

平成 21-23 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

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、治療薬剤に抵抗を示す耐性菌の動向を調査するため、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 2009-2011 年に分離されたヒト由来サルモネラは 382 株で 57 血清型に型別され、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。CTX 耐性株は 4 株分離され、それらの耐性遺伝子はそれぞれ異なっていた。

動物由来株はイヌ 606 頭、ネコ 157 頭および野生化アライグマ 883 頭の検査を行い、イヌ 5 頭、ネコ 1 頭および野生化アライグマ 22 頭からサルモネラが分離されたが、イヌ由来 3 株 (KM 耐性:2 株、ABPC 耐性:1 株) を除き、分離株は供試薬剤に感受性を示した。

赤痢菌では、フルオロキノロン耐性株 3 株、CTX 耐性株 1 株が分離され、その血清型はすべて *S. sonnei* であった。

ヒト由来腸管出血性大腸菌は 358 株が分離され、薬剤感受性試験では、107 株 (29.9%) 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。

食品の汚染実態調査では、246 検体を供し、サルモネラとカンピロバクターは分離されたが、腸管出血性大腸菌と MRSA は分離されなかった。カンピロバクターでフルオロキノロン耐性株が 3 株検出された。

食鳥肉のフキトリ調査では、80 検体中からサルモネラ 12 株、カンピロバクター 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を中心に、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

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。また、「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  $\mu$ g)、ストレプトマイシン (SM;10  $\mu$ g)、テトラサイクリン (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、2010 年からはヒト由来株についてはイミペネム (IMP;10  $\mu$ g)、アミカシン (AMK;30  $\mu$ g)、メロペネム (MEPM;10  $\mu$ g)、スルフィソキサゾール (Su;250  $\mu$ 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  $\mu$ g)、ナリジクス酸 (NA;30  $\mu$ g)、シプロフロキサシン (CPFX;5  $\mu$ g)、ノルフロキサシン (NFLX;5  $\mu$ g)、オフロキサシン (OFLX;5  $\mu$ g)、エリスロマイシン (EM;15  $\mu$ 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2009-2011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382株は57血清型に型別され、*S. Enteritidis*が97株と最も多く分離された、次いで*S. Infantis*が26株であった。

この382株について薬剤感受性試験を実施した結果、2009年は供試した134株のうち41株(30.6%)が12薬剤のいずれかに(表2-1)、2010年-2011年は供試した248株のうち103株(41.5%)が16薬剤のいずれかに耐性を示した(表2-2)。

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。第3世代セフェム系薬剤であるCTXに対する耐性菌が2010年に3株、2011年に1株分離された。No.1は、入院中に下痢を呈した患者から分離された株であった。血清型は*S. Enteritidis*で、そのファージ型は3であった。薬剤感受性ではCTX以外に7薬剤に耐性を示す多剤耐性菌であった。No.2も胆石での入院中に下痢発熱があった患者から分離された株で、その血清型は*S. Heidelberg*であった。この株もCTX以外に7薬剤に耐性を示す多剤耐性菌であった。No.3は下痢、発熱、等の症状を呈した外来患者から分離された株で、その血清型は04 UT(04:i:-)であった。No.4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。これらの株が保有する耐

性遺伝子は全て異なっていた。

### (2) 動物由来サルモネラ

イヌ606頭およびネコ157頭は動物指導センターの協力により、捕獲された野生アライグマイヌ883頭とともに検査に供した。サルモネラは、イヌ606頭中5頭(0.8%)、ネコ157頭中1頭(0.6%)、アライグマ883頭中22頭(2.5%)から分離された(表4)。アライグマおよびネコから分離された23株は供試薬剤全てに感受性であった。イヌから分離された5株中3株が耐性で、KM耐性が2株(*S. Infantis*)、ABPC耐性が1株(*S. Enteritidis*)であった。

