

年 11 月，滋賀

2. 下島優香子，井田美樹，猪股光司，樋口容子，田端麻里，河村真保，畠山薫，仲真晶子，甲斐明美：食肉からの基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ産生大腸菌の検出，第 31 回日本食品微生物学会学術総会，2010 年 11 月，滋賀

3. 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 サルモネラ血清型Manhattan の耐性菌出現状況
(2009から2010年, 東京都)

耐性パターン					由 来	
					ヒト	食品
TC	SM		Su		7	4
TC	SM	ABPC	Su			5
TC	SM		NA Su			2
TC			Su		1	
TC	SM	ABPC	Su	CTX		1
感受性					2	
計					10	12

表2 食品および糞便からの黄色ブドウ球菌およびMRSAの検出

由来	供試数	検出数	
		黄色ブドウ球菌	MRSA
食品	5,435	774 (14.2%)	7 (0.13%)
糞便	7,443	931 (12.5%)	26 (0.35%)

供試検体: 食中毒関連調査検体

食品: 2007年12月～2010年5月

糞便: 2008年5月～2010年5月(非発症者, 調理従事者を含む)

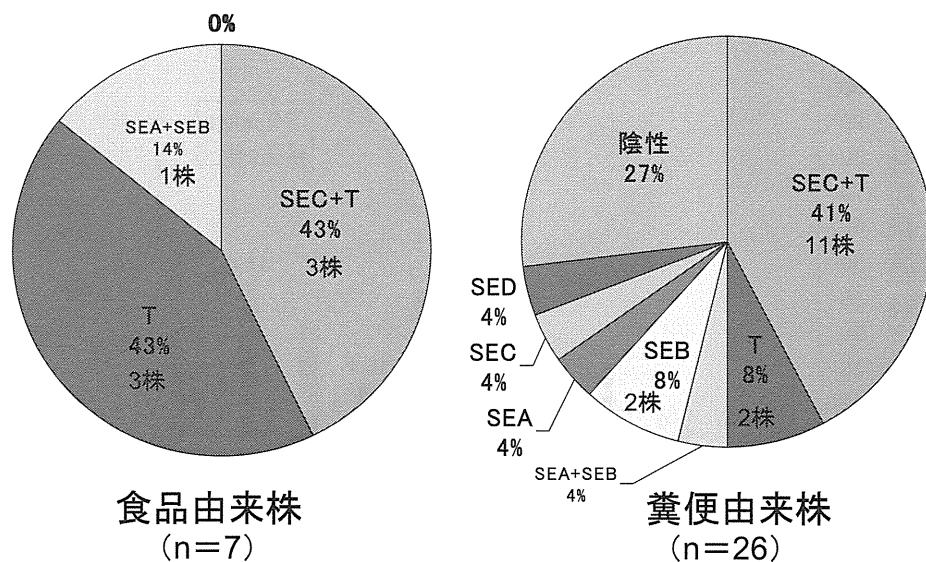


図1 MRSAのエンテロトキシンおよびTSST-1産生性

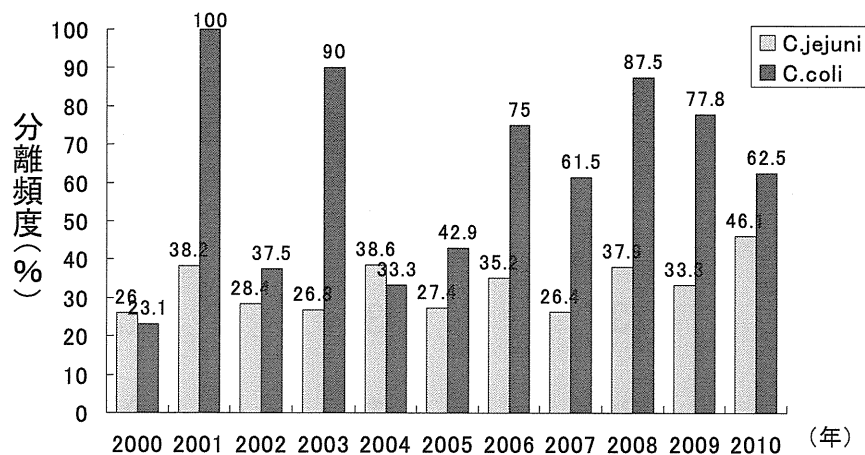


図2 ヒト由来C.jejuni, C.coliのキノロン系薬剤に対する耐性菌検出状況

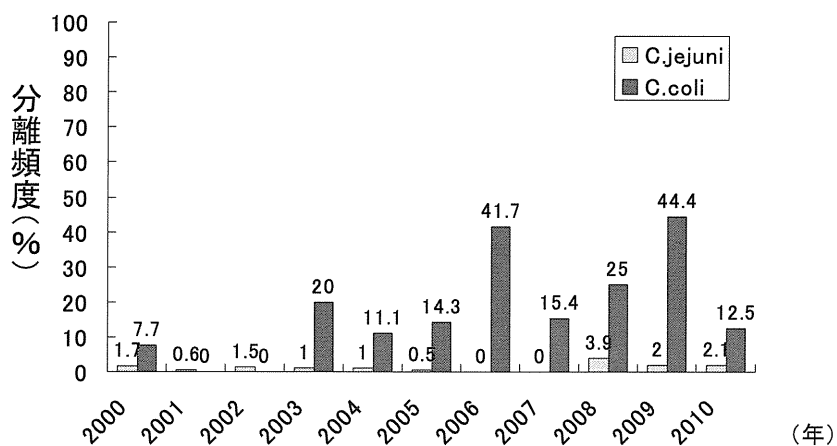


図3 ヒト由来*C.jejuni*,*C.coli* のErythromycin に対する耐性菌検出状況

表3 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

O157 : 2005～2010年分離株(東京都)

