受性	35	38	23
<i>C. jejuni</i> 合計	105(100%)	83(100%)	56(100%)
<i>C. coli</i>			
NFLX,OFLX,CPFX,NA,TC,EM	1		
NFLX,OFLX,CPFX,NA,TC,ABPC		1	
NFLX,OFLX,CPFX,NA,TC	8	2	3
NFLX,OFLX,CPFX,NA	2	1	1
フルオロキノロン耐性 小計	11(100%)	4(80.0%)	4(66.7%)
TC,EM			1
TC			1
感受性		1	
<i>C. coli</i> 合計	11(100%)	5(100%)	6(100%)

供試薬剤:

ノルフロキサシン(NFLX)、オフロキサシン(OFLX)、シプロフロキサシン(CPFX)、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)、アンピシリン(ABPC)、アモキシシリン/クラバン酸(AMC)、ゲンタマイシン(GM)

表6 腸管出血性大腸菌O157の薬剤感受性試験成績(2009年)

薬剤耐性パターン	菌株数	
ABPC,SM,TC	2	} 18株(19.4%)
ABPC,SM	10	
SM,TC,CP	2	
SM,TC	1	
SM	2	
CP	1	
感受性	75	
合計	93	

供試薬剤

アンピシリン(ABPC)、クロラムフェニコール(CP)、ストレプトマイシン(SM)、テトラサイクリン(TC)、カナマイシン(KM)、ゲンタマイシン(GM)、ST合剤(ST)、ホスホマイシン(FOM)、セフポドキシム(CPDX)、セフォタキシム(CTX)、ナリジクス酸(NA)、シプロフロキサシン(CPFX)

表7 海外渡航者下痢症患者由来株

菌種	血清型	薬剤耐性パターン	β -ラクタマーゼ産生 Disk法	Plasmid性 キノロン耐性
EPEC	O101:HNM	ABPC,TC,GM,ST,CPDX,CTX,NA	ESBL産生	<i>aac(6')-Ib-cr</i>

表8 MRSA検査数と陽性検体数(2009年)

検体名	検体数	陽性検体数
鶏肉	20	
豚肉	20	1
牛肉	20	1
合計	60	2

表9 食肉から分離したMRSAの性状

菌株No.	由来	MRSA スクリーン 「生研」	オキサシリン MIC(μ g/mL)	<i>mecA</i>	SCC <i>mec</i>	その他の病原因子	
						TSST-1	<i>sec</i>
SA09-1	牛肉ミンチ	+	>4	+	type IV	+	+
SA09-3	豚肉ミンチ	+	>4	+	type IV	+	+

MRSAスクリーン「生研」：ペニシリン結合蛋白質2'(PBP2')検出用キット