

201234040A

食品由来細菌の薬剤耐性サーベイランスの強化と
国際対応に関する研究

(課題番号：H24-食品-一般-008)

平成24年度総括・分担研究報告書

(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)

研究代表者 渡邊 治雄

国立感染症研究所 所長

平成25(2013)年4月

目次

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

1. 平成 24 年度総括研究報告書

食品由来細菌の薬剤耐性サーベイランスの強化と国際対応に関する研究…………… 1

研究代表者 渡邊 治雄 国立感染症研究所 所長

2. 平成 24 年度分担研究報告書

(I) ヒト由来腸内細菌の薬剤耐性の遺伝学的研究…………… 6

研究分担者 泉谷 秀昌 国立感染症研究所 細菌第一部

研究協力者 寺嶋 淳 国立感染症研究所 細菌第一部

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

関塚 剛史 国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター

(II) ヒト及び食品由来食中毒菌の薬剤耐性の疫学的研究……………11

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

砂押 克彦 埼玉県衛生研究所

近 真理奈 埼玉県衛生研究所

大塚佳代子 埼玉県衛生研究所

上野 裕之 さいたま市健康科学研究センター

土井 りえ 埼玉県食肉衛生検査センター

(III) ヒト由来腸内細菌の薬剤耐性の疫学的研究……………24

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

研究協力者 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

(IV) 食品由来細菌の薬剤耐性サーベイランスの強化と国際対応に関する研究……………36

研究分担者 五十君 静信 国立医薬品食品衛生研究所

研究協力者 石井 良和 東邦大学

(V) 家畜由来薬剤耐性菌のサーベイランスに関する研究……………39

研究分担者 浅井 鉄夫 農林水産省動物医薬品検査所

研究協力者 川西 路子 農林水産省動物医薬品検査所

比企 基高 農林水産省動物医薬品検査所

(VI) 家畜由来腸内細菌の薬剤耐性化機構の解析.....46

研究分担者	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
	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
	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
	関塚 剛史	国立感染症研究所	病原体ゲノム解析研究センター

(VII) 食品汚染及びヒト腸内細菌の薬剤耐性疫学.....55

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
	原田 哲也	大阪府立公衆衛生研究所
	勢戸 和子	大阪府立公衆衛生研究所
	久米田裕子	大阪府立公衆衛生研究所

(VIII) 伴侶動物病院から分離された薬剤耐性菌のヒトへの影響.....60

研究分担者	田村 豊	酪農学園大学獣医学群獣医学類食品衛生学ユニット
研究協力者	臼井 優	酪農学園大学獣医学群獣医学類食品衛生学ユニット

(IX) 薬剤耐性化食中毒菌のヒトおよび家畜由来株のゲノム比較解析.....68

研究分担者	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	第三室
研究協力者	関塚 剛史	国立感染症研究所	病原体ゲノム解析研究センター	第三室
	竹内史比古	国立感染症研究所	病原体ゲノム解析研究センター	第三室