### (3) 赤痢菌

2009年から2011年にかけて、毎年CTXあるいはフルオロキノロン剤耐性赤痢菌が分離された。いずれの耐性菌も血清型はすべて*S. sonnei*であった。特にフルオロキノロン剤耐性菌は、いずれもインドへの渡航歴があり、その耐性パターンも一致していた。(表5)。

### (4) 腸管出血性大腸菌

埼玉県内で2009-2011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358株で最も多く分離された血清型は、0157:H7(VT1&2産生)が159株、次いで0157:H7(VT2産生)が65株、026:H11(VT1産生)が58株の順であった。この358株について薬剤感受性試験を実施した結果、2009年は供試した121株のうち25株(20.7%)が12薬剤のいずれかに(表2-1)、2010年-2011年は供試した237株のうち82

株 (34.6%) が 16 薬剤のいずれかに耐性を示した (表 2-2)。

2011 年に CTX 耐性株が 10 株分離された。この株は県内で発生した O26: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。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) 食品からの分離

2009 年から 2011 年にかけて、埼玉県内の市場等で食肉、食鳥肉、内臓肉及び漬物、計 246 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、MRSA の検査を行った。カンピロバクターについては牛レバー 45 検体及び鳥挽肉 25 検体のみを対象とした (表 9)。

その結果、サルモネラは鶏挽肉 10 検体と豚挽肉 2 検体および牛豚挽肉、牛挽肉、サイコロステーキのそれぞれ 1 検体から検出された。カンピロバクターは牛レバー 9 検体、鶏挽肉 15 検体から検出された。腸管出血性大腸菌と MRSA はいずれの検体からも検出されなかった。

検出サルモネラの薬剤感受性は鶏挽

肉から分離された *S. Schwarzengrund* とサイコロステーキから分離された *S. Orion* を除き、供試薬剤のいずれかに耐性を示したが、フルオロキノロン剤や CTX に対する耐性株はなかった (表 10)。カンピロバクターは牛レバーから *C. jejuni* 10 株、鶏挽肉から *C. jejuni* 14 株と *C. coli* 2 株が分離された。その薬剤感受性試験では、フルオロキノロン剤耐性株が *C. jejuni* に 2 株と *C. coli* に 1 株の計 3 株検出された (表 11)。

#### (6) 食鳥処理場由来

2010 年-2011 年に埼玉県内の食鳥処理場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。

126 検体を供試し、サルモネラが 9 検体から 13 株、カンピロバクターは 50 検体から 77 株が分離された。サルモネラは *S. Albany* が 1 株で、残り 12 株は *S. Infantis* であった。*S. Albany* は感受性であったが、*S. Infantis* 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 77 株すべてが *C. jejuni* で、77 株中 29 株が供試した 6 薬剤のいずれかに耐性を示し、フルオロキノロン剤耐性株も 9 株見られた (表 12)。

#### D. 考察

2009 年-2011 年に県内で分離されたヒト由来サルモネラ 382 株で供試薬剤のいずれかに対して耐性を示したのは 144 株 (37.7%) であり、CTX 耐性株も 4 株分離された。4 株は保有する耐性遺伝子もすべて異なっており、供試した 16 薬剤中 5 薬剤以上に耐性を示す多剤耐性株であつ

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た。

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、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358株で供試薬剤のいずれかに耐性を示したのは107株(29.9%)であった。2011年には、CTX耐性の血清型O26:H11(VT1)による保育園集団感染事例が発生し、CTX耐性株が10株分離された。この事例では、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。このような事象がどのようにして起こるのか、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る例が続いた。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。また、CTX耐性赤痢菌も分離されており、これについても注視する必要がある。

食品の汚染実態調査において分離されたサルモネラに、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、鶏挽肉およびサイコロステーキから分離された2株を除き供試薬剤のいずれかに耐性を示したことや同様に分離されたカンピロバクターにフルオロキノロン耐性株が見られたこと、さらに食鳥肉のフキトリ調査で分離されたカンピロバクターにフルオロキノロン耐性株やEM耐性株が見られたことから、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