O26, O111: 2000～2010年分離株(東京都)

表4 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5 ESBL産生大腸菌検出状況

検体	検体数	陽性検体数 (%)	
		糞便系大腸菌	ESBL産生菌
国産牛内臓肉	18	18 (100)	3 (16.7)
輸入牛肉	8	0 (0)	0 (0)
国産豚肉	5	2 (40.0)	0 (0)
輸入豚肉	14	2 (14.3)	0 (0)
国産鶏肉	28	28 (100)	12 (42.9)
輸入鶏肉(ブラジル産)	19	16 (84.2)	7 (36.8)
計	92	66 (71.7)	22 (23.9)

調査期間：2010年5月～7月(東京都内)

国産由来肉はCTX-M-9、CTX-M-1グループの順に、輸入鶏肉(ブラジル産)はCTX-M-2グループが多かった。

表6 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~12月

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）

平成 21-23 年度 総合分担研究報告書

食中毒菌の薬剤耐性獲得のリスクマネージメントに関する研究

研究分担者 五十君 静信 国立医薬品食品衛生研究所
黒田 誠 国立感染症研究所
浅井 鉄夫 農林水産省動物医薬品検査所
田口 真澄 大阪府立公衆衛生研究所
甲斐 明美 東京都健康安全研究センター
研究協力者 石井 良和 東邦大学医学部微生物・感染症学講座
朝倉 宏 国立医薬品食品衛生研究所
岡田 由美子 国立医薬品食品衛生研究所
百瀬 佳香 国立医薬品食品衛生研究所
山本 茂貴 国立医薬品食品衛生研究所
坂田 竜二 東邦大学医学部微生物・感染症学講座
吉住 あゆみ 東邦大学医学部微生物・感染症学講座
舘田 一博 東邦大学医学部微生物・感染症学講座
関塚 剛史 国立感染症研究所

研究要旨

本分担研究では、カンピロバクター・ジェジュニと拡張型 β -ラクタマーゼ（ESBL）産生大腸菌を対象とした。研究班の分担研究者や協力研究者から、動物の飼育段階、と殺場段階、市販食品、ヒト臨床などの分離株の提供を受け、それぞれの分離株の抗生物質の耐性獲得状況、PFGE による遺伝子型別、疫学情報などを検討し、耐性菌の食品を介したヒトへの伝播に関して研究を行った。

カンピロバクターでは疫学データと PFGE 型から、動物の飼育段階から市販食品とヒト臨床分離株に相関性が認められた。カンピロバクター・ジェジュニの抗生物質への耐性獲得は食品を介して行われ、市販鶏肉からヒトへの伝播と牛肝臓の生食などからヒトへの伝播が主要な2つの経路であると推定された。それぞれの経路の分離株のフルオロキノロン剤（CPF_X）の耐性率に着目すると市販鶏肉分離株の 42%が耐性であるのに対し、と畜場の牛肝臓分離株では 13%であり、これらの耐性状況を反映してヒト臨床分離株での耐性率はそれらの中間的な値である 33%を示した。疫学データと菌株の型別によりフルオロキノロン耐性率の低い牛からヒトへの伝播が存在し、ヒト臨床でのフルオロキノロン耐性の割合に影響を与えていると推定された。このような結論を検証するため、食品からヒトへの伝播が想定される主要な菌株を選び、全ゲノム解析を進めた。

近年急増している ESBL 産生大腸菌に関しては、患者および健常人からしばしば分離されるオキシミノセファロスポリン薬耐性大腸菌急増の理由と、それに影響を与えると思われる国産鶏肉から分離される ESBL 産生大腸菌の関連性を検討することを目的として研究を行った。国産鶏肉から分離された大腸菌に、ヒト由来株で頻度の高かった ESBL をコードする遺伝子の blaCTX-M-27 や、ST131 に属する大腸菌は認められなかったことから、ヒト由来株と国産鶏肉由来株の間には当初想定していた関連性があまりないことが示された。

A. 研究目的

わが国において、カンピロバクターやサルモネラは、食中毒発生事例が多く、代表的な食中毒起因菌であるが、抗生物質耐性菌が増加傾向にあり、公衆衛生上問題となっている。一方、スウェーデン王立研究所の研究により、鶏に用いられたアボパルシンと、バンコマイシン耐性腸球菌の出現に因果関係が示され、耐性菌の出現に食肉動物の飼料に用いられた抗菌物質が関与していることが示唆されている。本分担研究では、主にカンピロバクターと近年急増している拡張性β-ラクタマーゼ(ESBL)産生大腸菌に注目して、耐性株の食品を介するヒト臨床への影響に関して研究を行った。

研究班全体の分担研究者や協力研究者により得られた、動物の飼育段階、と殺場段階、市販食品、ヒト臨床といったそれぞれの分離株の提供を受け、カンピロバクターと ESBL 産生大腸菌等の抗菌剤耐性獲得に関するデータと菌株を収集し研究を行うことにより、耐性菌出現防止に関わるリスクマネジメント手法の基礎となり、耐性菌の出現の防止に有効な対策に関する情報を提供することを目的とした。

B. 研究方法

食中毒菌ではカンピロバクターを主な対

象とし、常在菌としては ESBL 産生大腸菌に着目し、日本国内の動物の飼育段階、と殺場段階、市販食品、ヒト臨床における情報、菌株、データの収集と菌株の詳しい検討を行い、食品(鶏肉および牛肉)における対象となる細菌の汚染実態と抗生物質耐性獲得状況についてわが国の実態を明らかにする。

