

平成 23 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・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	近真理奈	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
研究協力者	土井りえ	埼玉県食肉衛生検査センター

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 2011 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 111 株で 31 血清型に型別された。薬剤耐性では 53 株（47.7%）が供試した 16 薬剤のいずれかに対して耐性を示した。第三世代セフェム系薬剤である CTX に対する耐性株が 1 株分離された。また、動物由来株として、伴侶動物のイヌ 154 頭、ネコ 47 頭および野生アライグマ 218 頭の検査を行い、ネコ 1 頭およびアライグマ 8 頭からサルモネラが分離されたが、分離株はすべて感受性であった。

ヒト由来腸管出血性大腸菌は 127 株が分離され、薬剤感受性試験では、127 株中 53 株（41.7%）が供試薬剤のいずれかに耐性を示し、保育園集団事例で分離された O26:H11 (VT1) 10 株が CTX に対して耐性を示した。

赤痢菌では、インド渡航歴のある患者からフルオロキノロン耐性株が 1 株分離され、その血清型は *S. sonnei* であった。

食品の汚染実態調査では、70 検体中 1 検体（1.4%）からサルモネラ 1 株が、カンピロバクターは 20 検体中 2 検体（10.0%）から 2 株が分離され、腸管出血性大腸菌は分離されなかった。薬剤感受性はサルモネラ 1 株およびカンピロバクター 2 株は供試薬剤に感受性であった。

食鳥肉のフキトリ調査では、80 検体中 8 検体（10.0%）からサルモネラ 12 株が、カンピロバクターは 80 検体中 34 検体（42.5%）から 61 株が分離され、フルオロキノロ

ン耐性株がカンピロバクターで6株分離された。

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等の性状解析を行う。

B. 研究方法

I. 供試菌株

1. ヒト由来

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・腸管出血性大腸菌・カンピロバクター・赤痢菌を医療機関等の協力を得て広く収集した。

2. 食品由来

買い取りによる検体収集を行い、サルモネラ・腸管出血性大腸菌・カンピロバクター・MRSA の分離を検討し、調査に供した。

3) 食鳥処理場由来

食鳥処理場でのと体フキトリからのサルモネラ・カンピロバクターの分離を検討し、調査に供した。

4) 動物由来

従来行ってきた伴侶動物のイヌやネコに加え、「埼玉県アライグマ防除実施計画」に基づき捕獲された野性化アライグマのサルモネラ分離を検討し、調査に供した。

II. 薬剤感受性試験

収集した菌株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。サルモネラ、腸管出血性大腸菌、赤痢菌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、ヒト由来株についてはイミペネム (IMP; 10 μ g)、アミカシン (AMK; 30 μ g)、メロペネム (MEPM; 10 μ g)、スルフィソキサゾール (Su; 250 μ g) の4薬剤を加えた16薬剤を供試した。カンピロバクターはテトラサイクリン (TC; 30 μ g)、ナリジクス酸 (NA; 30 μ g)、シプロフロキサシン (CPFX; 5 μ g)、ノルフロキサシン (NFLX; 5 μ g)、オフロキサシン (OFLX; 5 μ g)、エリスロマイシン (EM; 15 μ g) の6薬剤を供試した。

C. 研究結果

(1) ヒト由来サルモネラ

埼玉県内で 2011 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 111 株は 31 血清型に型別され、最も多く分離されたのは、*S. Enteritidis* が 30 株、次いで *S. Infantis* が 10 株であった。

この 111 株について薬剤感受性試験を実施した結果、供試した 111 株のうち 53 株 (47.7%) が 16 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 30 株のうち 23 株 (76.7%) が耐性を示し、SM 耐性が 13 株、NA 耐性が 10 株であった。

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 耐性と NA 耐性で、それぞれ 13 株ずつ分離された。また 4 剤以上の薬剤に耐性を示す多剤耐性株が 11 株分離され、そのうち第 3 世代セフェム系薬剤である CTX に対する耐性菌が 1 株分離された (表 3)。この株は業態者検便において 60 代の男性から分離されたものであった。薬剤感受性では CTX 以外に 4 薬剤に耐性を示す多剤耐性菌で、CTX-M-14 および TEM-1 型遺伝子を保有していた。

(2) 動物由来サルモネラ

動物由来は、伴侶動物のイヌおよびネコに加えて、野生アライグマのサルモネラ保菌状況調査を行った (表 4)。イヌおよびネコは動物指導センターの協力を得てイヌ 154 頭、ネコ 47 頭の便を

材料として実施し、*S. Nagoya* がネコ 1 頭 (2.1%) から分離されたが、供試薬剤全てに感受性であった。また、捕獲された野生アライグマでは 218 頭中 8 頭 (3.7%) の便からサルモネラが分離された。その血清型は *S. Saintpaul* が 1 株、*S. Nagoya* が 6 株、08UT が 1 株であった。薬剤感受性では 8 株とも供試薬剤全てに対して感受性であった。

(3) 赤痢菌

2010 年に引き続き、2011 年にも県内でフルオロキノロン剤耐性株が 1 株分離された。その血清型も *S. sonnei* であり、患者はインドへの渡航歴があった (表 5)。