腸管出血性大腸菌とサルモネラでCTX耐性株が、赤痢菌でCTXやフルオロキノロン剤耐性株が分離された。これらの疫学的背景も含め、その発生動向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 (2009~2011)

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	2	1		3
	S.Stanley	2(1)	1(1)		3(2)
	S.Schwarzengrund	4(4)			4(4)
	S.Saintpaul	12(4)	7(1)		19(5)
	S.Derby	2(2)	5(3)		7(5)
	S.Agona	8(5)	7(2)		15(7)
	S.Typhimurium	16(9)	2(1)		18(10)
	S.Brandenburg	1			1
	S.Heidelberg	3(3)	1		4(3)
	O4UT	16(6)	6(4)	22(10)	8(6)
O7	S.Oslo		1		1
	S.Brazzaville	1			1
	S.Choleraesuis	2(2)			2(2)
	S.Livingstone	1			1
	S.Rissen		1		1
	S.Braenderup	3(1)	3		6(2)
	S.Montevideo	7	10		17
	S.Oranienburg	1			1
	S.Thompson	12(1)	11(2)		23(3)
	S.Potsdam	2	1		3
	S.Virchow	4	1		5
	S.Infantis	18(7)	8(3)		26(10)
	S.Altona		1		1
	S.Bareilly	5	2		7
	S.Mbandaka	2	7(1)		9(1)
	S.Tennessee	1	1		2
	O7UT	1			1
O8	S.Narashino	1	1		2
	S.Nagoya	13	3		16
	S.Manhattan	4(4)			4(4)
	S.Newport	7(1)	5(3)		12(4)
	S.Kottbus	1			1
	S.Blockley	1			1
	S.Litchfield	7(1)	5		12(1)
	S.Corvallis	3			3
	S.Albany	1(1)			1(1)
	S.Hadar	1(1)	1(1)		2(2)
O8UT	3			3	
O9	S.Typhi			1(1)	1(1)
	S.Enteritidis	83(57)	14(5)		97(62)
	S.Panama	2			2
	S.Miyazaki	1			1
O3, 10	S.London			1	1
	S.Weltevreden	4			4
	S.Lexington			1	1
O1, 3, 19	S.Senftenberg	1	3		4
	O1,3,19UT	1(1)			1(1)
O11	S.Aberdeen		2		2
O13	S.Havana		1		1
	S.Worthington	1			1
O16	S.Hvitvingfoss	1	1		2
	O16UT		1		1
O18	S.Cerro	1(1)			1(1)
O21	S.Minnesota		1(1)		1(1)
O42	O42UT	1			1
O UT	OUT:a:z <sub>6</sub>	1			1
計		264(112)	111(28)	6(4)	382(144)

( ) : 薬剤耐性株数

表2-1 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2-2 ヒトから分離されたサルモネラの薬剤耐性パターン(2010-2011)

	国内		海外	計
	有症者	無症者		
供試菌株数	172	73	3	248
耐性株数	81	19	3	103
(%)	47.1%	26.0%	100.0%	41.5%
薬剤耐性パターン				
SM	28	3		31
TC	3	5		8
KM		1		1
ABPC	4			4
NA	15	3	2	20
TC・NA	1			1
KM・ABPC	1			1
SM・Su		1		1
TC・Su	1			1
NA・Su	1			1
SM・TC・KM	1			1
CP・SM・Su	2			2
SM・TC・Su	8	1		9
SM・ABPC・Su		1		1
CP・SM・TC・Su	1			1
CP・TC・SXT・Su		1		1
SM・TC・KM・Su	2	1		3
SM・TC・ABPC・Su	2	1		3
CP・SM・TC・ABPC・Su	1			1
SM・TC・ABPC・NA・Su	1			1
SM・TC・ABPC・CTX・Su		1		1
SM・TC・ABPC・SXT・Su	1			1
CP・SM・ABPC・NA・SXT・Su			1	1
SM・TC・ABPC・NA・SXT・Su	1			1
SM・TC・KM・ABPC・NA・Su	1			1
CP・SM・ABPC・NA・CTX・SXT・Su	1			1
CP・SM・TC・ABPC・NA・SXT・Su	1			1
SM・TC・KM・ABPC・NA・GM・SXT	1			1
CP・SM・TC・ABPC・CTX・GM・SXT・Su	1			1
SM・TC・KM・ABPC・NA・CTX・GM・Su	1			1
CP・SM・TC・KM・ABPC・NA・GM・SXT・Su	1			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 3 ヒト由来CTX耐性サルモネラの血清型・耐性遺伝子(2009-2010)