①カンピロバクターの検討

菌株収集に関しては、分担研究者、協力研究者に加え、以下の機関のネットワークによるカンピロバクターレファレンスセンターに協力をいただいた。

国立医薬品食品衛生研究所
東京都健康安全研究センター
埼玉県衛生研究所
秋田県衛生科学研究所
群馬県衛生環境研究所
愛知県衛生研究所
大阪府立公衆衛生研究所
広島市衛生研究所
山口県環境保健研究センター
熊本県保健環境科学研究所

カンピロバクター・リファレンスセンターの協力により、各機関の所在地(図1)において2005~2006年度に得られた臨床分離株について、地域ごとの発生病数およ

びディスク法による薬剤耐性獲得状況に関する調査結果の提供を受け、国内で分離された飼育段階、と畜場段階、市販食品由来株より得られた結果との比較を行った。

分離株について、パルスフィールドゲル電気泳動 (PFGE) により、牛肝臓由来株と電気泳動パターンを比較しゲノムレベルの相関性を調べた (平成 21 年度)。生産現場からの分離株は、農水省動物医薬品検査所、ヒト臨床分離株は、大阪府立公衆衛生研究所及び東京都健康安全研究センターに協力を依頼し検討を行った。尚、ゲノムパターンを比較した株については、パルスフィールドゲル電気泳動と併せて、各種形質 (Penner 血清型、PCR による遺伝子マーカーの検出、プラスミドの有無等) についての調査も行った (平成 22 年度)。ゲノム解析については、国立感染症研究所ゲノムセンターにお願いし、あらかじめ行っていた遺伝子型別の情報を基に、需要と思われる菌株を選択して行った。(平成 23 年度) 倫理面への配慮

菌株に係わる臨床データについては、菌株の性状に関する情報と分離して管理することにより、菌株から直接個人情報特定されることがないように配慮した。

②ESBL 産生大腸菌の検討

2007 年に全国 72 の医療施設から収集された 743 株の大腸菌のうち、セフトキシムあるいはセフトジジムに耐性を示し、4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ のクラブラン酸が共存した場合に 3 管以上の最小発育阻止濃度が改善した 76 株を選択した。76 株のうち 57 株が、基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ (Extended-spectrum beta-lactamase: ESBL) をコード

する遺伝子を保有していた (検出方法は後述)。さらに、2009 年と 2010 年に東邦大学医学部 2 年次学生の便から検出された 10 株の ESBL 産生大腸菌を加えて 67 株のヒト由来 ESBL 産生大腸菌を対象に解析した。国産鶏肉は、2008 年に都内 48 店舗の食肉販売店から購入した。購入した鶏胸肉は、氷冷下東邦大学医学部微生物・感染症学講座まで搬送し、その 10~15g を無菌的に秤取り、Mueller-Hinton 培地 20mL を加え、35°C の恒温槽で 1 晩振盪培養した。約 10 μL の培養液を CHROMagar™ ESBL に塗抹し、ESBL 産生大腸菌を選択した。

ヒト由来オキシミノセファロsporin 耐性大腸菌および分離選択培地上に発育した ESBL 産生が強く疑われる鶏由来大腸菌を対象にこれらの菌株が保有する ESBL をコードする遺伝子は、blaCTX-M-1、blaCTX-M-2、blaCTX-M-8/25、blaCTX-M-9 の各グループを検出可能な Multiplex PCR 法にて検出した。Multiplex PCR で陽性となった菌株については、各 blaCTX-M 型 ESBL 全長の塩基配列決定が可能な増幅用プライマーを設計し、構造遺伝子全長の塩基配列を決定した。

ESBL 産生大腸菌の ST 型は、定法に従って <http://mlst.ucc.ie/mlst/dbs/Ecoli> が定める 7 つのハウスキーピング遺伝子の塩基配列を決定してその結果を得た。得られた ST 型をもとに <http://eburst.mlst.net/v3> により、Clonal complex (CC) を決定した。

倫理面への配慮

事前に本研究に関する説明を東邦大学医学部 2 年次学生に行い、同意が得られた学生のみが本研究に参加した。全国サーベイランスで菌株を収集するに当たり、全ての参

加施設は各施設の規則に従い、倫理委員会あるいはそれに準じる組織の許可を得た。さらに、患者情報の収集に際しては、全データを患者の特定ができないように暗号化した。

C.研究結果

①カンピロバクターの検討

検討したカンピロバクター・ジェジュニ分離株は、生産現場からの分離株（動物医薬品検査所）、ヒト食中毒臨床分離株（大阪府立公衆衛生研究所、東京都健康安全研究センター）で、2005～2006年に分離されたカンピロバクター・ジェジュニ株を対象とした。近年の耐性動向を確認するため2010～2011年度臨床分離株についても評価し、以前のデータと変化がないか確認した。

菌株情報としては、ディスク法またはMP法により、耐性獲得状況、Penner 血清型などを明らかにした。生産現場からの分離株 39 株の 9 薬剤の耐性獲得状況を明らかにした。大阪府に於いて食中毒事例から分離されたヒト臨床分離株 50 株の 6 薬剤の耐性獲得状況を明らかにした。東京都に於いて食中毒事例から分離されたヒト臨床分離株 50 株の血清型別情報を明らかにした。菌株情報等はそれぞれの年度の報告書に示した。

一方、これまでの検討により、パルスフィールドゲル電気泳動法（PFGE;制限酵素は KpnI を使用）により、市販鶏肉由来株、牛肝臓由来株はそれぞれに由来動物ごとのクラスターを形成している(図 2)ことが判明しており、同様な解析方法により、生産現場分離株、ヒト臨床分離株につき系統樹

を作成した。系統樹は平成 23 年度の報告書に示した。

牛舎周辺由来株の一部は、遺伝子型は鶏型と思われヒト臨床由来株と同一のクラスターを形成していた。牛舎由来株の半数は、遺伝子型は牛型と思われ、ヒト臨床分離株とは遺伝子型がそれほど近くはなかった。鶏舎周辺由来株（産卵系、ブロイラー共）鶏型と思われる遺伝子型は、ヒト臨床由来株と同一のクラスターに含まれている株が多かった。