(4) 腸管出血性大腸菌

埼玉県内で 2011 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 6 に示した。分離された 127 株で最も多く分離された血清型は、0157:H7 (VT1&2 産生) が 37 株、次いで 026:H11 (VT1 産生) が 35 株、0157:H7 (VT2 産生) が 27 株の順であった。分離 127 株の薬剤感受性試験の結果、供試した 16 薬剤のいずれかに耐性であったのは 53 株 (41.7%) であった (表 7)。耐性株の耐性パターンは 7 パターンに分かれた。最も多かったのは SM・Su 耐性で 25 株が該当し、次いで SM・ABPC・CTX・Su 耐性が 10 株であった。このうち、SM・Su 耐性 17 株と SM・ABPC・CTX・Su 耐性 10 株は県内で発生した 026:H11 (VT1) による保育園集団感染事例で分離された (表 8)。園児、職員など対象者の検査を実施したところ、園児、職員及びその家族 27 名が

菌陽性となった。初発患者を含めた発症者の発症時期が散在し、保育園が提供した食事による患者発生とは考えられなかった。クラス別の陽性率は、初期発症の園児が属するクラスが最も高く、保育園内での日常生活において、おむつの取り替えに伴う不十分な消毒など、日常生活の中で感染が拡大したものと考えられた。分離株の PFGE パターンも類似パターンを示した (図 1)。この集団例では、接触者検便や回復後検便において、家族内で耐性パターンが異なったり、変化する例 (SM・Su 耐性から SM・ABPC・CTX・Su 耐性) が見られた。

(5) カンピロバクター

2011 年に食中毒疑いで搬入された臨床材料分離したカンピロバクターは 43 株で、*C. jejuni* が 41 株、*C. coli* が 2 株であった (表 9)。薬剤感受性試験では *C. jejuni* が 41 株中 24 株、*C. coli* が 2 株とも供試した 6 薬剤のいずれかに耐性を示した。*C. coli* は 2 株と株数は少ないものの、供試 6 薬剤全てに耐性であった。

(6) 食品からの分離

2011 年 7 月から 11 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 70 検体を購入し、腸管出血性大腸菌、サルモネラ、カンピロバクターの検査を行った。なお、カンピロバクターについては牛レバー 15 検体及び鳥挽肉 5 検体のみを対象とした (表 10)。

その結果、サルモネラは豚挽肉 1 検体から検出された。カンピロバクターは牛レバー 1 検体、鶏挽肉 1 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。

検出されたサルモネラの血清型は OUT:r:1,5 で、その薬剤感受性は、SM・TC 耐性であった (表 11)。

カンピロバクターは牛レバーから *C. jejuni* が、鶏挽肉から *C. coli* が分離された。その薬剤感受性は、供試薬剤 (NFLX、OFLX、CPFX、NA、TC、EM) すべてに感受性であった (表 12)。

(6) 食鳥処理場由来

2011 年に埼玉県内の食鳥処理場でのと体フキトリからサルモネラ・カンピロバクターの分離を検討した。

80 検体を供試し、サルモネラが 8 検体から 12 株、カンピロバクターは 34 検体から 61 株が分離された。サルモネラは 12 株すべて *S. infantis* で、その薬剤感受性は Su 耐性が 8 株、SXT・Su 耐性が 4 株であった。カンピロバクターは 61 株すべてが *C. jejuni* で、61 株中 18 株が供試した 6 薬剤のいずれかに耐性を示した。(表 13)。

D. 考察

2011 年に県内で分離されたヒト由来サルモネラ 111 株で供試した 16 薬剤のいずれかに対して耐性を示したのは 53 株 (47.7%) であり、昨年よりも耐性率が上昇していた。CTX 耐性株も 1 株分離され、供試した 16 薬剤中 5 薬剤に耐性を示す多剤耐性株であったことから、継続してその動向を注視する必要があると思われる。

動物由来では、ネコおよび野生化アライグマの検体からサルモネラが分離されたが、幸いなことに、分離された 9 株は供試薬剤すべてに感受性であった。しか

し、2006年にはネコからフルオロキノロン耐性の *S. Typhimurium* が県内で分離されており、伴侶動物のイヌやネコのみならず、ヒトの生活圏を浸食する野生化アライグマについて、ヒト動物共通感染症の観点からも、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127株で供試した16薬剤のいずれかに耐性を示したのは53株(41.7%)であった。2010年の耐性率(26.4%)と比較して大幅な上昇が見られたが、これは保育園での血清型O26:H11(VT1)による集団感染事例分離株が大きく影響している。この事例ではCTX耐性株が10株分離されており、接触者検便や回復後検便において、家族内で耐性パターンが異なったり、変化する例(SM・Su耐性からSM・ABPC・CTX・Su耐性)が見られた。どのような選択圧が働いたのか等、分離菌株の精査をさらに行う必要がある。

赤痢菌ではインドへの渡航歴がある患者からフルオロキノロン剤耐性株が分離された。この地域の帰国者からのフルオロキノロン剤耐性株の分離はここ数年続いており、更なる情報収集の強化を図る必要がある。