No.	血清型	耐性パターン	耐性遺伝子
1	<i>S.Enteritidis</i>	CP・SM・ABPC・NA・CTX・SXT・Su	CTX-M-9
2	<i>S.Heidelberg</i>	SM・TC・KM・ABPC・NA・CTX・GM・Su	CTX-M-2
3	O4:i-	CP・SM・TC・ABPC・CTX・GM・SXT・Su	CTX-M-15(like) TEM-1
4	O4:i-	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 (2009-2011)

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	606	5 (0.8%)	<i>S.Enteritidis</i>	1	ABPC
			<i>S.Infantis</i>	2	KM
			<i>S.Livingstone</i>	2	感受性
ネコ	157	1 (0.6%)	<i>S.Nagoya</i>	1	感受性
アライグマ	883	22 (2.5%)	<i>S.Saintpaul</i>	1	感受性
			<i>S.Agona</i>	1	感受性
			<i>S.Thompson</i>	1	感受性
			<i>S.Nagoya</i>	17	感受性
			<i>S.Altona</i>	1	感受性
			O8 UT	1	感受性

表 5 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 (2009-2011)

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>	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
3	<i>S.sonnei</i>	50代	2010年8月	SM・TC・NA・CPFX・NFLX・SXT	インド
4	<i>S.sonnei</i>	40代	2011年9月	SM・TC・NA・CPFX・NFLX・Su	インド

表 6 ヒト由来腸管出血性大腸菌の血清型と毒素型(2009-2011)

血清型	毒素型	検出数	血清型	毒素型	検出数
O157:H7	VT1&2	159	O111:H-	VT1&2	1
O157:H7	VT2	65	O111:H-	VT1	2
O157:H7	VT1	1	O111:H11	VT1	1
O157:H-	VT1&2	24	O115:H10	VT1	1
O157:H-	VT2	2	O121:H19	VT2	10
O26:H11	VT1&2	6	O145:H-	VT1	1
O26:H11	VT1	58	O145:H-	VT2	7
O26:H-	VT1	5	O146:H21	VT1	1
O74:H12	VT2	1	O165:H-	VT1&2	1
O91:H-	VT1	1	O165:H-	VT2	2
O91:HUT	VT1	2	OUT:HUT	VT1	1
O103:H2	VT1	5	合計		358
O110:H7	VT2	1			

表 7-1 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7 ヒト由来腸管出血性大腸菌の薬剤耐性パターン(2010-2011)

	O157:H7	O157:H-	O26:H11	O91:HUT	O91:H-	O103:H2	O111:H-	O111:H11	O145:H-	O165:H-	OUT:HUT	その他*	計
供試菌株数	141	15	46	2	1	4	2	1	7	1	1	16	237
耐性株数	26	8	32	2	1	2	1	1	7	1	1	0	82
(%)	18.4%	53.3%	69.6%	100.0%	100.0%	50.0%	50.0%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	34.6%
薬剤耐性パターン													
CP	1												1
SM	1												1
TC	2		2										4
SM・TC										1			1
SM・Su	1	6	18			2							27
CP・SM・ABPC	1												1
SM・TC・Su	2			2									4
SM・TC・ABPC	1												1
SM・ABPC・Su	2		1										3
CP・SM・TC・Su		2											2
SM・TC・ABPC・Su	12												12
SM・TC・NA・Su	1												1
SM・TC・KM・ABPC			1										1
SM・ABPC・CTX・Su			10										10
CP・SM・TC・SXT・Su					1								1
SM・TC・KM・ABPC・Su	1										1		2
SM・TC・ABPC・SXT・Su	1								7				8
SM・TC・KM・ABPC・NA・Su							1	1					2