(X) JANIS 事業との連携；ヒト由来菌の解析.....76

研究分担者	柴山 恵吾	国立感染症研究所	細菌第二部
研究協力者	鈴木 里和	国立感染症研究所	細菌第二部
	山根 一和	川崎医科大学	公衆衛生学

3. 研究発表一覧.....104

平成 24 厚生労働科学研究費補助金食品安全確保推進研究事業
総括研究報告書
食品由来細菌の薬剤耐性サーベイランスの強化と国際対応に関する研究

代表研究者 渡邊治雄 国立感染症研究所所長

研究要旨：家畜飼育現場（農林省関連機関：動物医薬品検査所および動物衛生研究所）、食品取り扱い現場（国立医薬品食品衛生研究所）、医療現場にかかわる機関（国立感染症研究所、地方衛生研究所）との間で縦割り行政を越えての、横の連携をとり、畜産、ペット類の愛玩動物、食品および食中毒患者から分離される主にサルモネラ、カンピロバクター、病原性大腸菌、MRSA を中心とした薬剤耐性菌の現状及び動向について全国レベルの調査と解析を行ってきた（JVARM への連携）。一方、病院内における耐性菌の動向調査である院内感染菌耐性モニタリングシステム（JANIS: Japan Nosocomial Infections Surveillance）が別個に厚生労働省の事業として動いている。今回の研究班においては、この JVARM と JANIS の連携を強化し、動物等で選択されて耐性菌が実際の臨床の場に入り込んで、ヒトに健康危害を及ぼしているのかに関して、高度な技術を用いて動物や臨床で分離される耐性菌およびその耐性遺伝子の比較解析を行い、その伝播ルートを明らかにしようとするものである。世界的にも「farm to human」への耐性菌の流れの動向調査に関してWHOの抗菌薬耐性統合サーベイランスに関する専門家グループ（AGISAR: Advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance）が活動しており、WHOは各国にサーベイランスのデータの報告を求めようとしている。この研究班での成果をAGISARへの報告に使えるようにし、国際貢献を図る。耐性菌は動物—ヒト間ばかりでなく環境汚染も考慮に入れ、大きな視野で考えなければならない状況にあり、国際的活動への貢献は重要である。

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
浅井鉄夫	農林水産省動物医薬品検査所
五十君静信	国立医薬品食品衛生研究所
泉谷秀昌	国立感染症研究所
黒田 誠	国立感染症研究所
甲斐明美	東京都健康安全研究センター
田口真澄	大阪府立公衆衛生研究所
田村 豊	酪農学園大学獣医学部獣医公衆 衛生学教室
倉園貴至	埼玉県衛生研究所
柴山恵吾	国立感染症研究所

クタマーゼ産生株が優勢である。国内で分離された臨床、食品および家畜由来耐性菌の比較解析を行い、その関連性を解明し、リスク評価等に供するデータの作成が必要とされている。また、MRSAは、院内感染や市中感染の原因菌として問題であるが、家畜にも分布することが知られており、ヨーロッパを中心に家畜関連MRSA（MLST; CC398）が臨床に入り込んでいることが示されている。国内の家畜に由来するMRSAの報告は少ないが、同様のことがわが国でも発生しているのかに関する調査が必要である。この研究班では、家畜由来の耐性菌が食品等を通し、ヒトの世界に入り込んでいるのかに関する実態調査体制を確立するため、動物で行われているモニタリングシステム（JVARM; Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring System）とヒトにおける同システム（JANIS: Japan Nosocomial Infections Surveillance）の連携を強化し、分離菌株の関連性の詳細な解析を行うとともに、WHO等への国際的なネットワークへの対応態勢を確立することを目的とする。

A. 研究目的：

家畜に由来する薬剤耐性菌が畜産食品を介してヒトに伝播し、ヒトの健康に危害を与える可能性について評価するため、モニタリング体制が構築されてきている。WHOは、世界における耐性菌の実態を明らかにするためAdvisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance（AGISAR）を設立し、食中毒菌などの薬剤耐性の国際的なサーベイランス体制の確立や検査法の統一を図ろうとしている。国内では食品安全委員会が家畜由来薬剤耐性菌のリスク評価を行っているが、医療上極めて重要な抗菌薬であるフルオロキノロンおよび第3世代セファロsporin等が組上に載っている。これまでの報告で、ヒト由来株ではCTX型ESBL産生株が問題となっているが、家畜から分離される大腸菌ではCMY-2型βラ

B. 研究方法

ヒト・食品・家畜由来食中毒菌（サルモネラ、大腸菌、カンピロバクター、赤痢菌、MRSA等）を対象に、生産現場の動物、市販鶏肉、牛肝臓、ヒト臨床分離菌株を収集し、その遺伝子型別（PFGE、MLSTなど）と耐性獲得状況から伝播経路について解析する。特に、セファロsporin系薬剤に対する耐性（ESBL、CMY、カルバペネマ

一ゼ等)の遺伝型を中心に解析する。耐性に関するプラスミドに関しては、全ゲノム配列を決めることにより、現在登録されているプラスミドとの比較解析を行う。また、各配列の特徴(Incタイプ、薬剤耐性因子、Insertion sequence、Transposon等)をリスト化する。プラスミド保有菌種の情報(菌種、分離年・国・地域・宿主、各種タイピング結果等)を網羅しデータベース化する。