食品の汚染実態調査では、フルオロキノロンやCTXに対する耐性株は見られなかったが、食鳥肉のフキトリ調査におい

て分離されたカンピロバクター61株中6株がフルオロキノロン耐性、8株がEM耐性であったことから、これらの動向に今後も注意する必要がある。腸管出血性大腸菌は分離されなかったが、過去に分離例があり、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、臨床で使用される頻度の高いフルオロキノロン系薬剤やセフェム系薬剤に対する耐性株も見られたことから、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

腸管出血性大腸菌集団感染事例において、CTX耐性菌が10株分離された。これらの発生動向等を注視する必要がある。

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 (2011)

O血清型	血清型名	国内		海外	計
		有症者	無症者		
O2	S.Paratyphi A			2(2)	2(2)
O4	S.Paratyphi B		1		1
	S.Schwarzengrund	1(1)			1(1)
	S.Saintpaul	4(3)	1		5(3)
	S.Derby	2(2)	2(2)		4(4)
	S.Agona	4(3)	3(1)		7(4)
	S.Typhimurium	3(2)	1		4(2)
	S.Heidelberg	1(1)			1(1)
O4UT		4(3)	4(3)		8(6)
O7	S.Choleraesuis	1(1)			1(1)
	S.Braenderup	2(1)	2		4(1)
	S.Montevideo	2	2		4
	S.Thompson	1	5		6
	S.Virchow	1			1
	S.Infantis	7(2)	3(1)		10(3)
	S.Bareilly	1			1
	S.Mbandaka		1		1
O8	S.Nagoya	2	1		3
	S.Manhattan	1(1)			1(1)
	S.Newport	3			3
	S.Litchfield		2		2
	O8UT	2			2
O9	S.Typhi			1(1)	1(1)
	S.Enteritidis	28(22)	2(1)		30(23)
	S.Berta	1			1
O3, 10	S.Weltevreden	1			1
O1, 3, 19	S.Senfenberg	1			1
O11	S.Aberdeen		2		2
O13	S.Worthington	1			1
O16	S.Hvittingfoss	1			1
O UT	OUT:a:z ₆	1			1
計		97(39)	40(11)	3(3)	111(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(2011)

	国内		海外	計
	有症者	無症者		
供試菌株数	75	33	3	111
耐性株数	42	8	3	53
(%)	56.0%	24.2%	100.0%	47.7%
薬剤耐性パターン				
SM	13			13
TC	1	2		3
ABPC	3			3
NA	10	1	2	13
SM・Su		1		1
TC・Su	1			1
NA・Su	1			1
SM・ABPC・Su		1		1
SM・TC・Su	5			5
SM・TC・KM	1			1
CP・SM・TC・Su	1			1
SM・TC・KM・Su	1	1		2
SM・TC・ABPC・Su	1	1		2
CP・SM・TC・ABPC・Su	1			1
SM・TC・ABPC・CTX・Su		1		1
CP・SM・ABPC・NA・SXT・Su			1	1
SM・TC・ABPC・NA・SXT・Su	1			1
SM・TC・KM・ABPC・NA・GM・SXT	1			1
CP・SM・TC・KM・ABPC・NA・GM・SXT・Su	1			1
計	42	8	3	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，SXT：ST合剤
 IMP：イミペネム，AMK：アミカシン，MEPM：メロペネム，Su：スルフィソキサゾール

表 3 埼玉県内のCTX 耐性 *Salmonella* 分離例(2011)

No.	OH血清型	年齢区分	菌分離日	耐性パターン	備考
1	O4:i:-	60代	9月	SM・TC・ABPC・CTX・Su	CTX-M-14,TEM1

表 4 イヌ、ネコおよびアライグマからのサルモネラ分離状況（2011）

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	154	0（0%）		0	
ネコ	47	1（2.1%）	S.Nagoya	1	感受性
アライグマ	218	8（3.7%）	S.Saintpaul	1	感受性
			S.Nagoya	6	感受性
			O8 UT	1	感受性

表 5 埼玉県内のフルオロキノロン耐性赤痢菌分離例（2011）

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>	40代	9月	SM・TC・NA・ CPFX・NFLX・Su	インド

表 6 腸管出血性大腸菌の血清型と毒素型(2011)

血清型	毒素型	検出数	血清型	毒素型	検出数
O157:H7	VT1&2	37	O111:H-	VT1	1
O157:H7	VT2	27	O111:H11	VT1	1
O157:H-	VT1&2	8	O115:H10	VT1	1
O26:H11	VT1&2	3	O145:H-	VT2	6
O26:H11	VT1	35	O165:H-	VT1&2	1
O26:H-	VT1	1	OUT:HUT	VT1	1
O103:H2	VT1	4	合計		127
O111:H-	VT1&2	1			

表 7 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(2011)