\* O26:H-(1),O74:H12(1),O110:H7(1),O115:H10(1),O121:H19(10),O146:H21(1),O165:H-(1)

表 8 保育園集団感染事例分離株の諸性状別分離株数(2011)

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

表 9 食品からの食中毒菌分離状況(2009-2011)

検体の種類	検体数	陽性検体数			
		STEC	サルモネラ	カンピロバクター	MRSA
牛レバー	45			9	
鶏挽肉	25		10*	15	
豚挽肉	44		2		
牛豚挽肉	38		1		
牛挽肉	42		1		
サイコロステーキ(牛肉)	2		1		
一夜漬け	50				
計	246	0	15	24	0

\*：1検体から2種類の血清型を分離

表10 食肉からのサルモネラ分離状況(2009-2011)

区分	検体数	陽性検体数	血清型 (検出数)	耐性パターン (検出数)
牛レバー	45	0		
鶏挽肉	25	12	S.Scwarzengrund	SM・TC・KM (1) 感受性 (1)
			S.Infantis	TC (1)
				SM・TC (1)
				TC・SXT (1)
				SM・TC・SXT (2)
S.Manhattan	TC・KM・SXT (2)			
	SM・TC・KM・SXT (1)			
豚ひき肉	44	2	S.Brandenburg	NA (2)
			OUT:r:1,5	TC (1)
牛豚挽肉	38	1	S.Infantis	SM・TC (1)
牛挽肉	42	1	S.Infantis	SM・TC・SXT (1)
サイコロステーキ	2	1	S.Orion	感受性
計	196	15		

表11 食肉からのカンピロバクター分離状況 (2009-2011)

区分	検体数	陽性株数	血清型	耐性パターン (検出数)
牛レバー	45	10	<i>C. jejuni</i>	感受性 (5)
				TC (4)
				CPFX・OFLX・NFLX・NA・TC (1)
鶏挽肉	25	16	<i>C. jejuni</i>	感受性 (13)
				CPFX・OFLX・NFLX・TC (1)
				<i>C. coli</i>
計	70	26		感受性 (1)
				CPFX・OFLX・NFLX・TC (1)

表12 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(2010-2011)

区分	検体数	陽性検体数	陽性株数	血清型	薬剤感受性パターン (株数)
サルモネラ	126	9	13	<i>S.Albany</i>	感受性(1)
				<i>S.Infantis</i>	Su(8) ST・Su(4)
カンピロバクター	126	50	77	<i>C.jejuni</i>	TC(12) EM・TC(8) CPFX・OFLX・NFLX(1) CPFX・OFLX・NFLX・NA(7) CPFX・OFLX・NFLX・NA・TC(1) 感受性(48)

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ランスシステムの  
高度化に関する研究」

平成 21 年～23 年度 総合研究報告書（分担報告）

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：食品およびヒトから分離されたサルモネラ血清型 *Manhattan*, 腸管出血性大腸菌 O157, O26, O111, *Campylobacter jejuni*, *C. coli* の薬剤耐性菌出現状況, および MRSA, ESBL, NDM-1 の出現状況について調べた。

サルモネラ血清型 *Manhattan* は, 分離されるサルモネラの中ではそれほど多い血清型ではないが, 耐性菌の割合は高く, ヒト由来株で 80%, 食品由来株で 100%であった。食品由来株は, 全て鶏肉から分離されたものであった。食品からの MRSA 検出率は 0.13%, 糞便検体からは 0.25%であり, 検出率は高くなかった。*C.jejuni* のキノロン系薬剤に対する耐性率はやや増加傾向であるが, EM 耐性率は数%で低かった。いずれの薬剤に対しても, *C. coli* の耐性率は *C. jejuni* より高かった。EHEC O157 の耐性菌出現状況を 2005 年から調べた結果, 耐性率は 20%前後で推移していた。O 血清群ごとに耐性率に比較すると, O157 に比べて O26, O111 の耐性率は高かった。食肉からの ESBL 産生性大腸菌検出率は鶏肉で高い。一方, 豚肉からは検出されなかった。2009 年 9 月以降に分離されたサルモネラ, EHEC, および大腸菌の中に NDM-1 産生菌は検出されなかった。