またパルスフィールドゲル電気泳動による遺伝子型の比較により、牛舎周辺由来株の一部は鶏から移行したものである可能性が示唆された。以前の鶏肉及び牛レバー分離株の検討結果と同様、カンピロバクターの鶏－牛間の移動により、抗生物質耐性株の伝播・拡散があることが示された。

②ESBL 産生大腸菌の検討

2007 年に全国から収集された患者由来株 743 株中 57 株(7.7%)が ESBL をコードする遺伝子を保有していることが明らかとなった。2008 年および 2009 年に東邦大学医学部 2 年次の学生から分離された大腸菌のうち、10 株(約 5.6%)が ESBL をコードする遺伝子を保有する大腸菌であった。これら ESBL 産生大腸菌を保菌していた学生うちの 8 名は、過去 3 ヶ月以内の抗菌薬投与歴はなかった。

2008 年に購入した国産鶏肉の 48 切中 20 切(約 42%)が ESBL をコードする遺伝子を保有する大腸菌の汚染を受けていた。患者由来および健康人由来大腸菌が保有する主要な ESBL をコードする遺伝子は、blaCTX-M-9 グループが 45 株(68%)、

blaCTX-M-1 グループが 16 株(24%)、blaCTX-M-2 グループが 5 株(8%)、blaCTX-M-8/25 グループが 1 株(1%)の順となった。国産鶏肉由来大腸菌が保有する主要な ESBL をコードする遺伝子は、blaCTX-M-2 グループが 50 %、blaCTX-M-1 グループが 20%、blaCTX-M-9 グループが 20%、blaCTX-M-8/25 グループが 10%を占めていた。

blaCTX-M 型遺伝子で頻度の高いものから順に、ヒト由来大腸菌では blaCTX-M-27 が 35%、blaCTX-M-14 が 23%、blaCTX-M-15 が 14%であり、国産鶏肉由来大腸菌では blaCTX-M-2 が 44%、blaCTX-M-14 が 22%、blaCTX-M-25 と blaCTX-M-28 がそれぞれ 11%であった。

MLST による解析の結果、ヒト由来大腸菌は 61%が CC131、次いで CC38 が 9%の順となり、CC131 以外の CC に集積性は認めなかった。鶏肉由来大腸菌は、CC58 が 20%、CC10 が 20%、CC17 が 10%であったが、特定の CC に集積性は認めなかった。

D. 考察

①カンピロバクターの検討

カンピロバクター食中毒の直接の原因となる危険性が高いのは、鮮度が高い状態で供給される食用肉や内臓肉であり、生焼けの鶏肉も含まれる。特に、生の喫食を前提としている食肉の場合は、カンピロバクター食中毒の危険性が増大する。わが国において、これらの条件に該当し、既にカンピロバクターによる汚染・感染事例が確認されている食肉として挙げられるものには鶏肉（鮮度が高い状態で供給される場合が多く、時に生あるいは不完全な加熱調理を行

って喫食される）および「牛のレバ刺し」（生食を前提に鮮度の高い状態で供給されるため）などがある。熟成期間の存在する牛生食肉などは、カンピロバクターは熟成期間中に死滅してしまうため主な伝播経路とは考えられない。

一般的には、鶏肉がヒトの食中毒の主な原因となっていると考えられている。本研究では、これら 2 種の動物由来株とヒト臨床分離株特徴を比較することにより、生産現場から、食肉さらにヒトへの感染を起こしうるカンピロバクターの菌株の流れと、抗生物質耐性獲得の伝播を効率よく把握できるものと判断した。各種抗生物質に対する耐性菌のリスク分析にあたり特に重要となるのは、医療機関における耐性菌の出現およびその影響に関する予測である。各種抗生物質に対する耐性菌のリスク分析にあたり、ヒトに感染を起こすカンピロバクターがどのような由来でどのような経路から感染しているかを明らかにすることは重要である。

一般的に飼育の段階で抗菌物質に暴露される可能性が高い鶏肉に由来するカンピロバクター分離株には、抗生物質耐性菌が高頻度に出現することが調査により示されているが、抗生物質への暴露が鶏ほど多くないと思われる牛においては抗生物質耐性株の出現頻度は鶏肉由来に比べ低い(図 3)。牛舎周辺由来株と鶏舎周辺由来株がヒト臨床株の遺伝子型との相関により、カンピロバクターがどのルートで感染しているかを推定可能と思われ、収集した生産現場分離株、ヒト臨床分離株の遺伝子型の特徴の比較を試みた。

市販鶏肉由来株は牛肝臓由来株に比べて

高頻度に耐性を獲得していることを示したが、ヒト臨床分離株の耐性株の割合は鶏分離株の耐性割合より低い傾向がある。これまでの検討から、市販鶏肉由来株の耐性獲得が高く、牛肝臓由来株の耐性獲得が低値であることも示されており、ヒト臨床分離株が、鶏型と牛型の両者の遺伝子型を示すとすると、カンピロバクター食中毒に牛由来株がある程度寄与していることが示される。

東京都と大阪府のヒト臨床由来株のパルスフィールドゲル電気泳動法により遺伝子型分析を試み、遺伝子レベルで由来株の相関を解析した。牛舎周辺由来株は4株分析したが、内1株(18B4)は鶏型と思われ、ヒト臨床株と鑑別できないクラスターを形成した。もう1株(17B8)は、ヒト臨床株とそれほど類似性は高くないが同一の集団に含まれていた。一方、2株は、臨床株との相関性が低く、牛型の遺伝子型と思われる。

