

- resistance genomic island. *Antimicrob. Agents Chemother.* 55: 4114-4121, 2011.
3. M. Sugawara, F. Shahada, H. Izumiya, H. Watanabe, I. Uchida, Y. Tamamura, M. Kusumoto, T. Iwata, M. Akiba: Change in antimicrobial resistance pattern in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolates detected in a beef cattle farm. *J. Vet. Med. Sci.* 74: 93-97, 2012.
- (口頭発表)
1. F. Shahada, T. Sekizuka, M. Kuroda, M. Kusumoto, D. Ohishi, A. Matsumoto, H. Okazaki, K. Tanaka, I. Uchida, H. Izumiya, H. Watanabe, Y. Tamamura, T. Iwata, M. Akiba: Characterization of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolates harboring a chromosomally encoded CMY-2 β -lactamase gene located on a genomic island involved in multidrug resistance. International Union of Microbiological Societies 2011 Congress, 2011年9月9日, 札幌

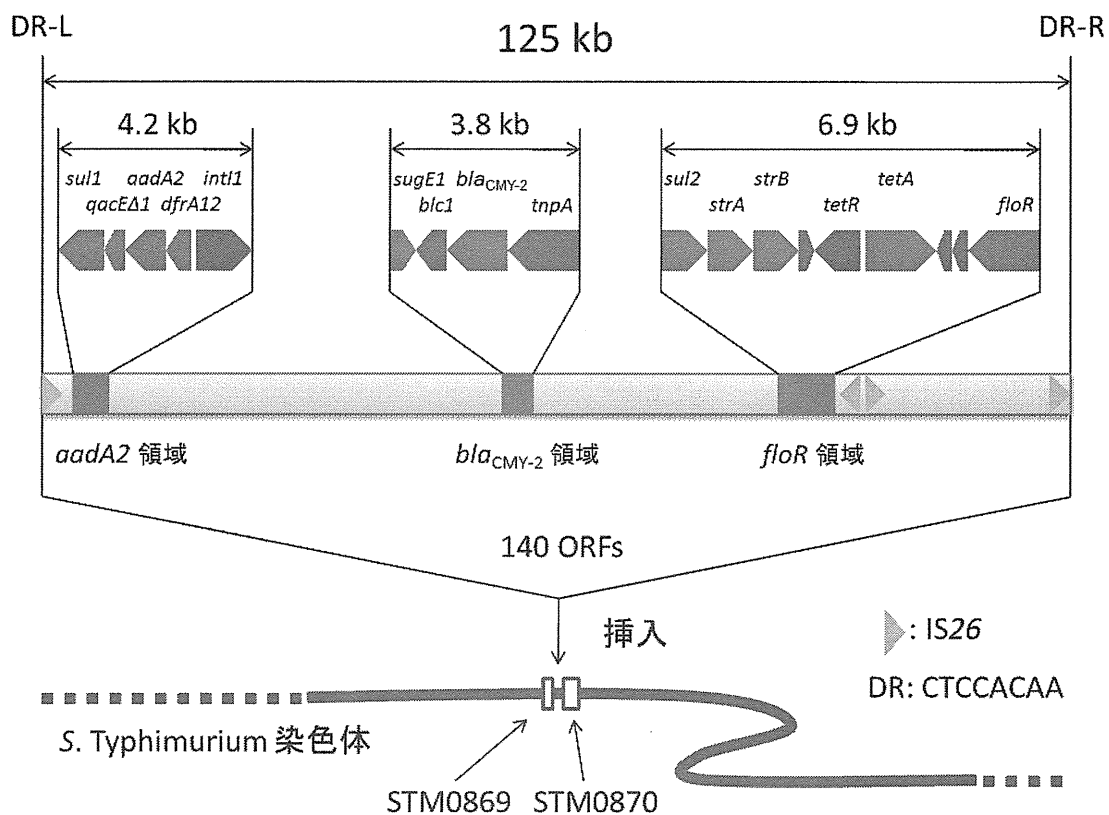


図 1. GI-VII-6 の構造と挿入部位

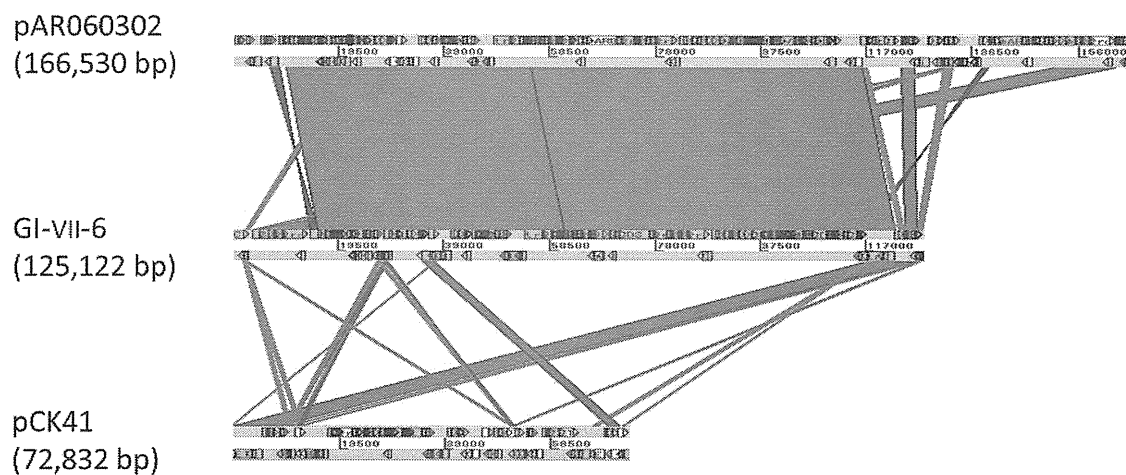


図 2. GI-VII-6 とプラスミドの塩基配列比較結果

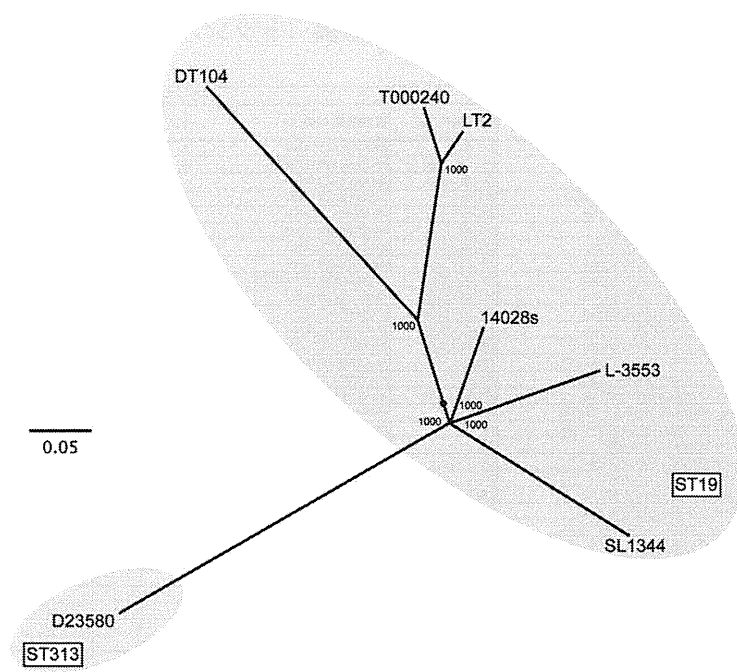


図 3. L-3553 株の系統解析結果

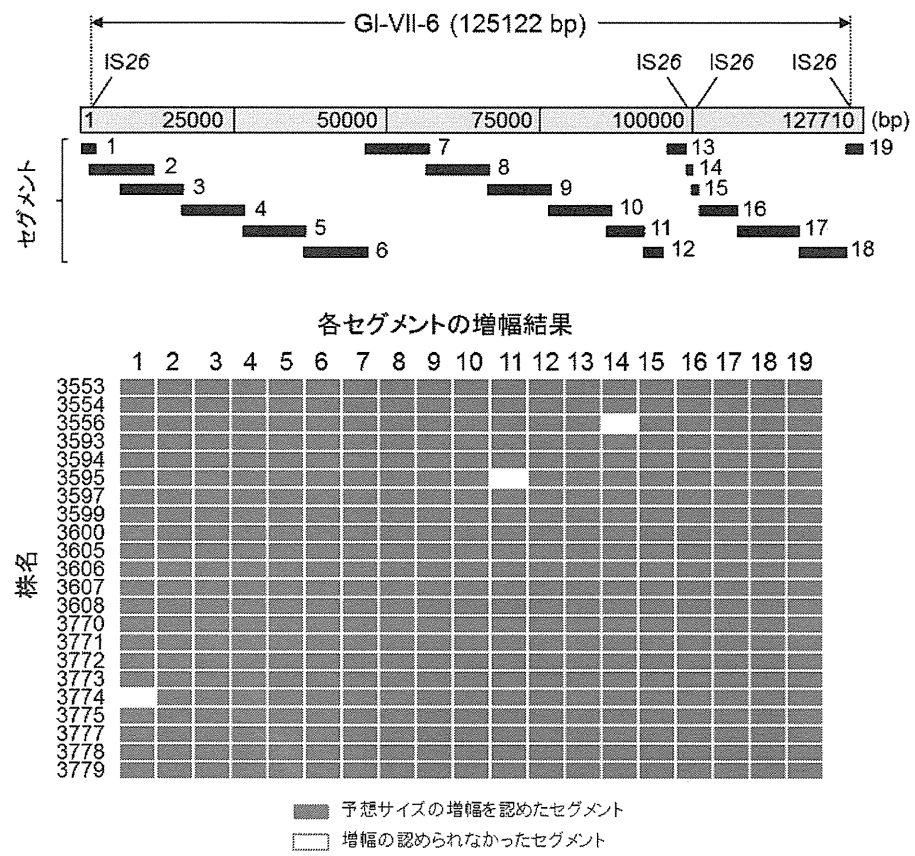


図 4. PCR スキャンニングの概略と野外分離株解析結果

表 1. ESC 耐性サルモネラとプラスミド受容菌（トランスコンジュガント）の性状

番号	血清型	採材日	農場	ESC耐性サルモネラ性状		トランスコンジュガント性状				βラクタマーゼ	
				薬剤耐性パターン	プラスミド(kb)	薬剤耐性パターン	プラスミド(kb)	レプリコン型	RFLP		
									SpeI		EcoRV
1	Infantis	100525	A	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
2	Infantis	100608	B	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10 (3)	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
3	Infantis	100608	B	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10 (3)	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
4	Infantis	100608	B	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/KM/TET/SUL	275, 40	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
5	Infantis	100608	C	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
6	Infantis	100608	C	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
7	Manhattan	100615	D	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10 (2)	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
8	Manhattan	100615	D	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10 (2)	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
9	Manhattan	100615	D	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10 (2)	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM/TC/TH	40, <10	UT	I, II	III	TEM-52
10	Manhattan	100629	E	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10 (3)	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
11	Manhattan	100629	E	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10 (3)	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
12	Manhattan	100629	E	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10 (3)	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40, <10 (2)	UT	I, II	II	TEM-52
13	Manhattan	100629	E	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10 (3)	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40, <10 (2)	UT	I, II	I	TEM-52
14	Infantis	100525	A	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL/SXT	275, 40	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
15	Infantis	100525	A	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL/SXT	275, 40	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
16	Manhattan	100713	F	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10 (3)	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
17	Infantis	100713	G	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/STR/TET/SUL	275	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX/TC/TH	275	IncP	IV	IV	CMY-2
18	Infantis	100713	G	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/STR/TET/SUL	275	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX/TC/TH	275	IncP	IV	IV	CMY-2