#### 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, カルバペネム系薬剤に耐性を示す NDM-1 と呼ばれる新しいタイプの菌も報告され, 拡大が懸念されている。

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, 治療

の上からも, また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。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を中心に薬剤耐性菌出現状況を調べた。

#### B. 研究方法

1. 供試材料および供試菌株



#### 1) サルモネラ血清型 Manhattan

2009年から2010年に下痢症患者等から分離された10株(2009年:6株, 2010年:4株)および食中毒原因調査のために供された食品から分離した12株(2009年:6株, 2010年:6株)を供試した。

#### 2) 黄色ブドウ球菌

2007年12月から2010年5月の間に食中毒の原因追求調査のために供された食品5,435検体および2008年5月から2010年5月に当センターに搬入された糞便7,443検体を対象として黄色ブドウ球菌の分離を行なった。検出された食品由来の黄色ブドウ球菌774株および糞便由来の931株を供試した。

#### 3) カンピロバクター

2008年から2010年に東京都内で分離された散発下痢症由来 *Campylobacter jejuni* 503株および *C. coli* 25株を供試した。

#### 4) 腸管出血性大腸菌 (EHEC)

東京都内で2005年から2010年に分離された EHEC O157 (1,117株), 2000年から2010年に分離された O26 (137株) および O111 (26株) を供試した。

#### 5) ESBL 産生菌

##### (1) サルモネラ

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・ふき取り由来株582株を供試した。

##### (2) 食品からの ESBL 産生菌検出

2010年5月から7月に都内で流通する食品(牛肉, 牛内臓肉, 豚肉, 鶏肉)92検体および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。検体25gにBPW 225mlを加え35°C, 20時間培養後, 2μl/ml CTX加マッコンキー寒天培地に分離し, 出

現した集落についてESBL産生菌であるか否かの判定を行なった。

#### 6) NDM-1 産生菌

2009年9月から2011年にヒトおよび食品から分離されたサルモネラ, 腸管出血性大腸菌および大腸菌を供試した。

## 2. 薬剤感受性試験

### 1) サルモネラおよび EHEC O157, O26, O111

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) 黄色ブドウ球菌

食品および糞便から分離された黄色ブドウ球菌を対象に, 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なった。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* 遺伝子の保有をPCR法で確認した。

### 3) カンピロバクター

CPFX, NFLX, OFLX, TC, NA, エリスロマイシン(EM)の6薬剤を供試し, KB法で調べた。

### 4) ESBL 産生菌

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タジジムとセフトタジジム+クラブラン酸がコーティングされている Etest, または CTX および CAZ (セフトタジジム) とそ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。

ESBL 産生菌であった株の一部について、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。

#### 5) NDM-1 産生菌

研究班内共通の薬剤として CPFXX, AMK (アミカシン), IPM (イムペネム), MEPM (メロペネム) の 4 薬剤を選定し, KB 法でスクリーニング試験を実施した。

### C. 研究結果

#### 1. サルモネラ血清型 Manhattan の耐性菌出現状況

サルモネラ血清型 Manhattan は, 毎年数株程度が分離されているが, 分離数としてはそれ程多い血清型ではない。しかし, 2009 年および 2010 年は, ヒトおよび食品由来株合わせて 22 株 (ヒト由来: 10 株, 食品由来: 12 株) が検出された。S. Manhattan を検出した食品は, 全て鶏肉 (内臓肉を含む) であった。分離株について 14 薬剤を用いた薬剤感受性試験を実施した結果, ヒト由来株では 10 株中 8 株 (80%) が, 食品由来では分離された 12 株全てが 2 薬剤以上に耐性を示す多剤耐性菌であった (表 1)