公衆衛生分野および医療分野の検査手法(薬剤の種類、遺伝子検査法など)を相互比較可能にして、第3世代セファロスポリン耐性大腸菌、サルモネラ等の腸内細菌における耐性遺伝子の同定及び各種セフェム系薬剤に対する感受性試験を実施する。また、動物由来およびヒト由来MRSAの各種薬剤に対する感受性試験を実施する。WHOのAGISARに参加(渡邊、泉谷)し、その情報を還元するとともに、サーベイランスへの対応を協議する。サルモネラ、大腸菌、カンピロバクターについて、動物由来株(担当:秋庭、浅井)、愛玩動物由来株(田村)、食品由来株(五十君、甲斐、田口、倉園)、人由来株(甲斐、田口、倉園、泉谷)の菌株の収集、耐性型、耐性遺伝子を行う。JANIS院内感染由来大腸菌、MRSAの収集、解析(柴山)。各菌株の遺伝子型(PFGE, MLVA, MLST等の分子疫学的解析手法により解析)の解析結果に基づき(泉谷、浅井、五十君)遺伝型の整理を行い、データベースの構築を行う(渡邊、泉谷)。それらの中から詳細な全ゲノム配列(特にプラスミドを中心に)の決定およびインフォーマティクスによる解析を行い、菌株あるいは耐性遺伝子の動物からヒトへの移動に関する推定を行う(黒田)

C. 研究結果概要

1) 第4回動物等由来耐性菌の統合的サーベイランス構築に関するWHOの専門家会議「The 4th Meeting WHO Advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance:AGISAR」が2012年6月にフランスで開催された。家畜等への抗菌薬の投与により、動物間において出現したサルモネラ、カンピロバクター、MRSA等の耐性菌が、人への感染症の原因となり、治療に抵抗するケースが見られることがあり、世界的にも社会的問題を引き起こしている。そのような問題に対して、WHOが諸外国の専門家を招き、現状把握と耐性菌の制御に向けてのガイドラインの作製を行った。①デンマークが、動物への成長促進のための抗菌薬投与の禁止、抗菌薬の適正使用の対策を取っていない農場への警告(yellow card)および罰いた則(red card)の導入を行い、動物への抗菌薬の使用量の削減、耐性菌出現の減少の効果をあげてきていること

が報告された。ノルウェー、スウェーデンなどにおいても同様の効果を得ている。②ヨーロッパの一部の国において動物、食品、ヒト由来の動物由来感染症細菌の耐性サーベイランスが国家的プロジェクトとして行われて、統合的なデータが得られているが、国際的にはマイナーである。WHO加盟の国において、統合的なデータを得られる様にするためのガイドラインの作成が行われた。WHOnetの様式の活用、データの集計、解析、還元方式、それらのトレーニング(GFNのネットのなかに組み入れる)方法についての一定の方向性が確認された。③pilot studyが、アフリカ(ガーナを中心)、南アメリカ(コロンビアを中心)で展開され、その報告が行われた。それらの国においては厚労、農林関係が一体となった対応がなされようとしている。サーベイランスのcapacity buildingが確立していない国においては、国際機関の相当なる持続的支援が必要であろう。

- 2) カンピロバクターの遺伝子型の検討では、ヒト臨床分離株の遺伝子情報から由来動物の推定がある程度可能であり、それらの情報を基に、フルオロキノロン耐性の伝播について検討したところ、推定感染ルートが鶏肉50%、牛(レバー生食等)10%、その他10%、不明30%であることが示された。鶏肉と牛レバーのフルオロキノロン耐性の割合はそれぞれ44%、13%で、ヒト臨床分離株はその中間的な値の33%であることが示された。
- 3) 市販鶏肉の55検体中、36検体(65.5%)からサルモネラが検出され、血清型は*S. Infantis*が21株、*S. Schwarzengrund* 7株、*S. Manhattan* 6株、その他4血清型が4株であった。セフポドキシム耐性のサルモネラは10検体(18.2%)から検出され、ESBL産生が2検体(3.6%)3株、AmpC産生が8検体(14.5%)8株であった。AmpC産生はすべて*S. Infantis*であり、21株中8株、38.1%であった。
- 4) 鶏肉から硫化水素非産生の *Salmonella* Typhimuriumおよび*Infantis*が分離され、全ゲノム解読により関連因子の同定を行った。それら分離株はCMY-2 β ラクタマーゼを保有しており、微生物検査で漏れてしまう薬剤耐性サルモネラ株(硫化水素非産生)であることを示していた。
- 5) JVARMで健康な家畜から分離された大腸菌において、CTX耐性が2010年に4.1%(34/816)、2011年に4.3%(32/751)で認められた。CTX耐性株の β ラクタマーゼ型は、43株(豚由来1株、ブロイラー鶏由来42株)が*bla_{CMY-2}*であった。内、ブロイラー