	O157:H7	O157:H-	O26:H11	O103:H2	O111:H-	O111:H11	O145:H-	OUT:HUT	その他*	計
供試菌株数	64	8	38	4	2	1	6	1	3	127
耐性株数 (%)	9 14.1%	5 62.5%	28 73.7%	2 50.0%	1 50.0%	1 100.0%	6 100.0%	1 100.0%	0 0.0%	53 41.7%
薬剤耐性パターン										
SM・Su	1	5	17	2						25
SM・ABPC・Su	2		1							3
SM・ABPC・CTX・Su			10							10
SM・TC・ABPC・Su	4									4
SM・TC・KM・ABPC・Su	1							1		2
SM・TC・ABPC・SXT・Su	1						6			7
SM・TC・KM・ABPC・NA・Su					1	1				2

* O26:H-(1),O115:H10(1),O165:H-(1)

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
 IMP：イミペネム，AMK：アミカシン，MEPM：メロペネム，Su：スルフィソキサゾール

表 8 保育園集団感染事例分離株の諸性状別分離株数

血清型	ベロ毒素型	PFGE型	薬剤耐性パターン	
			SM・Su	SM・ABPC・CTX・Su
O26:H11	VT1	11a09	13	8
		11a10		1
		11a11	2	
		11a12	1	1
		11a13	1	
	合計		17	10

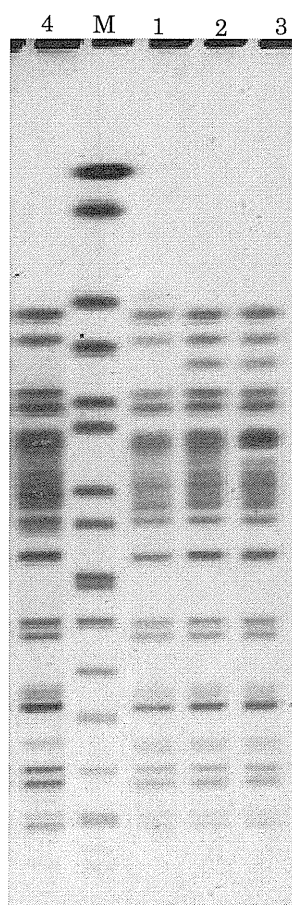


図1集団感染事例分離株のPFGEパターン

M: *Salmonella* Braenderup H9812 / *Xba* I digestion

1: PFGE No.11a10

2: PFGE No.11a09

3: PFGE No.11a11

4: PFGE No.11a12

表 9 埼玉県内でヒトから分離されたカンピロバクターの薬剤耐性パターン(2011)

	<i>C.jejuni</i>	<i>C.coli</i>	計
供試菌株数	44	2	46
耐性株数	27	2	29
(%)	61.4%	100.0%	63.0%
薬剤耐性パターン			
TC	4		4
NA	1		1
EM	2		2
CPFX・NFLX・OFLX	2		2
TC・NA・CPFX・NFLX	1		1
TC・CPFX・NFLX・OFLX	2		2
NA・CPFX・NFLX・OFLX	12		12
TC・NA・CPFX・NFLX・OFLX	3		3
TC・NA・EM・CPFX・NFLX・OFLX		2	2

TC：テトラサイクリン，NA：ナリジクス酸，EM：エリスロマイシン，CPFX：シプロフロキサシン
NFLX：ノルフロキサシン，OFLX：オフロキサシン，

表 10 食品からの食中毒菌分離状況(2011)

検体の種類	検体数	STEC	サルモネラ	カンピロバクター
牛レバー	15	0/15	0/15	1/15
鶏挽肉	5	0/5	0/5	1/5
豚挽肉	14	0/14	1/14	
牛豚挽肉	12	0/12	0/12	
牛挽肉	14	0/14	0/14	
漬物	10	0/10	0/10	
計	70	0/70	1/70	2/20

表 11 食肉からのサルモネラ分離状況(2011)

区分	検体数	陽性検体数	血清型(検出数)	耐性パターン
牛レバー	15	0		
鶏肉	5	0		
豚ひき肉	14	1	OUT:r:1,5 (1)	SM・TC
牛豚挽肉	12	0		
牛挽肉	14	0		
計	60	1		

表12 食肉からのカンピロバクター分離状況 (2011)

区分	検体数	陽性株数	血清型 (検出数)	耐性パターン
牛レバー	15	1	<i>C. jejuni</i> (1)	感受性
鶏肉	5	1	<i>C. coli</i> (1)	感受性
計	20	2		

表13 食鳥肉フキトリ検体からのサルモネラ・カンピロバクター分離状況(2011)

区分	検体数	陽性検体数	陽性株数	薬剤感受性パターン (株数)
サルモネラ	80	8	12	Su(8) ST・Su(4)
カンピロバクター	80	34	61	TC(2) EM・TC(8) NFLX・NA(3) CPFX・OFLX・NFLX(1) CPFX・OFLX・NFLX・NA(3) CPFX・OFLX・NFLX・NA・TC(1) 感受性(43)

分離されたサルモネラは*S. Infantis*

分離されたカンピロバクターはすべて*C. jejuni*

平成 23 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 ヒトおよび食品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
小西 典子 東京都健康安全研究センター 微生物部
下島優香子 東京都健康安全研究センター 微生物部
横山 敬子 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：食中毒関連のヒトおよび食品・ふき取り材料から分離されたサルモネラ菌株について調べた結果、ESBL 産生菌は 2009 年以降分離されるようになった。食品由来株は全て鶏肉由来で、4 株中 3 株が血清型 Infantis であった。ESBL 産生菌の遺伝子型は CTX-M-2group が最も多く 5 株であった。この遺伝子型菌は、ブラジル産鶏肉から多く分離されるタイプである。