19	Infantis	100803	C	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/SUL	275	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX	275	IncP	IV	IV	CMY-2
20	Infantis	100803	C	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/STR/SUL	275	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX	275	IncP	IV	IV	CMY-2
21	Infantis	100803	C	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/SUL	275	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX	275	IncP	IV	IV	CMY-2
22	Infantis	100817	H	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10 (3)	AM/CFZ/CAZ/CTX/TC/TH	40	UT	J	J	TEM-52
23	Infantis	100817	H	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10 (3)	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	J	J	TEM-52
24	Infantis	100914	I	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/STR/TET/SUL	275	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX/TC/TH	275	IncP	IV	IV	CMY-2
25	Manhattan	110118	J	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
26	Manhattan	110118	J	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
27	Manhattan	110118	J	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
28	Manhattan	110118	J	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
29	Manhattan	110118	K	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
30	Manhattan	110118	K	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
31	Manhattan	110208	L	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10 (2)	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
32	Manhattan	110208	L	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10 (2)	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40, <10	UT	I, II	I	TEM-52
33	Manhattan	110208	L	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10 (2)	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
34	Manhattan	110208	L	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10 (2)	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
35	Manhattan	110208	L	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10 (2)	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40, <10	UT	I, II	I	TEM-52
36	Manhattan	110208	L	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10 (2)	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40, <10	UT	I, II	I	TEM-52
37	Manhattan	110208	L	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10 (2)	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40, <10	UT	I, II	I	TEM-52
38	Manhattan	110208	L	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10 (2)	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40, <10	UT	I, II	I	TEM-52
39	Manhattan	110208	L	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10 (2)	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40, <10	UT	I, II	I	TEM-52
40	Manhattan	110208	L	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10 (2)	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40, <10	UT	I, II	I	TEM-52
41	Manhattan	110208	L	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10 (2)	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40, <10	UT	I, II	I	TEM-52
42	Infantis	110405	A	AMP/CFZ/CAZ/CTX	275, 40	AM/CFZ/CAZ/CTX	40	UT	I	I	TEM-52
43	Manhattan	110510	M	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
44	Manhattan	110510	M	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 40, <10	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	40	UT	I	I	TEM-52
45	Infantis	110510	N	AMP/CFZ/CAZ/CTX/STR/TET/SUL	275, 50	AM/CFZ/CAZ/CTX/SM	50	UT	V	V	CTX-M-14

AMP, アンピシリン; CFZ, セファゾリン; CAZ, セフトアジム; CTX, セフォタキシム; FOX, セフォキシチン; STR, ストレプトマイシン; TET, テトラサイクリン; SUL, スルファメチゾール; SXT, ST合剤
I), プラスミドの数; UT, 型別不能