一方、4株の鶏舎周辺由来株は、ヒト臨床分離株と同一のクラスターに含まれていた。これらの菌株は鶏型の遺伝子型と思われる。そのほとんどに耐性獲得が見られる。興味深いのはこれらのクラスターに牛舎由来株の1株が認められたことである。

この事実は以前行った鶏肉と牛レバー分離株でも見られた様に、牛と鶏の間である程度の菌株の移行が存在することを示すと思われる。菌株の移行により鶏で耐性を獲得したカンピロバクター菌株が牛へ移行しているものと考えられる。

研究班の研究分担者から、生産現場由来株とヒト臨床分離株の提供を受けた。牛舎周辺由来株4株の内、3株は多剤耐性が認められなかった。抗生物質耐性菌の伝播・

循環経路を推定し、鶏-牛間および家畜(食肉製品)を介したヒトへの健康影響の評価を検討する上で、重要なデータを取得・提供できたものと思われる。

鶏は飼育中に生産性向上のため飼料中に抗菌物質を使用することがあるため、これが鶏由来カンピロバクター分離株に抗生物質耐性菌が高率に出現する一因となりうるという指摘がある。一方、牛については病畜の治療として抗生物質の投与が行われてはいるが、一般的には飼育中に上述のような目的で鶏と同様には抗菌物質を使用しないと思われる。

鶏由来のカンピロバクター分離株と、牛由来のカンピロバクター分離株では、両者から分離される型と鶏型、牛型と区別できる PFGE パターンがある。PFGE パターンによりある程度、その由来動物が推定可能である。

カンピロバクターについては、疫学データと PFGE 型からカンピロバクター食中毒は鶏肉からと牛肝臓の生食からのヒトへの伝播が推定された(図4)。分離株のゲノムレベルでの検討から、牛型と思われる特徴を持った遺伝子型が確認され、フルオロキノロン耐性率の低い牛からヒトへの伝播のルートがヒト臨床でのフルオロキノロン耐性の割合に影響を与えていると思われる(図5)。

②ESBL 産生大腸菌の検討

外来患者から ESBL 産生大腸菌が高率に分離される背景には、健常人の腸管内に ESBL 産生大腸菌の保菌があることが強く示唆された。その理由として、(1) 抗菌薬の投与歴を有さない学生の便から ESBL 産生

大腸菌が検出されたこと、(2) 健常人が保菌する大腸菌の CC 型が類似していたこと、(3) 大腸菌が保有する ESBL をコードする遺伝子が類似していたことが挙げられる。

健常人が ESBL 産生菌を保菌していたことから、食品を介した感染の可能性が考えられた。今回は国産鶏肉を対象に検討を加えた。国産鶏肉は高率に ESBL 産生大腸菌の汚染を受けていたが、大腸菌の CC と blaCTX-M の種類が明らかにヒト由来のものとは異なっていた。すなわち、ヒト由来株で検出頻度が高かった blaCTX-M-27 保有大腸菌や CC131 は、国産鶏肉からは検出されなかった。一部、国産鶏肉由来およびヒト由来大腸菌に共通の CC が認められたが、保有している ESBL をコードする遺伝子型が異なっていた。したがって、国産鶏肉由来大腸菌がヒトが保菌する ESBL 産生大腸菌に直接的に影響を与えているとは考えられなかった。

一方で、学生から blaCTX-M-8 保有大腸菌が分離された。さらに、データは示していないが blaCTX-M-8 保有 *Enterobacter cloacae* も学生から分離されていた。この blaCTX-M-8 陽性菌による感染症はブラジルからのみ報告されている。日本国内で流通する輸入鶏肉の 90%以上がブラジル産が占めることから、ブラジル産鶏肉の与える影響を排除することはできないと考えている。

また、データは示していないが、CC131 に属する大腸菌の 97.5%、ヒト由来の CC131 以外の大腸菌は約 67%、国産鶏肉由来株の約 20%がフルオロキノロン薬に耐性を示していた。やはり、CC131 に属する大腸菌はフルオロキノロン薬に耐性を示すこ

とが確認された。

近年急増している ESBL 大腸菌に関しては、患者および健常人から分離頻度されるオキシミノセファロスポリン薬耐性大腸菌急増の理由と、それに影響を与えると思われる国産鶏肉から分離される耐性菌の関連性を検討することを目的として研究を行った。オキシミノセファロスポリン耐性因子として、基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ(Extended-spectrum beta-lactamase: ESBL)を対象とし、大腸菌の関連性の検討には Multilocus sequence typing を実施した。2007 年に全国 72 施設から収集された患者由来大腸菌および健常人由来大腸菌の主要 ESBL は、(1) 67%が blaCTX-M-9 グループであり、特に blaCTX-M-27 の占める頻度が高いこと、(2) 大腸菌は Clonal complex (CC)131 が 61%を占めることが明らかとなった。世界的に注目されている、blaCTX-M-15 保有株も 14%を占めることが明らかとなった。

一方、国産鶏肉由来大腸菌は、(1) ESBL をコードする遺伝子は blaCTX-M-2 の検出頻度が高く全体の 44%を占め、(2) 大腸菌の CC 型に集積性は認められなかった。国産鶏肉から分離された大腸菌に、ヒト由来株で頻度の高かった ESBL をコードする遺伝子の blaCTX-M-27 や、ST131 に属する大腸菌は認められなかった(表 1)。今回の研究からヒト由来株と国産鶏肉由来株の間に関連性がほとんどないことが示された。

E. 結論

カンピロバクター・ジェジュニについては、カンピロバクターの鶏-牛間の移動により、抗生物質耐性株の伝播・拡散がある

ことが示された。また、疫学データと PFGE 型からカンピロバクター食中毒は鶏肉からと牛肝臓の生食からのヒトへの伝播が推定された。分離株のゲノムレベルでの検討から、牛型と思われる特徴を持った遺伝子型が確認され、フルオロキノロン耐性率の低い牛からヒトへの伝播のルートがヒト臨床でのフルオロキノロン耐性の割合に影響を与えていると推定された(図5)。