市販鶏肉からの ESBL 産生大腸菌検出率は、国産肉では 48%，輸入肉では 69.3%であった。輸入鶏肉の多くはブラジル産であった。

腸管出血性大腸菌（EHEC）について血清群別に薬剤耐性率を比較した結果、O157 は 16.8%，O26 は 22.6%，O111 は 50%であり、O26 や O111 は O157 に比べて耐性菌出現率が高い傾向であった。

2010 年に分離されたヒト由来 *Campylobacter jejuni* のキノロン系薬剤に対する耐性菌出現状況は 46.1%と 2000 以降最も高い耐性率であった。一方、同年にヒトから分離された *C. coli* は 62.5%で例年とほぼ同様であった。治療の際の第一選択薬である EM に対する耐性株は *C. jejuni* で 2.1%，*C. coli* で 12.5%であった。

A. 研究目的

近年、医療の現場ではキノロン系薬剤耐性菌や ESBL 産生菌の増加が問題となっている。また、サルモネラや大腸菌等の食中毒起因菌においても薬剤耐性菌の拡大が懸念されている。このような状況下、食中毒起因菌を中心とした腸管系病原菌の耐性菌出現状況を把握することは、耐性菌出現のメカニズムを解明するために重要である。そこで本研究では、ヒトおよび食品から分

離された食中毒起因菌（サルモネラ、腸管出血性大腸菌、カンピロバクター）を中心に薬剤耐性菌出現状況を調べた。

B. 研究方法

1. サルモネラの ESBL 産生菌出現状況
- 1) 供試菌株

2005 年から 2011 年に食中毒関連検体から分離されたヒト由来株 1,012 株および食品やふき取り材料由来株 582 株を供試した。

2) 薬剤感受性試験

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), ノルフロキサシニン(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法で薬剤感受性を調べた。CTX耐性株については, セフトキシムとセフトキシム+クラブラン酸およびセフトキシムとセフトキシム+クラブラン酸がコーティングされているEtestを用いて, ESBL産生菌の判定を行なった。

3) ESBL産生菌の遺伝子型

ESBL産生菌については, 八木らおよびShibataらのプライマーを用いたPCR法で遺伝子型の決定を行なった。

2. 鶏肉からのESBL産生菌検出状況

1) 供試検体

2011年5月から12月に販売されていた鶏肉151検体(国産:50検体, 輸入:101検体)を供試した。

2) ESBL産生菌の検出

検体25gにBPW 225mlを加え35°Cで20時間培養後, 2 μ l/ml CTX加マッコニー寒天培地に分離した。発育した赤い集落についてCTXおよびCAZ(セフトキシム)および各薬剤のクラブラン酸合剤に対する薬剤感受性試験をKB法で実施した。クラブラン酸合剤で5mm以上阻止円が拡大したものをESBL産生菌と判定した。

3. 腸管出血性大腸菌(EHEC)の耐性菌

出現状況

東京都内で分離されたEHEC O157(1,117株), O26(137株), O111(26株)を供試した。薬剤感受性試験は, サルモネラと同様の薬剤を用い, KB法で実施した。

4. ヒト由来 *Campylobacter jejuni* および *C. coli* の耐性菌出現状況

1) 供試菌株

2010年に東京都内で分離された散発下痢症由来 *C. jejuni* 141株および *C. coli* 8株を供試した。

2) 薬剤感受性試験

CPFX, NFLX, OFLX, NA, エリスロマイシン(EM)の6薬剤を供試しKB法で実施した。

C. 研究結果

1. サルモネラのESBL産生菌検出状況

2005年から2008年までの4年間は, ESBL産生菌は検出されなかったが, 2009年に2株, 2010年1株, 2011年3株が検出され, 検出率は増加傾向であった(表1)。ヒト由来株からの検出は1,012株中2株(0.2%), 食品・ふき取り材料由来株は582株中4株(0.7%)であり, 食品・ふき取り材料由来株の方が検出率は高かった。検出されたESBL産生性サルモネラの血清型および薬剤耐性パターンを表2に示した。ヒト由来株の血清型はO4群(i:—)およびO18群血清型Cerroであった。食品由来株はO7群血清型Infantisが3株, O8群血清型Manhattanが1株であった。ESBL産生菌を検出した食品は, 全て鶏肉関連であった。これらESBL産生株の供試した14薬剤に対する耐性パターンはCTX, ABPC, SM, TC, ST, CP, NA, NFLSの8薬剤耐性が1株, CTX, ABPC, SM, TC, Suの

5 薬剤耐性が 3 株, CTX,ABPC,TC,KM,Su の 5 薬剤耐性が 1 株, CTX,ABPC の 2 薬剤耐性が 1 株であった。

ESBL 産生菌 6 株について遺伝子型別を行なった結果, 1 株 (血清型 Cerro) が CTX-M-1group, その他の 5 株が CTX-M-2group であった。