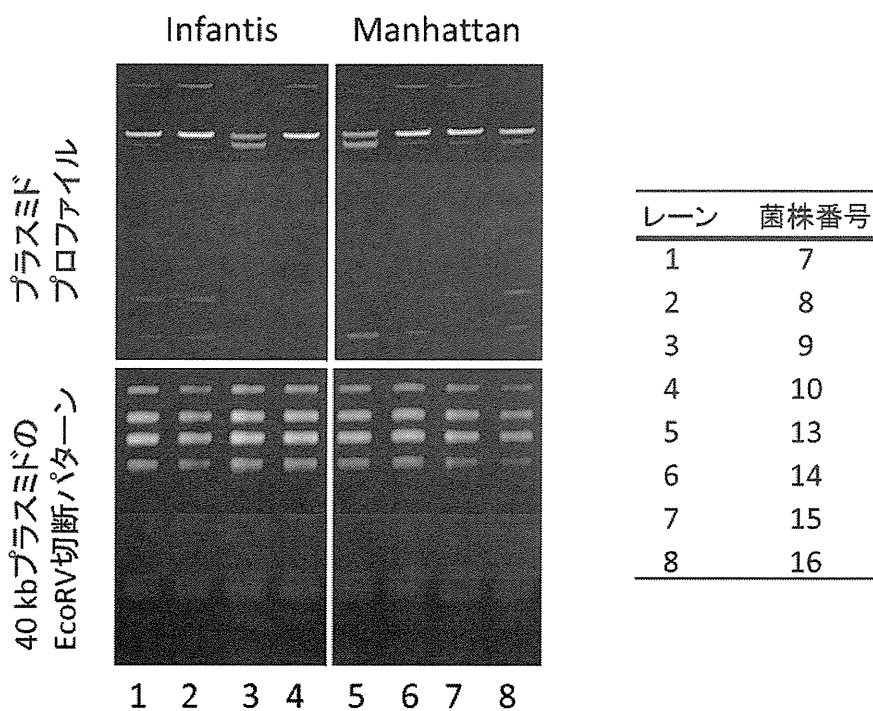


図 5. サルモネラのプラスミドプロファイル（上段）と 40 kb プラスミドの EcoRV 切断パターン（下段）

表 2. ESC 耐性大腸菌とプラスミド受容菌の性状

番号	採材日	農場	ESC耐性大腸菌性状		プラスミド受容菌性状				
			薬剤耐性パターン	プラスミド数	薬剤耐性パターン		レプリコン型	βラクタマーゼ	
					TRC	TRF			
1	100525	A	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/STR/TET/NAL/OFL/NOR	5	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX/SM	1	ND	11-iy	TEM-1, CMY-2
2	100608	B	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/STR/TET/SUL/SXT	4	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX/SM	1	ND	11-iy	TEM-1, CMY-2
3	100608	B	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/TET/NAL	6	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX/SM	5	3	11-iy	TEM-1, CMY-2
4	100608	B	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/TET/NAL	3	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX/SM	2	1	11-iy	SHV-2, CMY-2
5	100608	C	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/TET/SUL/SXT/NAL/OFL/NOR	3	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX/SM	1	ND	11-iy	TEM-1, CMY-2
6	100608	C	AMP/CFZ/STR/SUL/NAL	3	-	-	-	FIB*	TEM-1, CMY-2
7	100615	D	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX	6	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX/SM	1	ND	11-iy	CMY-2
8	100615	D	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX	3	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX/SM	1	ND	11-iy	CTX-M-15, CMY-2
9	100615	D	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/STR/TET/NAL	2	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX/SM	1	ND	11-iy	CMY-2
10	100629	E	AMP/CFZ/CAZ/CTX/TET/NAL	4	-	-	-	FIB*	CTX-M-15, CMY-2
11	100629	E	AMP/CFZ/CTX/TET/NAL	3	-	-	-	FIB*	CTX-M-15
12	100629	E	AMP/CFZ/CTX/FOX/SUL/SXT/NAL	9	AM/CFZ/CTX/FOX	1	ND	11-iy	CMY-2
13	100629	E	AMP/CFZ/CTX/FOX/SUL/SXT/NAL	9	AM/CFZ/CTX/FOX	1	ND	K, B/O	TEM-1, CMY-2
14	100525	A	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/STR/CHL/SUL/NAL	2	ND	-	3	FIB	TEM-1, CMY-2
15	100525	A	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/STR/CHL/SUL/NAL	3	ND	-	1	11-iy	TEM-1, CMY-2
16	100713	F	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/STR/TET/CHL/SUL/NAL	7	ND	-	1	11-iy	TEM-1, CMY-2
17	100713	G	AMP/CFZ/CTX/NAL	7	AM/CFZ/CTX/SM	8	ND	11-iy	CTX-M-14
18	100713	G	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/TET/SUL/SXT/NAL	4	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX/SM	1	ND	11-iy	CMY-2
19	100803	C	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/TET/SUL/SXT/NAL	4	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX/SM	1	ND	FIG, K, B/O	TEM-1, CMY-2
20	100803	C	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/STR/NAL	8	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX/SM	1	ND	11-iy	TEM-1, CMY-2
21	100803	C	AMP/CFZ/CTX/NAL	3	ND	-	2	Y	SHV-12
22	100817	H	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/STR	4	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX/SM	1	ND	11-iy	CMY-2
23	100817	H	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/NAL/OFL/NOR	11	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX/SM	2	ND	K, B/O	CMY-2
24	100914	I	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/TET/NAL/OFL/NOR	3	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX/SM	1	ND	K, B/O	CMY-2
25	110118	J	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/NAL	3	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX	1	2	11-iy	CMY-2
26	110118	J	AMP/CFZ/CAZ/CTX/SUL	3	AM/CFZ/	-	1	K, B/O	CMY-2
27	110118	J	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/TET	3	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX	-	1	11-iy	CMY-2
28	110118	J	AMP/CFZ/CAZ/CTX	5	AM/CFZ/CAZ/CTX	4	1	FIB	CTX-M-15
29	110118	K	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX	2	AM/CFZ	1	1	11-iy	CMY-2
30	110118	K	AMP/CFZ/CTX	0	-	-	-	FIB*	CTX-M-2**
31	110208	L	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/TET/SUL/NAL	6	-	-	-	FIB*	CMY-2
32	110208	L	AMP/CFZ/CTX/NAL	2	AM/CFZ/CTX	1	ND	11-iy	CTX-M-14
33	110208	L	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX	4	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX	4	2	11-iy	CMY-2
34	110208	L	AMP/CFZ/CAZ/CTX/TET	10	ND	-	1	11-iy	SHV-12
35	110208	L	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/SUL	5	ND	-	1	K, B/O	CMY-2
36	110208	L	AMP/CFZ/CTX/NAL	6	AM/CFZ/CTX	-	2	FIB	CTX-M-14
37	110208	L	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/NAL	3	AM/CFZ/CAZ/CTX/FOX	-	1	11-iy	CMY-2
38	110208	L	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/SUL	4	ND	-	1	11-iy	CMY-2
39	110208	L	AMP/CFZ/CTX/STR/TET/SUL/NAL	4	ND	4	ND	FIB	CTX-M-2
40	110208	L	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/SUL	6	ND	-	4	11-iy	CMY-2
41	110208	L	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/SUL	4	ND	-	1	K, B/O	CMY-2
42	110405	A	AMP/CFZ/CAZ/CTX	4	AM/CFZ/CAZ/CTX	3	1	FIB	CTX-M-15
43	110510	M	AMP/CFZ/CAZ/CTX/TET/NAL/OFL/NOR	3	AM/CFZ/CAZ	-	1	11-iy	CMY-2
44	110510	M	AMP/CFZ/CAZ/CTX/FOX/SUL	4	AM/CFZ/FOX	-	1	K, B/O	CMY-2
45	110510	N	AMP/CFZ/CAZ/CTX/NAL	6	AM/CFZ	-	1	11-iy	CMY-2
46	110510	N	AMP/CFZ/CTX	0	-	-	-	FIB*	CTX-M-2**

AMP, アンピシリン; CFZ, セファゾリン; CAZ, セフトアジジム; CTX, セフトキシム; FOX, セフォキシチン; STR, ストレプトマイシン; KAN, カナマイシン; TET, テトラサイクリン; CHL, クロラムフェニコール; SUL, スルファメゾール; SXT, ST合剤; NA, ナリジク酸; OFL, オフロキサシン; NOR, ノルフロキサシン; TRC, トランスコンジュガント; TRF, トランスフォーマント; -, 取得できず; ND, 未実施; *, ドナーを用いて型別実施; **, 染色体上に存在