#### 2. MRSA の分離状況

食品 5,435 検体中 MRSA が検出されたのは 7 件 (0.13%) であった。MRSA が検出された食品は鶏肉, 豚肉, 牛内臓肉, 車えび, アナゴ, 焼鮭, 酢の物であった。

一方, 糞便検体では, 7,443 検体中 MRSA は 26 検体 (0.35%) から検出された (表 2)。

分離された MRSA のエンテロトキシンおよび TSST-1 産生性を調べたところ, 食品由来株では SEC+T および T のみが各 3 株 (43%), SEA+SEB が 1 株であった。一方, 糞便由来株は SEC+T が最も多く 11 株 (41%), 次いで T のみ, および SEB のみが 2 株 (8%), SEA+SEB, SEA, SEC, SED が各 1 株であった (図 1)。

#### 3. ヒト由来 *C. jejuni* および *C. coli* 耐性菌出現状況

2000 年から 2010 年に分離された *C. jejuni* および *C. coli* について, キノロン系薬剤および EM に対する耐性菌出現状況について比較した (図 2)。*C. jejuni* のキノロン系薬剤耐性率は, 26.4% から 46.1% であり, 耐性率はやや増加傾向であった。一方, *C. coli* は年によって耐性率は異なっており, 2001 年 (100%), 2003 年 (90%), 2008 年 (87.5%) で耐性率は高かった。

EM に対する耐性菌出現状況をみると, *C. jejuni* では 0% ~ 3.9% で耐性率は低かった。*C. coli* では 2009 年 (44.4%), 2006 年 (41.7%), 2008 年 (25%) で耐性率は高く, 2003 年以降耐性率が増加している傾向が認められた (図 3)。

#### 4. EHEC の薬剤耐性菌出現状況

O157 の耐性菌出現状況を 2005 年から調べた結果, 耐性率は 11.7% ~ 23.4% であり, それ程高くはなかった。

血清群ごとに耐性菌出現率を比較したところ, O157 は 16.8%, O26 は 22.6%, O111 は 50% であり, O157 に比べて他の 2 血清群で耐性率は高かった (表 3)。

#### 5. ESBL 産生菌

##### 1) サルモネラの ESBL 産生菌検出状況

調査を始めた2005年から2008年までの4年間は、ESBL産生菌の検出は認められなかったが、2009年に2株、2010年に1株、2011年に3株が検出され、検出率は増加傾向であった(表4)。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、検出率は食品・ふき取り材料由来株の方が高かった。

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、鶏肉(レバーを含む)3株およびその加工品(つくね)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、CTX-M-1groupが1株(血清型Cerro)、CTX-M-2groupが5株であった。

#### 2) 食品からの検出状況

牛肉、豚肉、鶏肉(それぞれ内臓肉を含む)からのESBL産生大腸菌分離状況を表5に示した。国産鶏肉からの分離が最も多く28検体中12検体(42.9%)、次いで輸入鶏肉19検体中7検体(36.8%)、国産牛内臓肉18検体中3検体(16.7%)であった。豚肉19検体からESBL産生大腸菌は検出されなかった。

鶏肉からESBL産生大腸菌が高率に検出されたことから、2011年には鶏肉151検体からESBL産生菌の検出を試みた。国産鶏肉では48%、輸入鶏肉では69.3%からESBL産生菌が検出された(表6)。

#### 6. NDM-1産生菌

2009年9月、新しいタイプの耐性菌であるNDM-1産生菌が検出されたという

報告を受け、研究班内で共通のNDM-1スクリーニング用薬剤を選び、分離株についてスクリーニング試験を実施した。2009年9月~2011年に分離されたサルモネラ、EHECおよび大腸菌についてスクリーニング試験を実施したが、NDM-1を疑う株は分離されなかった。