患者由来大腸菌および健康人由来大腸菌の主要な ESBL は、(1) 67%が blaCTX-M-9 グループであり、特に blaCTX-M-27 の占める頻度が高いこと、(2) 大腸菌は Clonal complex (CC)131 が 61%を占めることが明らかとなった。一方、国産鶏肉由来大腸菌は、(1) ESBL をコードする遺伝子は blaCTX-M-2 の検出頻度が高く全体の 44%を占め、(2) 大腸菌の CC 型に集積性は認められなかった(図6)。以上から ESBL 産生大腸菌では、ヒト由来株と国産鶏肉由来株の間に関連性がほとんどないことが示された。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

口頭・ポスター発表

1. Okada, Y., Okutani A, Suzuki, H., Asakura, H., and Igimi, S.: Antimicrobial susceptibilities of *Listeria monocytogenes* isolated in Japan. FEMS2009. (2009.6)
2. Igimi, S., Ishiwa, A., Yamasaki, M., Okada, Y., Monden, S., Asakura, H., Yamamoto, S. Antimicrobial resistance and genotyping of the pulsed-field gel electrophoresis of *Campylobacter jejuni* isolated from bovine and poultry. 15th International Workshop on *Campylobacter*, *Helicobacter* and related Organisms (2009.9) (Niigata)
3. 五十君静信。カンピロバクターによる食中毒について。食品の安全・安心に関するリスクコミュニケーション。(2010.1.21)千葉市
4. Monden Shuko, Okutani Akiko, Suzuki Hodaka, Asakura Hiroshi, Nakama Akiko, Igimi Shizunobu and Okada Yumiko. Antimicrobial susceptibilities of *Listeria monocytogenes* isolated in Japan. ISOPOL2010. 2010.5
5. Ishii Y, Eto M, Esaki H, Saga T, Harada S, Yoshizumi A, Tateda K, Kuroda M, Igimi S, Rambach A, Yamaguchi K. Characterisation of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* from clinical patients, chicken meat and domestic animals. 21st European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID) & 27th International Congress of Chemotherapy (ICC). Milan, Italy, 2011.5
6. Ishii Y, Yoshizumi A, Saga T, Harada S, Kuroda M, Igimi S, Yamaguchi K, Tateda K. Characterization of ESBL producing *Escherichia coli* from patients,

healthy students, raw chicken meat and healthy chicken stools. 51st Interscience Conference on Antimicrobial Agents & Chemotherapy (ICAAC). Chicago, USA, 2011.9

論文発表

1. Pinto AF, Todorovic S, Hildebrandt P, Yamazaki M, Amano F, Igimi S, Romão CV, Teixeira M. (2011)

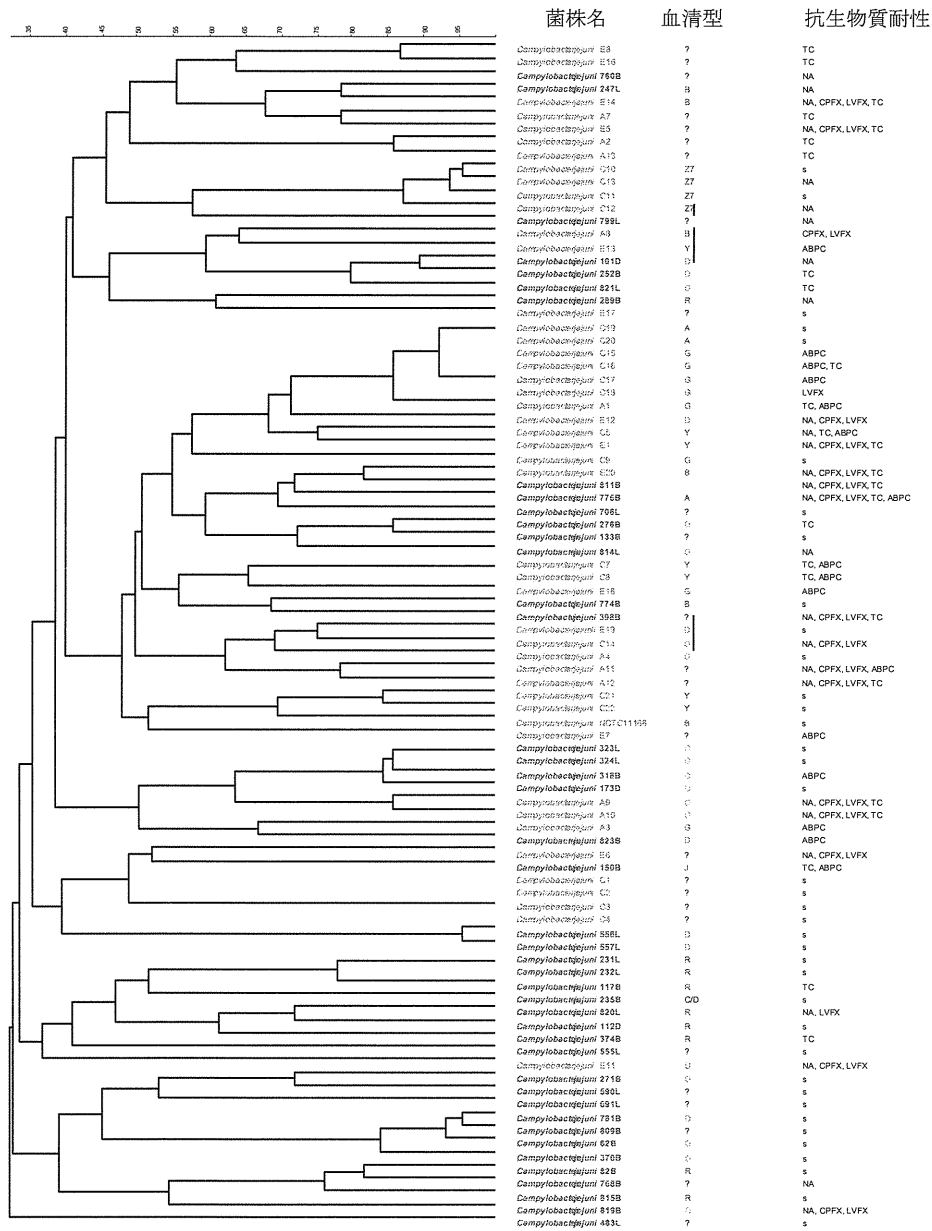
Desulforubrythrin from *Campylobacter jejuni*, a novel multidomain protein. J. Biol. Inorg. Chem. 16(3):501-510.