菌株番号

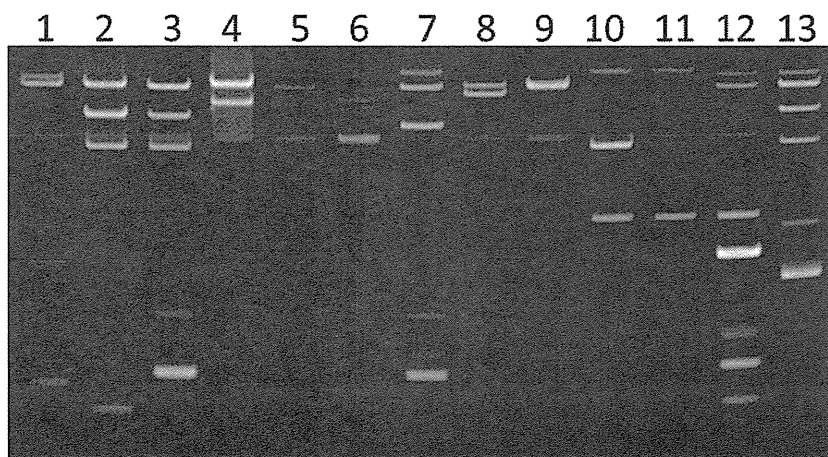


図 6. 大腸菌のプラスミドプロファイル

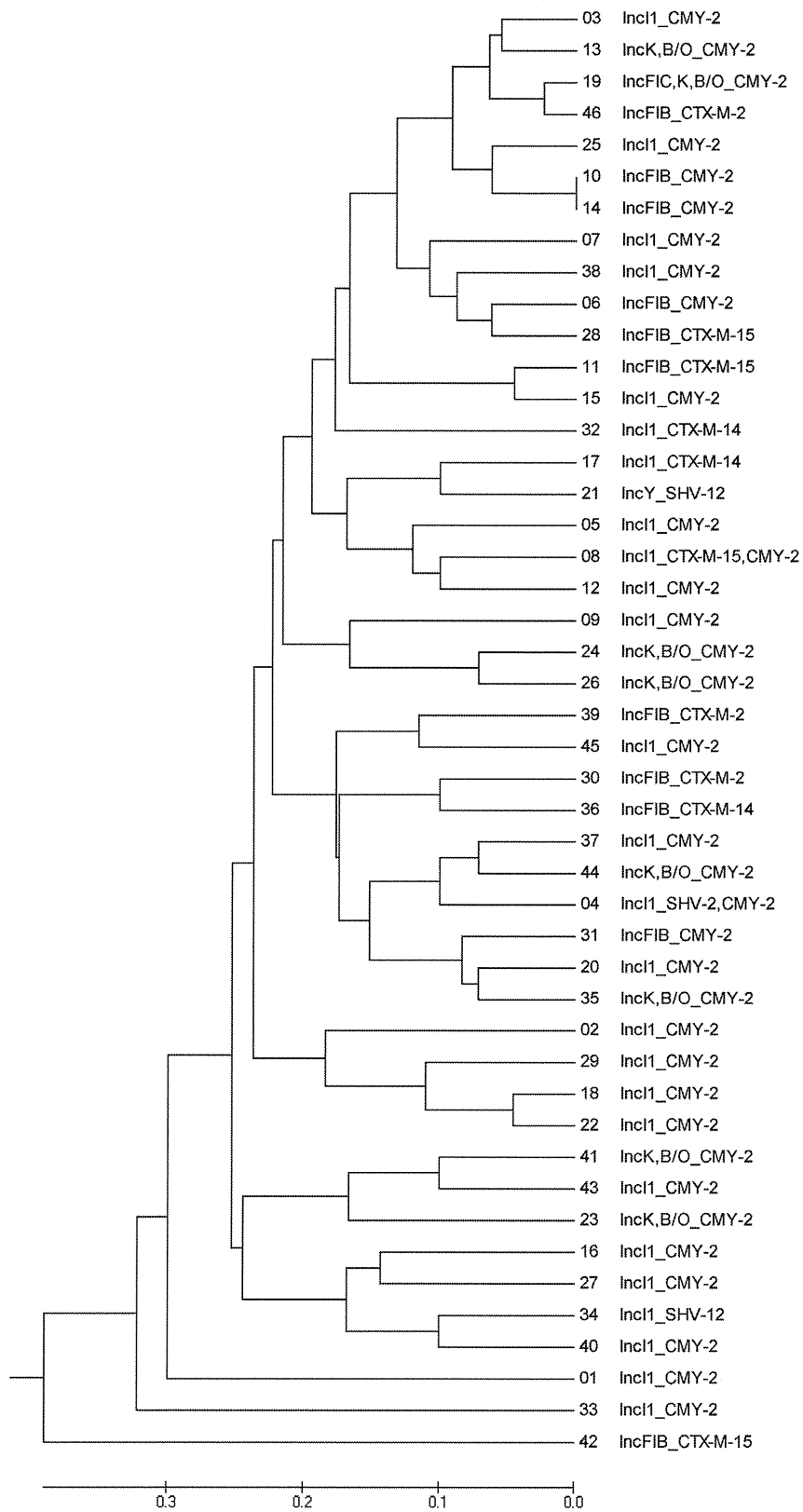


図 7. 大腸菌の PFGE 像を用いたクラスター解析結果と R プラスミドの分布

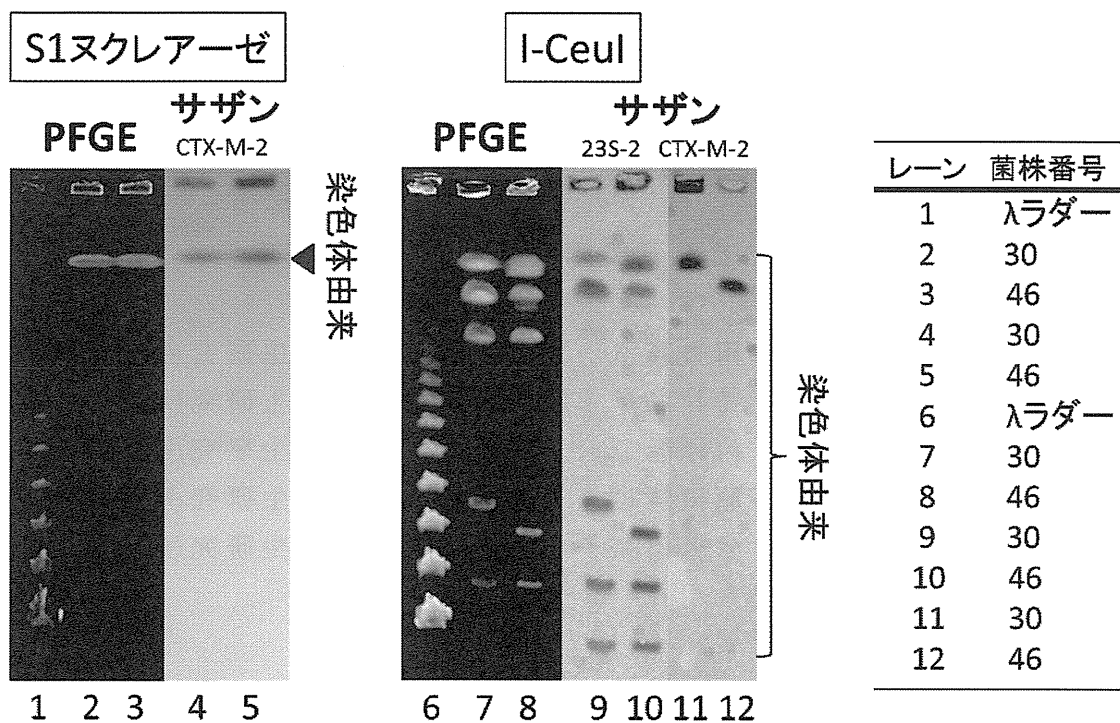


図8. 大腸菌の染色体上に存在する *bla*_{CTX-M-2} 遺伝子の検出

平成 21-23 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：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	勢戸和子	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	原田哲也	大阪府立公衆衛生研究所
研究協力者	久米田裕子	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。そして腸管出血性大腸菌 O157 の薬剤耐性、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。2006 年～2011 年の食肉検査の結果、鶏肉に多種類の遺伝子型の β -ラクタマーゼ産生サルモネラの存在が認められた。最も多く検出されている血清型の *Salmonella enterica* serovar *Infantis* で年次変化をみると、プラスミド性 AmpC 型 β -ラクタマーゼ産生菌の増加が認められた。そしてヒト由来株においても、サルモネラおよび腸管出血性大腸菌 O157 で β -ラクタマーゼ産生株が検出され、腸管系病原菌が耐性を獲得している現状が明らかになった。*Campylobacter jejuni* のフルオロキノロン耐性は 20%～40%台であり、鶏肉由来株とヒト由来株の差は認められなかった。*C. coli* は *C. jejuni* と比較して菌株数が少なく、年による耐性率の変化が大きかったが、*C. jejuni* よりも高率にニューキノロン耐性であった。

A.研究目的

近年、患者の治療に用いられる薬剤に耐性を示す病原菌の出現が問題となっていることから、ヒト、食品、環境および食用動物由来株の耐性化の動向が重要視されている。本研究では薬剤耐性菌が

食品を介してヒトに健康被害をおよぼす危険性を評価する科学的根拠の提供を目的として、食肉あるいはヒトから分離されたサルモネラ、カンピロバクター、腸管出血性大腸菌 O157 の薬剤感受性を比較し、耐性率の年次変化を調べる。

そして欧米諸国で豚のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)汚染が問題となっていることから、国内の市販食肉からの MRSA 検出状況を調査する。

B. 研究方法

I. 食肉の調査およびヒト由来菌株

1. サルモネラ

(1) 食肉の調査: 2006 年～2008 年は 1185 検体、2009 年～2011 年は 1165 検体を検査した。

(2) ヒト由来菌株 (国内事例): 2006 年～2008 年は食中毒事例(有症苦情を含む 47 事例) 患者由来 229 株、散発下痢症患者由来 8 株、食品従事者など保菌者から分離した 69 株の合計 306 株を供試した。

2009 年～2011 年は食中毒事例(有症苦情を含む 29 事例) 患者由来 126 株、散発下痢症患者由来 25 株、食品従事者など保菌者から分離した 86 株の合計 237 株を供試した。

2. カンピロバクター

(1) 食肉由来菌株: 2009、2010 年に国産鶏肉から分離した 218 株を供試した。

(2) ヒト由来菌株: 2009、2010 年に発生した食中毒事例(有症苦情を含む 41 事例) の患者由来 94 株および散発下痢症患者由来 169 株の合計 263 株を供試した。

3. 腸管出血性大腸菌 O157

2006 年～2011 年に患者および健康者から分離された 412 事例由来 660 株を供試した。

4. MRSA

2009 年は 60 検体、2010 年は 117 検体の国産食肉を検査した。

II. 薬剤感受性試験

1. サルモネラ、腸管出血性大腸菌

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 剤で、サルモネラは 2010 年からは、イミペネム (IPM)、メロペネム (MEM)、アミカシン (AMK)、スルフィソキサゾール (Su) の 4 剤も供試した。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。

2. 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、GM の 8 剤で、セン

シディスクを用いて行った。

3. MRSA

MIC はドライプレートで測定した。

III. 薬剤耐性および病原因子の解析