#### D. 考察

近年分離数が増加しているサルモネラ血清型Manhattanの薬剤耐性率を調べた結果、ヒト由来株10株中8株、食品由来株12株全てが2薬剤以上に耐性を示した。2010年に分離された食品由来株の1株はTC,SM,Su, ABPC,CTXの5薬剤に耐性を示すESBL産生菌であった。

食品およびヒトのMRSA保有状況を調べた結果、食品5,435検体中7検体(0.13%)からMRSAが検出された。MRSAが検出された食品7検体のうち鶏肉と豚肉、車えび、アナゴおよび酢の物はそれぞれ同一店から収去した食品であった。これらの食品は①原材料が汚染されていた、②調理場での汚染、すなわち調理従事者の手指や調理器具を介した二次汚染の2つの可能性が考えられた。

一方、糞便検体では、7,443検体中26株(0.35%)からMRSAが検出された。この検出率は、EHEC O157の健康人保菌率(約0.02%)およびサルモネラ保菌率(約0.03%)と比較して高い保菌率であった。

下痢症患者由来*C. jejuni*のキノロン系薬剤耐性率は毎年30%前後で推移しているが、2000年以降の年次別耐性率をみると、やや増加している傾向が認められた。*C. coli*は、年間に分離される数が少ないため、年によって耐性率は大きく異なっていた。

EM に対する耐性率は *C. jejuni* では数%と耐性率は高くなかったが、*C. coli* では近年増加傾向である。いずれの薬剤に対しても、*C. coli* の耐性率が *C. jejuni* より高かった。今後の動向に注意が必要である。

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 年に市販食肉（鶏肉、豚肉、牛肉）から ESBL 産生性大腸菌の検出を試みた結果、国産鶏肉からの検出率が最も多く、次いで輸入鶏肉、国産牛内臓肉の順であった。分離株の遺伝子型は国産鶏肉では CTX-M-9 group が、輸入鶏肉では CTX-M-2 Group が最も多く、国産と輸入では異なる遺伝子型であった。

市販鶏肉から高い割合で ESBL 産生菌が検出されたことから、2011 年は鶏肉に絞って検出を試みた。検査した 151 検体中 94 検体（62.3%）から ESBL 産生性大腸菌が検出された。2010 年の調査では、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ことが明らかとなった。遺伝子型等の詳細は、今後検討する予定である。

#### E. 結論

1. サルモネラ血清型 Manhattan は分離されるサルモネラの中では、それほど多い血清型ではないが、耐性菌の割合は高く、ヒト由来株で 80%、食品由来株で 100% であった。食品由来株は、全て鶏肉から分離されたものであった。
2. 食品からの MRSA 検出率は 0.13%、糞便検体からは 0.25% であり、検出率は高くなかった。

3. *C. jejuni* のキノロン系薬剤に対する耐性率は、やや増加傾向である。EM 耐性率は数%であり、耐性率は低かった。いずれの薬剤に対しても、*C. coli* の耐性率は *C. jejuni* より高かった。

4. EHEC O157 の耐性菌出現状況を 2005 年から調べた結果、耐性率は 20% 前後で推移していた。O 血清群ごとに耐性率を比較すると、O157 に比べて O26、O111 の耐性率は高かった。

5. 食肉からの ESBL 産生性大腸菌検出率は鶏肉で高い。一方、豚肉からは検出されなかった。

6. 2009 年 9 月以降に分離されたサルモネラ、EHEC、および大腸菌を対象に NDM-1 産生菌出現状況を調べた結果、NDM-1 を疑う菌は検出されなかった。

#### F. 健康危機情報

*C. jejuni* のキノロン系薬剤耐性率を 2000 年から調べた結果、耐性率は増加する傾向であった。

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

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。

#### G. 研究発表

1. 小西典子、尾畑浩魅、齊木大、上原さとみ、新井輝義、門間千枝、仲真晶子、甲斐明美：食品および糞便から分離されたメチシリン耐性黄色ブドウ球菌について、第 31 回日本食品微生物学会学術総会、2010