2. 鶏肉からの ESBL 産生菌検出状況

2011 年 5 月から 12 月に搬入された鶏肉 151 検体から ESBL 産生菌の検出を試みた結果, 国産鶏肉 50 検体中 24 検体 (48%), 輸入鶏肉 101 検体中 70 検体 (69.3%) から ESBL 産生菌が検出された。検出された ESBL 産生菌は全て大腸菌であった。輸入国は 7 カ国 (ブラジル, アメリカ, フランス, チリ, アルゼンチン, フィリピン, メキシコ) に渡っていたが, 多くはブラジル産で, ESBL 産生菌の検出率も 85.5% と高率であった。

3. EHEC の耐性菌出現状況

O157 の耐性菌出現状況を 2005 年分離株から調べた結果, 耐性率はそれ程高くはなかった (11.7%~23.4%)。しかし 2007 年以降の耐性率は 11.7% (2007 年), 13.5% (2008 年), 17.5% (2009 年), 23.4% (2010 年) と上昇傾向であった (図 1)。

O157 の薬剤耐性パターンは 4 薬剤耐性が最も多く 38.3%, 次いで 3 薬剤 28.2%, 2 薬剤 18.0%, 1 薬剤 11.1%, 5 薬剤以上 4.3% であった (図 2)。

血清群ごとに耐性菌出現率を比較したところ, O111 は 50%, O26 は 22.6%, O157 は 16.8% で, O157 に比較して他の 2 血清群の耐性率は高かった (表 4)。

4. ヒト由来 *C. jejuni* および *C. coli* の耐

性菌出現状況

ヒト由来 *C. jejuni* および *C. coli* のニューキノロン剤に対する耐性率の推移を図 3 に示した。2010 年分離株の耐性率は *C. jejuni* で 46.1% (141 株中 65 株), *C. coli* で 62.5% (8 株中 5 株) であり, 耐性率はほぼ横ばいであった。

カンピロバクター感染症の治療時に第一選択薬とされている EM に対する耐性菌出現状況を図 4 に示した。2010 年の耐性率は *C. jejuni* で 2.1% (141 株中 3 株), *C. coli* は 12.5% (8 株中 1 株) であった。

D. 考察

以前から当センターで分離されたサルモネラについては, キノロン系薬剤を中心に薬剤感受性試験を行なってきた。2005 年以降, 新たに ESBL 産生菌の分離状況を把握する目的で, CTX を追加した。2005 年から 2008 年に分離されたサルモネラ 848 株では CTX 耐性株は認められなかった。しかし 2009 年以降は, 毎年食品由来株で 1~2 株, ヒト由来株で 0~1 株程度が分離されている。分離菌株数は少ないが, 検出率は上昇する傾向を示した。食品由来株 4 株は, 全て生の鶏肉由来 (つくね, レバー等) であった。以前から鶏肉由来サルモネラの薬剤耐性率は高く, 高率に多剤耐性菌が検出される傾向であったが, ESBL 産生菌も検出率が上昇している状況であった。

ESBL 産生性サルモネラの遺伝子型を調べた結果, 食品由来株は全て CTX-M-2group であった。2010 年に鶏肉から分離された大腸菌について ESBL 産生遺伝子型別を行なった結果, ブラジル産鶏肉由来株は CTX-M-2group が多く, 国産鶏肉は CTX-M-9group, CTX-M-1group が多かったことから, 今回検出した鶏肉は輸入肉

の可能性も示唆された。

鶏肉から ESBL 産生性サルモネラが検出されたため、2011 年に搬入された生鶏肉（151 検体）から ESBL 産生性大腸菌の検出を試みた結果、94 検体（62.3%）から ESBL 産生性大腸菌が検出された。以前の調査では、牛肉からの検出は 16.7%、豚肉からは 0%であったことから、鶏肉では他の食肉と比較して高率に ESBL 産生性大腸菌が検出される傾向であった。

EHEC の薬剤耐性率は、O157 で 16.8%、O26 は 22.6%、O111 は 50%と O157 以外の血清群菌で耐性率は高かった。

2010 年に分離された下痢症患者由来 *C. jejuni* の耐性率は 46.1%であり、2000 年以降で耐性率は最も高かった。一方、*C. coli* の耐性率は 62.5%であり、*C. jejuni* より耐性率は高い傾向が認められた。EM については、*C. jejuni* では 2.1%、*C. coli* では 12.5%で、*C. coli* ではやや増加傾向が認められた。

E. 結論

食中毒関連検体から分離されたサルモネラの ESBL 産生菌出現状況を調べた結果、ヒト由来株および食品・ふき取り材料由来株共に 2009 年以降分離されるようになった。食品由来株は、全て鶏肉由来で、4 株中 3 株が血清型 *Infantis* であった。検出された ESBL 産生サルモネラは全て 2 薬剤以上に耐性を示す多剤耐性菌であった。遺伝子型は CTX-M-2group が最も多く 5 株であった。CTX-M-2group はブラジル産鶏肉から多く分離されるタイプである。