1. β -ラクタマーゼの解析

CPDX に耐性を示した菌株について、基質拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) および AmpC 型 β -ラクタマーゼの検索を行った。

ESBL 産生は、セフトロキシム、セフトキシム、セフトジジ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、AmpC 型 β -ラクタマーゼ産生はアミノフェニルボロン酸を用いたダブルディスク法で確認した。その後、マルチプレックス PCR で遺伝子型のグループまで確認した。さらに陽性となった遺伝子配列をダイレクトシーケンス法で決定し、BLAST 解析にてその遺伝子型を同定した。

2. キノロン耐性遺伝子の解析

2009 年分離の NA 耐性サルモネラ 32 株についてキノロン耐性遺伝子の解析を行った。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。

3. MRSA

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) 食肉の調査:

2006 年～2008 年は 1185 検体中 274 検体(23.1%)から 338 株、2009 年～2011 年は 1165 検体中 327 検体(28.1%)から 354 株のサルモネラが分離された。国産鶏肉の陽性率が高く、2006 年～2008 年では 40.0%、2009 年～2011 年では 53.8%が陽性であった (表 1)。

2006 年～2011 年に分離された 692 株は *S. Infantis* が最も多く、次いで *S. Schwarzengrund*、*S. Manhattan* が多い血清型であった (表 2)。

供試した 692 株のうち 676 株(97.7%)が 1 剤以上の薬剤に耐性で、そのうち NA 耐性は 118 株 (17.1%)、 β -ラクタマーゼ産生も 118 株 (17.1%) で認められた。

鶏肉由来 *S. Infantis* の NA 耐性と β -ラクタマーゼ産生を 2006 年から 2011 年で比較すると、NA 耐性菌の検出率は 2010 年 25%、2011 年 36%と上昇した。 β -ラクタマーゼ産生菌検出率は 2009 年から 20%台になり、2011 年には 53.3%に上昇し、非産生菌を上回った (図 1)。

鶏肉由来 *S. Infantis* の β -ラクタマーゼ産生株を ESBL 産生とプラスミド性 AmpC 型 β -ラクタマーゼ産生に分けて年次変化をみると、ESBL 産生率の変化が少なかったのに対して AmpC 産生率の増加が認められ、2011 年は 45.3%であった (図 2)。

鶏肉由来サルモネラが産生する β -ラクタマーゼの型は、2009 年の 4 株と 2010、2011 年はグループまでの決定であるが、ESBL では CTX-M 型が多かった (表 3)。

(2) ヒト由来菌株:

2006 年~2008 年の 306 株は 34 の血清型、2009 年~2011 年の 237 株は 32 の血清型に型別され、*S. Enteritidis* が最も多い血清型であった (表 4)。 β -ラクタマーゼ産生が 2008 年に 1 株、2009 年~2011 年では 11 株あり、3 株が ESBL 産生、9 株がプラスミド性 AmpC 型 β -ラクタマーゼ産生株であった (表 5)。

(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。2009 年分離の NA 耐性 32 株について NA および CPF 法の 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 6)。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:

218 株は *C. jejuni* が 205 株、*C. coli* が 13 株であった。*C. jejuni* では 76 株 (37.1%)、*C. coli* では 13 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 では散発下痢症患者で 66 株 (41.0%)、食中毒患者で 48 株 (55.2%) がフルオロキノロン耐性、*C. coli* では散発下痢症患者で 6 株 (75.0%)、食中毒患者で 5 株 (71.4%) がフルオロキノロン

耐性であった（表 7）。

(3) フルオロキノロン耐性率の年次変化：

2006 年～2010 年のフルオロキノロン耐性をみると、*C. jejuni* では散発下痢患者で 40%を超えたのは 2007 年と 2010 年であり、鶏肉由来株では 2007 年が最も高かった。ヒト由来株と鶏肉由来株の差は認められなかった（図 3）。*C. coli* は菌株数が少ないが 60%～88%の耐性率であり、*C. jejuni* よりも高率であった（図 4）。