2. Okada Y, Okutani A, Suzuki H, Asakura H, Monden S, Nakama A, Maruyama T, Igimi S. (2011) Antimicrobial susceptibilities of *Listeria monocytogenes* isolated in Japan. J Vet Med Sci. 73(12):1681-1684.



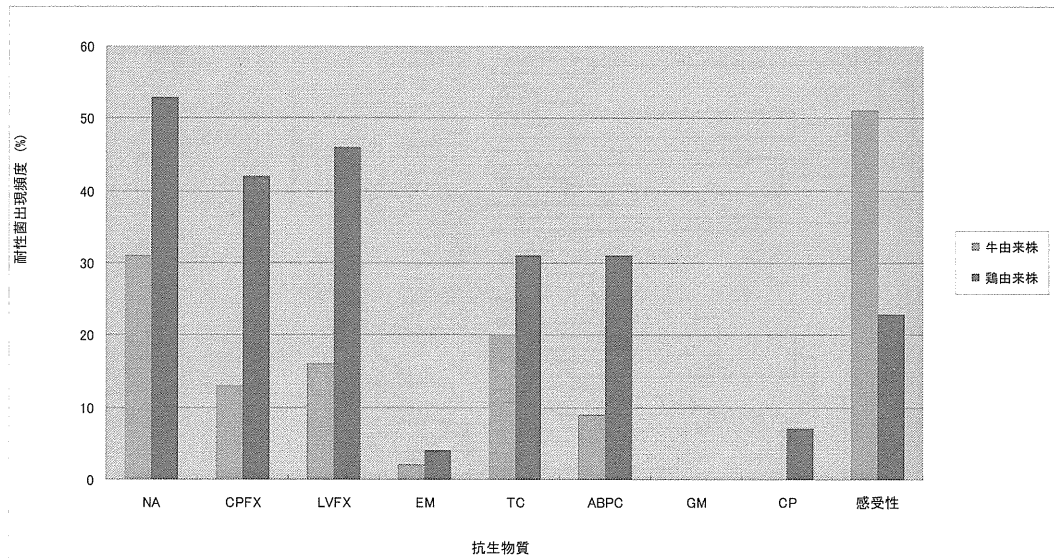
図1. 市販鶏肉または牛由来カンピロバクター
分離株採集地

上記9都府県において市販鶏肉または牛由来検体の収集、
カンピロバクターの分離および薬剤耐性獲得状況について
調査を行った



緑: 鶏由来株 青: 牛由来株

図2. パルスフィールドゲル電気泳動パターンによる牛・鶏由来 *Campylobacter jejuni* 分離株の系統樹解析および各菌株の性状比較



MP法によるカンピロバクターの抗生物質耐性獲得情況の比較 (2005年度分離株による)

抗生物質	分離株総数	市販鶏肉由来株 (%)		牛肉由来株 (%)	
		Count	%	Count	%
NA耐性	72	14	(31)	14	(31)
CPFX耐性	57	6	(13)	6	(13)
LVFX耐性	63	7	(16)	7	(16)
TC耐性	43	9	(20)	9	(20)
EM耐性	6	1	(2)	1	(2)
ABPC耐性	43	4	(9)	4	(9)
GM耐性	0	0	(0)	0	(0)
CP耐性	10	0	(0)	0	(0)
8薬剤感受性株	32	23	(51)	23	(51)