同様に市販鶏肉から ESBL 産生性大腸菌の検出を試みた結果、検出率は国産肉では 48%、輸入肉では 69.3%で非常に高い検出率であった。

2010 年に分離されたヒト由来 *C. jejuni* および *C. coli* についてキノロン系薬剤に対する耐性菌出現状況を調べた結果、*C. jejuni* は 46.1%と 2000 以降最も高い耐性率であった。*C. coli* は 62.5%で例年とほぼ同様であった。治療の際の第一選択薬である EM に耐性株は *C. jejuni* で 2.1%、*C. coli* は 12.5%であった。

F. 健康危機情報

市販鶏肉からの ESBL 産生性大腸菌検出率は国産肉で 48%、輸入肉で 69.3%であった。ヒトおよび食品由来サルモネラの ESBL 産生菌出現率はそれほど高くはないが、近年上昇傾向であった。

EHEC の耐性菌出現率はそれほど高くなかったが、血清群 O26 や O111 の耐性率は O157 よりも高かった。

G. 研究発表

1. 小西典子，尾畑浩魅，齊木大，鈴木康規，門間千枝，横山敬子，仲真晶子，甲斐明美：腸管出血性大腸菌 O157, O26, O111 の薬剤耐性株出現状況，第 15 回腸管出血性大腸菌感染症研究会，2011 年 7 月，大阪

H. 知的財産権の出願・登録状況

無し

I. 特許取得

無し

表1 食中毒関連検体から分離されたサルモネラの
ESBL産生菌出現状況

年	ヒト由来株		食品・ふきとり由来株	
	供試数	ESBL (%)	供試数	ESBL (%)
2005	136	0	78	0
2006	151	0	74	0
2007	151	0	69	0
2008	102	0	87	0
2009	135	1 (0.7)	111	1 (0.9)
2010	191	0	63	1 (1.6)
2011	146	1 (0.7)	100	2 (2.0)
合計	1,012	2 (0.2)	582	4 (0.7)

ESBL産生菌の判定:CTX耐性株について, Etestを用いて判定した。

表2 ESBL産生性サルモネラの血清型および薬剤耐性パターン

分離年	由来	O群	血清型	薬剤耐性パターン
2009	保菌者	O4	i:-	CTX,ABPC,SM,TC,ST,CP,NA,NFLX
2011	患者	O18	Cerro	CTX,ABPC
2009	食品(つくね)	O7	Infantis	CTX,ABPC,TC,KM,Su
2010	食品(赤レバー)	O8	Manhattan	CTX,ABPC,SM,TC,Su
2011	食品(鶏肉)	O7	Infantis	CTX,ABPC,SM,TC,Su
2011	食品(白レバー)	O7	Infantis	CTX,ABPC,SM,TC,Su

供試薬剤: CP,TC,SM,KM,GM,ABPC,ST, FOM,NA, CPF,FX,NFLX,OFLX,Su,CTX

表3 鶏肉からのESBL産生性大腸菌検出状況

原産国	供試数	ESBL 産生菌	%
日本	50	24	48
ブラジル	76	65	85.5
アメリカ	18	1	5.6
フランス	2	2	100
チリ	2	1	50
アルゼンチン	1	1	100
フィリピン	1	0	0
メキシコ	1	0	0
合計	151	94	62.3