3. 腸管出血性大腸菌 O157

1 剤以上に耐性を示す株の割合は 2006 年が 12.3%で、その後 20%台になったが増加傾向は認められなかった（図 5）。

薬剤耐性パターンは SM・TC 耐性が 18 事例と最も多く、次に ABPC・SM・TC 耐性が 17 事例、ABPC・SM 耐性が 13 事例であった。NA 耐性は 1 株のみに認められ、CPFX の MIC が 0.25µg/ml のニューキノロン低感受性菌であった。また FOM 耐性は認められなかった（図 6）。

β-ラクタマーゼ産生株は 5 事例で 7 株検出された。2006 年および 2007 年の 6 株は CMY-2 型のプラスミド性 AmpC 型 β-ラクタマーゼ産生株であり、事例 4 の 3 株は TEM-1 型ペニシリナーゼも保有していた。2010 年の 2 株は ESBL 産生菌であった（表 8）。これらの株の検出は、現状では患者の治療に困難を生じないが、耐性を獲得する状況が存在すると考えら

れ、今後の監視が必要である。

4. MRSA

2009 年は国内産豚肉、国内産牛肉それぞれ 1 検体から MRSA を検出し、2010 年は検出されなかった。MRSA 検出検体の購入店舗は同一であった（表 9、10）。2 株のオキサシリンの MIC は 4µg/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 11）。食肉の MRSA 汚染頻度は低かったが、今後も汚染状況の把握およびヒト由来株との比較が必要である。

D. 結論

本研究では鶏肉において多種類の遺伝子型の β-ラクタマーゼ産生サルモネラの存在が認められた。最も多く検出されている血清型の *S. infantis* で年次変化をみると、プラスミド性 AmpC 型 β-ラクタマーゼ産生菌検出率の上昇が認められた。この変化に関しては、各年で検体数の差があり、また検査月の違いもあることから、必ずしも国内産鶏肉全体の耐性菌検出状況を正確に示しているとは言えないが、消費段階で耐性菌との接触頻度が高くなっていることは推察できる。

そしてヒト由来株においても、サルモネラおよび腸管出血性大腸菌 O157 で β-ラクタマーゼ産生株が検出され、腸管系病原菌が耐性を獲得している現状が明ら

かになった。

一方、カンピロバクターはニューキノロン耐性の明らかな上昇傾向は認められず、鶏肉由来株とヒト由来株の差も認められなかった。*C. coli* は *C. jejun* と比較して菌株数が少なく、年による耐性率の変化が大きかったが、*C. jejun* よりも高率にニューキノロン耐性であった。

E. 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

(4) 田口真澄、河原隆二、勢戸和子：海外旅行者下痢症患者から分離したサルモネラのプラスミド性キノロン耐性、第84回日本感染症学会総会、2010年4月、京都

(5) 田口真澄：食肉のカンピロバクター汚染実態とイムクロマト法による検出、第3回日本カンピロバクター研究会、2010年12月、宮崎

(6) 田口真澄、河原隆二、勢戸和子：腸管出血性大腸菌の薬剤耐性動向、第23回日本臨床微生物学会総会、2012年1月、神奈川

(7) 田口真澄、勢戸和子、河原隆二、原田哲也、久米田裕子：2006年から2011年に分離された腸管出血性大腸菌の血清型と薬剤耐性、第51回日感染性腸炎研究会総会、2012年3月、東京

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 食肉のサルモネラ検査数

2006年-2008年合計

	検体名	検体数	陽性検体
国産 1010検体	鶏肉	652	261(40.0%)
	豚肉	174	4
	牛肉	162	1
	その他	22	1
外国 175検体	鶏肉	49	3
	豚肉	58	1
	牛肉	55	
	その他	13	3
合計		1185	274

2009年-2011年 合計

	検体名	検体数	陽性検体
国産 1073検体	鶏肉	600	323(53.8%)
	豚肉	210	2
	牛肉	245	2
	その他	18	
外国産 92検体	鶏肉	32	
	豚肉	30	
	牛肉	28	
	その他	2	
合計		1165	327

表2 国内産食肉由来サルモネラの血清型

食肉	血清型	菌株数						合計
		2006	2007	2008	2009	2010	2011	
鶏肉	S. Infantis	75	80	85	88	64	75	467
	S. Schwarzengrund	10	8	11	28	25	12	94
	S. Manhattan	6	4	8	16	12	6	52
	S. Hadar	2	1	3		1	5	12
	S. Enteritidis		1	11	4	1		17
	S. Typhimurium	1	3	2			3	9
	S. Agona	2		1	1			4
	S. Bareilly				1			1
	S. Blockley				1			1
	S. Havana		1					1
	S. Heidelberg						1	1
	S. Minnesota				1			1
	S. Montevideo	1			1			2
	S. (1) O7;HNM				1			1
	S. (1) OUT;r;1.5	4	9		3			16
S. (1) O4;HNM			1				1	
S. (1) O4;e,h:-			1				1	
S. (1) O35;HNM			1				1	
牛肉	S. Infantis				1			1
	S. Typhimurium				1			1
	S. (1) OUT;r;1.5		1					1
豚肉	S. Derby						1	1
	S. London					1		1
	S. Typhimurium	1						1
	S. Infantis			1				1
	S. Manhattan			1				1
	S. Choleraesuis			1				1
その他	S. Infantis		1					1
合計		102	109	127	147	104	103	692