図3. 各種抗生物質耐性株出現頻度の比較(鶏と牛由来株)表はデータを示す

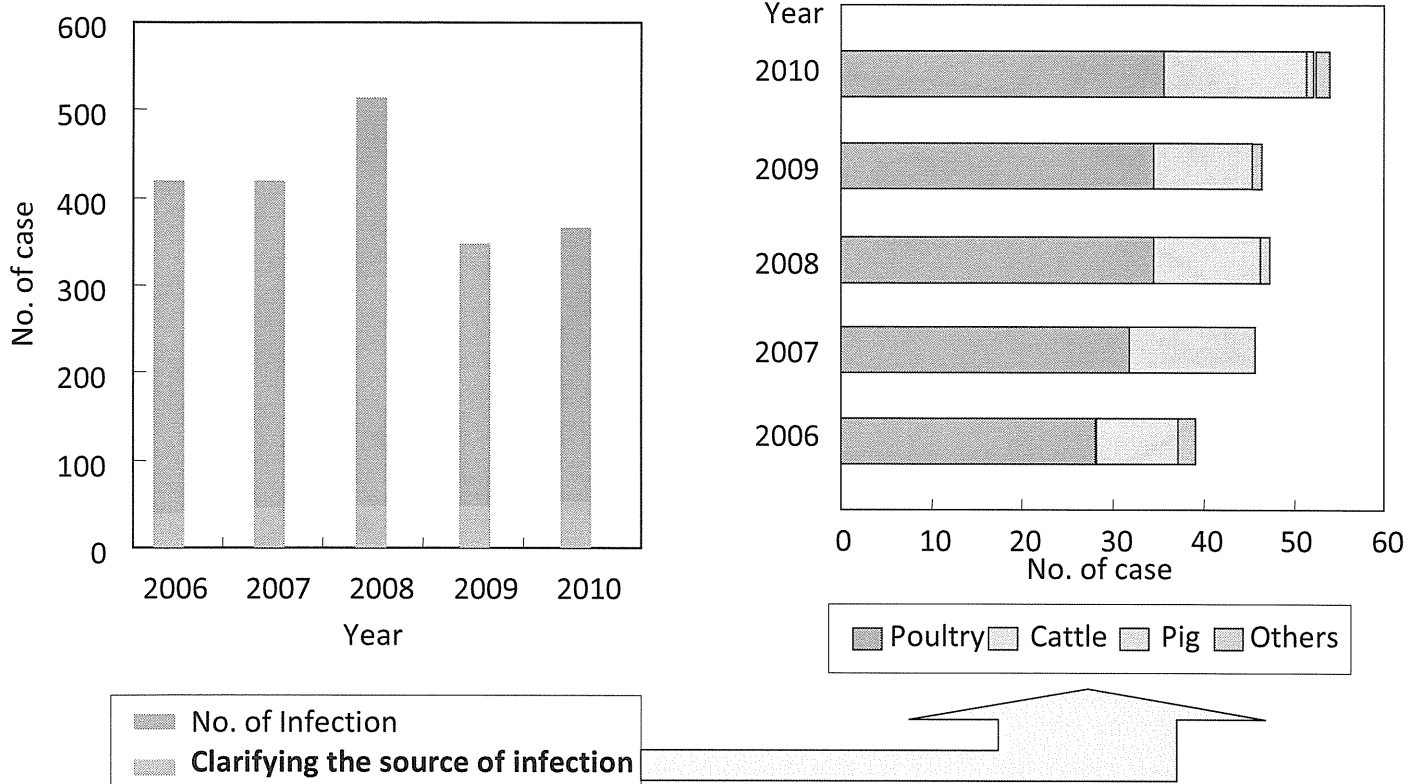
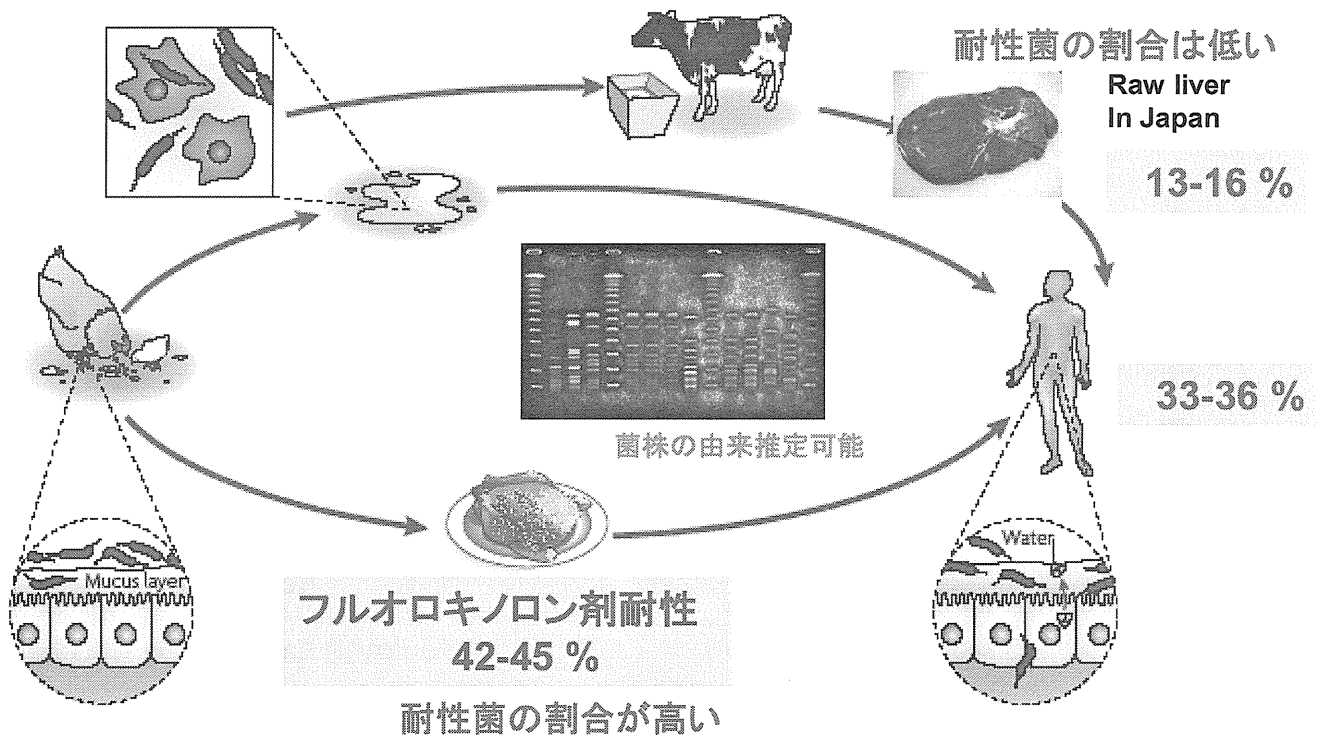


図4. 国内のカンピロバクター食中毒の原因となった食品の由来動物(食中毒統計より)



原図Nat Rev Microbiol. (2007) を基にデータの結果から改変

図5. *Campylobacter jejuni* の伝播とフルオロキノロン剤耐性株の割合に関する考察