輸入鶏肉の
ESBL産生菌
検出率:69.3%

調査期間:2011年5月から12月

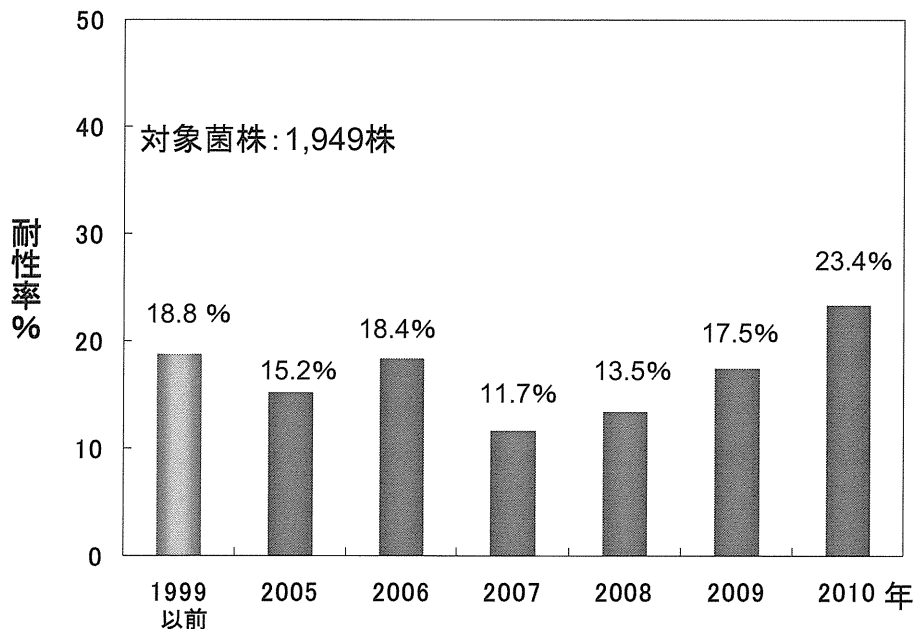


図1 ヒト由来腸管出血性大腸菌O157の薬剤耐性菌出現状況

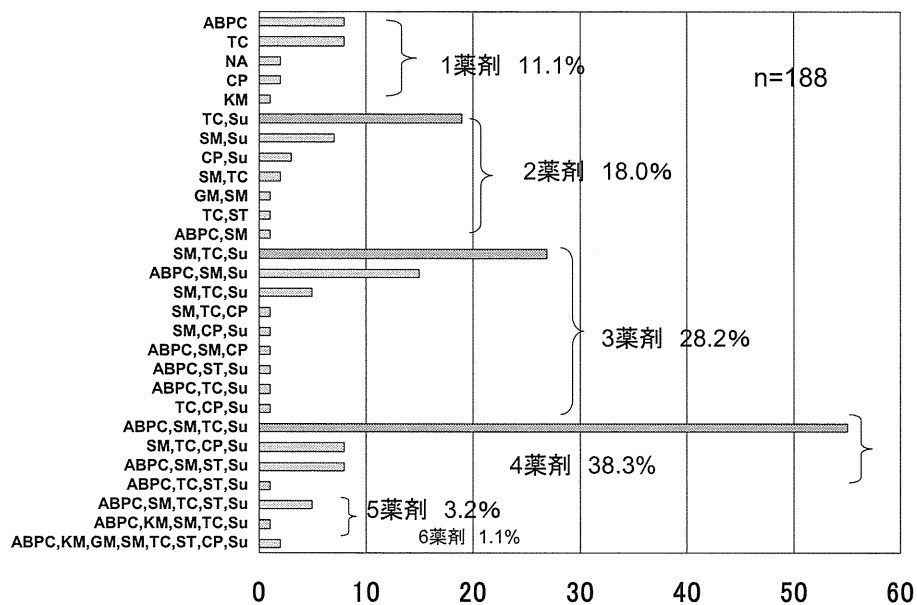


図2 EHEC O157の薬剤耐性パターン(2005年~2010年)

表4 血清群別にみた薬剤耐性菌出現率の比較

血清群	供試菌株数	耐性菌株数	%
O157	1117	188	16.8
O26	137	31	22.6
O111	26	13	50.0

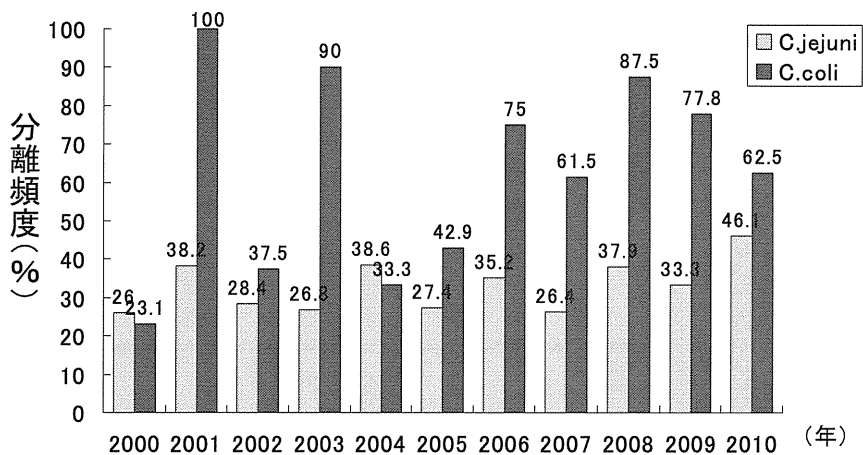


図3 ヒト由来*C.jejuni*,*C.coli* のキノロン系薬剤
に対する耐性菌検出状況

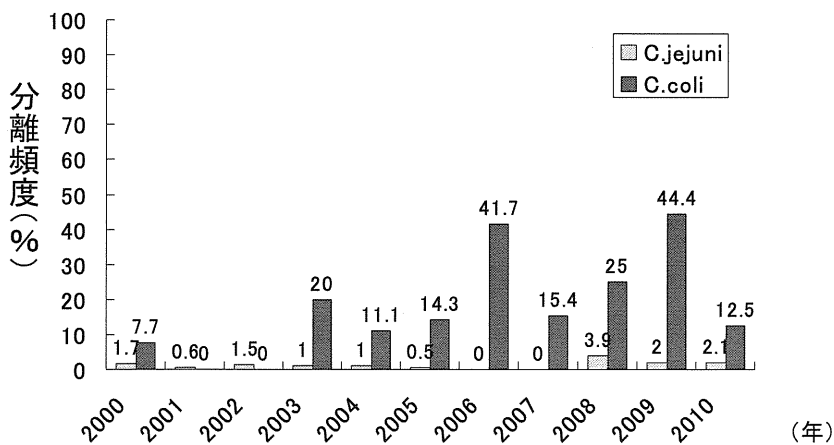


図4 ヒト由来*C.jejuni*,*C.coli* のErythromycin
に対する耐性菌検出状況