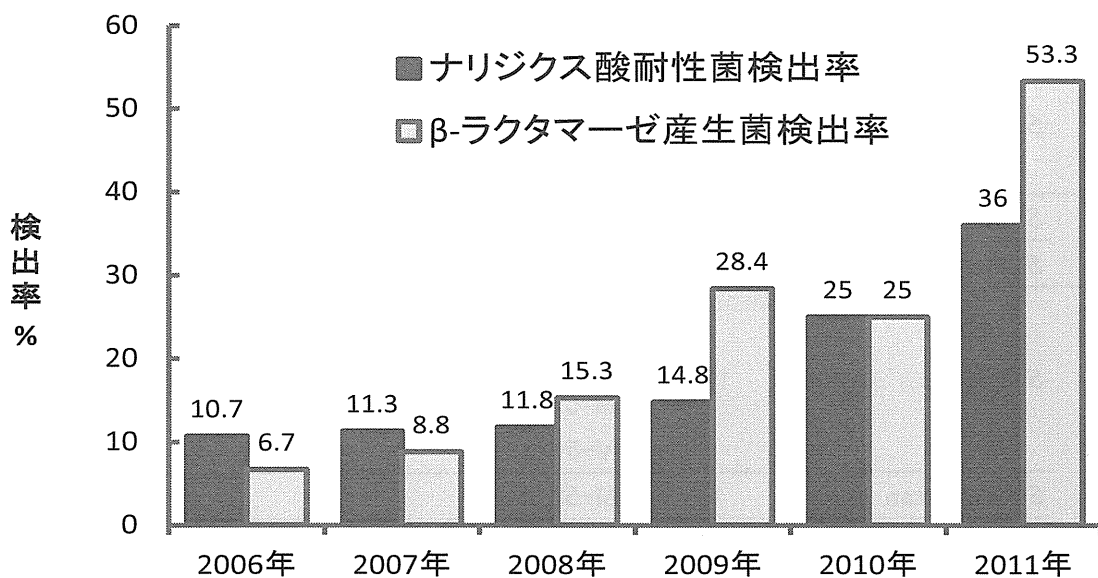


図1 国産鶏肉由来 *S. Infantis* の耐性率の変化

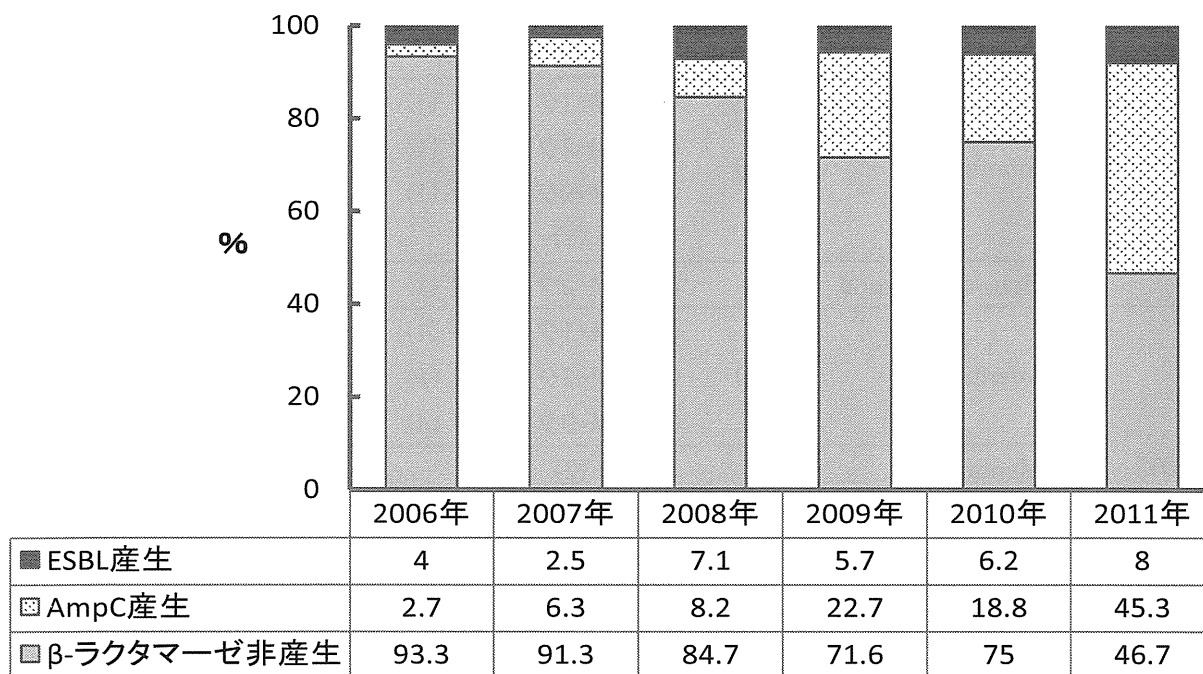


図2 鶏肉由来 *S. Infantis* における β-ラクタマーゼ産生株の割合

表3 鶏肉由来サルモネラが産生するβ-ラクタマーゼ

年	血清型	菌株数	ESBL	AmpC
2006	<i>S. Infantis</i>	5	CTX-M-3 (1)	CMY-2 (2)
			CTX-M-14 (1)	
			TEM-52 (1)	
2007	<i>S. Infantis</i>	7	CTX-M-14 (2)	CMY-2 (5)
	<i>S. Mantattan</i>	1	CTX-M-2 (1)	
2008	<i>S. Infantis</i>	13	CTX-M-2 (2)	CMY-2 (7)
			CTX-M-14 (1)	
			TEM-52 (2)	
	<i>S. Mantattan</i>	1	TEM-52 (1)	
	<i>S. Typhimurium</i>	1	CTX-M-2 (1)	
2009	<i>S. Infantis</i>	25	CTX-M-2 (1)	CMY-2 (17) CITグループ* (3)
			CTX-M-3 (1)	
			CTX-M-2グループ (1)	
			TEM-52 (1)	
		<i>S. Mantattan</i>	2	TEM-52(2)
	<i>S. (1)O7:HNM</i>	1		CMY-2 (1)
2010	<i>S. Infantis</i>	16	CTX-M-1グループ (1)	CITグループ (12)
			CTX-M-2グループ (1)	
			CTX-M-9グループ (1)	
	<i>S. Schwarzengrund</i>	1	TEM型 (1)	
2011	<i>S. Infantis</i>	40	CTX-M-2グループ (1)	CITグループ (34)
			CTX-M-9グループ (4)	
	<i>S. Mantattan</i>	2	CTX-M-1グループ (1)	
	<i>S. Typhimurium</i>	1	TEM型 (2)	
	<i>S. Hadar</i>	1	CTX-M-2グループ (1)	
	<i>S. Heidelberg</i>	1	CTX-M-2グループ (1)	CITグループ (1)

()内は菌株数

* CMY-2を含む

表4 ヒト由来サルモネラの血清型と菌株数(国内事例)

2006年～2008年

2009年～2011年

血清型	食中毒事例	散発事例		菌株数合計	血清型	食中毒事例	散発事例		菌株数合計
		患者	保菌者				患者	保菌者	
S. Enteritidis	136	5	13	154	S. Enteritidis	115	10	8	133
S. Infantis	2		18	20	S. Infantis			31	31
S. Schwarzengrund	4		3	7	S. Schwarzengrund		1	17	18
S. Montevideo	34		4	38	S. Thompson	4	2	2	8
S. Saintpaul	13			13	S. Agona	4		2	6
S. Litchfield	6		2	8	S. Saintpaul	1	3	1	5
S. Hadar	3		4	7	S. Manhattan	1	1	1	3
S. Montevideo	7			7	S. Newport		1	2	3
S. Typhimurium	4	1		5	S. Typhimurium		1	2	3
S. Thompson			4	4	S. Hadar			2	2
S. Weltevreden	3	1		4	S. Litchfield	1		1	2
S. ParatyphiB	3			3	S. Rissen			2	2
S. Agona	2		1	3	S. Berta		1		1
S. Narashino	3			3	S. Corvallis			1	1
S. Manhattan			2	2	S. Braenderup			1	1
S. Virchow			2	2	S. Chingola			1	1
S. Anatum	1		1	2	S. Narashino			1	1
S. Newport	2			2	S. Kottbus			1	1
S. Braenderup			2	2	S. Idikan			1	1
S. Virchow			2	2	S. Kiambu			1	1
S. Panama			1	1	S. Mbandaka		1		1
S. Saintpaul			1	1	S. Montevideo		1		1
S. Javiana			1	1	S. Meleagridis			1	1
S. Rissen			1	1	S. Morotai		1		1
S. Oranienburg	1			1	S. Nagoya		1		1
S. Aberdeen			1	1	S. Oranienburg			1	1
S. Cerro			1	1	S. ParatyphiB			1	1
S. Corvallis			1	1	S. Reading			1	1
S. Hvittingfoss			1	1	S. San Diego		1		1
S. Mbandaka			1	1	S. Senftenberg			1	1
S. Senftenberg			1	1	S. Stanley			1	1
S. (1)O4:b:-		1		1	S. (1)OUT:r:1,5			2	2
S. (1)O4:d:-			1	1	合計	126	25	86	237
S. (1)O4:eh:-	5			5					
合計	229	8	69	306					

表5 ヒト由来サルモネラのβ-ラクタマーゼ

年	血清型	菌株数	ESBL	AmpC
2008	S. Infantis	1		CMY-2(1)
2009	S. Infantis	3	CTX-M-14 (2)	CITグループ* (1)
2010	S. Infantis	4	CTX-M-2グループ (1)	CITグループ (3)
	S. Enteritidis	1		CITグループ (1)
2011	S. Infantis	3		CITグループ (3)

()内は菌株数

* CMY-2を含む

表6 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 (μ g/mL)		<i>gyrA</i>			<i>parC</i>	Plasmid性 キノロン耐性	
			NA	CPFX	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_r1.5</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7 カンピロバクターの薬剤感受性試験成績(2009,2010年)

薬剤耐性パターン	鶏肉由来株	ヒト由来株	
		散発	食中毒(41事例)
<i>C. jejuni</i>			
NFLX,OFLX,CPFX,NA,TC,ABPC	14	6	6
NFLX,OFLX,CPFX,NA,TC	22	25	19
NFLX,OFLX,CPFX,NA,ABPC	6	5	5
NFLX,OFLX,CPFX,NA	33	30	18
NFLX,NA,ABPC	1		0
フルオロキノロン耐性 小計	76(37.1%)	66(41.0%)	48(55.2%)
TC,ABPC	12	7	4
TC	30	18	3
ABPC	25	5	2
感受性	62	65	30
<i>C. jejuni</i> 合計	205(100%)	161(100%)	87(100%)
<i>C. coli</i>			
NFLX,OFLX,CPFX,NA,TC,EM	1		
NFLX,OFLX,CPFX,NA,TC,ABPC		1	
NFLX,OFLX,CPFX,NA,TC	9	2	4
NFLX,OFLX,CPFX,NA,ABPC	1		
NFLX,OFLX,CPFX,NA	2	3	1
フルオロキノロン耐性 小計	13(100%)	6(75.0%)	5(71.4%)
TC,EM		1	1
TC			1
感受性		1	
<i>C. coli</i> 合計	13(100%)	8(100%)	7(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)、ゲンタマイシン(GM)

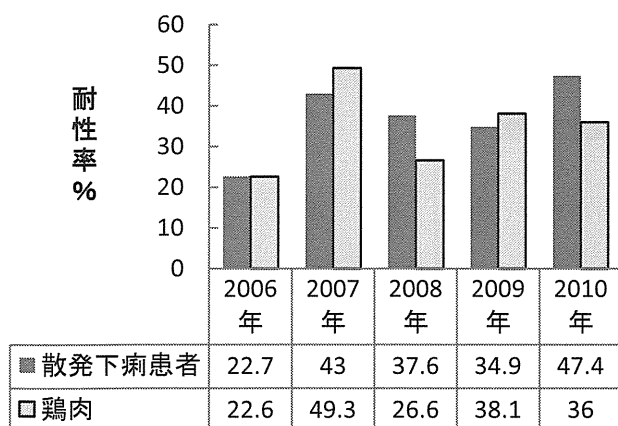


図3 *C. jejuni* のフルオロキノロン耐性率

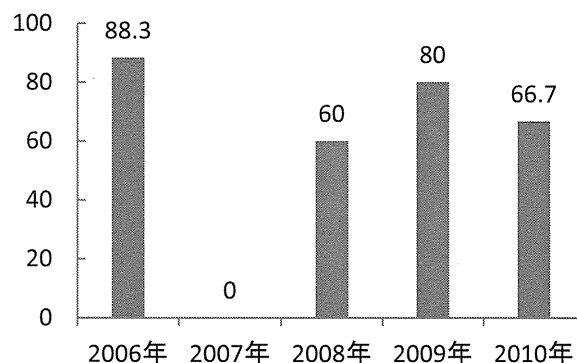


図4 散発下痢症患者由来 *C. coli* のフルオロキノロン耐性率

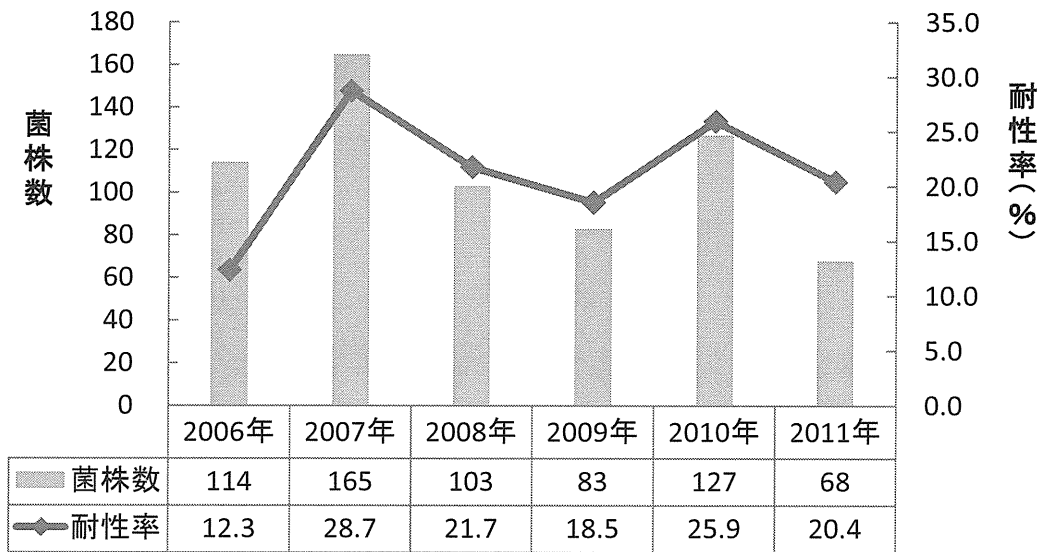


図5 EHEC O157の菌株数と薬剤耐性率

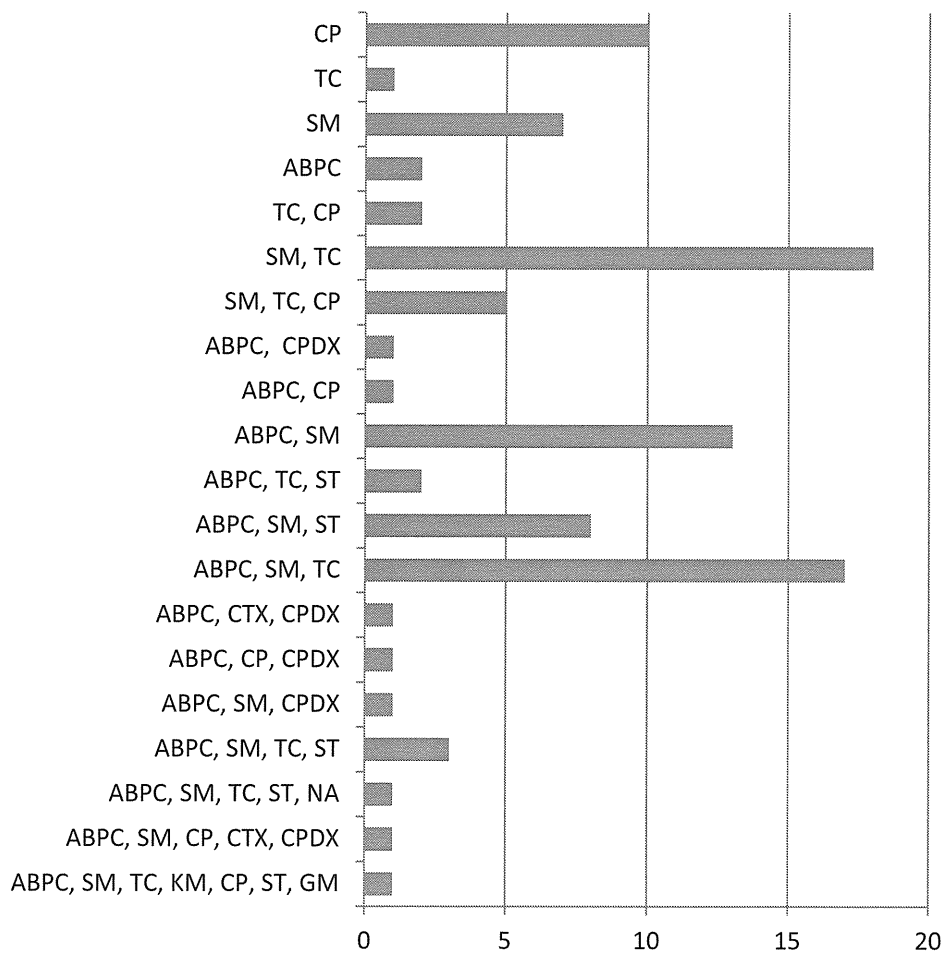


図6 EHEC O157の薬剤耐性パターン(2006～2011年 事例数)