鶏由来2株が *bla*_{CTX-M-25} を合わせて保有していた。その他、ESBL 産生株は、10 株（全てブロイラー鶏由来株）が *bla*_{CTX-M-2}、ブロイラー鶏由来4株が *bla*_{CTX-M-1}、ブロイラー鶏由来3株が *bla*_{CTX-M-15} 及び豚由来1株が *bla*_{CTX-M-55} を保有していた。供試した62株全てが、MEPMに感受性であった（MEPM MIC: $\leq 0.25 \mu\text{g/ml}$ ）。一方、 β ラクタム以外の薬剤に対して、SM、TC及びNAに対する耐性は、50%以上で認められたが、CPFX及びCLに対する耐性は10%未満であった。ブロイラー由来 *bla*_{CMY-2} 保有株から得られたトランスコンジュガント20株では、Inc11-I γ が10株、IncKが5株、IncA/Cが4株で認められた。

- 6) ブロイラー由来大腸菌株46株およびヒト由来大腸菌15株のMLST解析を行い、全株のSTを決定するとともに、ESC耐性を規定する遺伝子の解析を行った。鶏由来株に32のSTを、ヒト由来株に11のSTを認めた。全体としてブロイラー由来株とヒト由来株のSTではST38、ST68、ST162のみしか共通ではなく、これら菌株の β ラクタマーゼ遺伝子型は鶏由来株ではいずれもCMY-2、ヒト由来株はCTX-M-14またはSHV-12であった。また、ブロイラー由来株とヒト由来株で認められる合計6つの β ラクタマーゼ遺伝子型のうち *bla*_{CTX-M-2}、*bla*_{CTX-M-14}、*bla*_{CTX-M-15}、*bla*_{SHV-12} は両者から分離された。以上の成績は、ブロイラーとヒトに定着する大腸菌の遺伝子型は異なるが、ブロイラー由来株とヒト由来株の間で薬剤耐性プラスミドあるいは耐性因子の交換が起こっている可能性を示唆している。鶏分離のESC耐性Inc11-I γ プラスミド及びIncK、B/Oプラスミドの宿主域を明らかにする目的で伝達試験を行ったところ、両プラスミドが異種細菌に接合伝達されることが示された。今後、ブロイラーおよびヒト由来株のプラスミド解析を行い、両者の間に共通性が認められるか否かを検証する。
- 7) 2011年のJANIS情報から、大腸菌ではセフトキシム(CTX)耐性が14.8%(14,751/99,543)、セフトチジム(CAZ)耐性が5.2%(6,402/123,606)、レボフロキサシン(LVFX)耐性が31.4%(36,805/117,292)だった。第三世代セファロsporin耐性については、CTX-M型基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ(ESBL)遺伝子をもつ菌が増加していることが明らかになっており、食肉由来の大腸菌との関連が強く示唆された。今後、人由来と食肉由来の耐性菌のゲノム、プラスミド、耐性遺伝子の比較を行い、耐性菌の伝播様式の解明を目指す。
- 8) プラスミド介在性FQ耐性大腸菌の耐性機構

の解明：昨年度、犬由来FQ耐性大腸菌から3株(8.8%)、ヒト由来FQ耐性大腸菌から1株(0.8%)から*oqxAB*保有菌が見つかった。しかし、犬由来及びヒト由来株のMLST型は異なっていた。*oqxAB*はプラスミド状に局在し、FQ薬のみならずトリメトプリムやクロラムフェニコール、オラキンドックスのMIC上昇に関与した。また、*oqxAB*により菌体内エンロフロキシシン(ERFX)濃度は低く保たれ、ERFX変異株出現頻度は増加した。

- 9) リステリアに関しては、JANISの2008-2011年の4年間のデータから計算すると罹患率は1.06~1.57/100万人で、4年間の平均年間罹患率は1.40/100万人であった。2011年では、国内の患者数は200.9名と推定された。罹患患者数の年齢分布は、65歳以上の高齢者が多く、全体の77.6%を占めていた。
- 10) プラスミド・データベースの構築：代表的なレファレンス配列のみ収納しているNCBI Ref_seqデータベースからプラスミドに該当する配列のみを抽出し、662菌株、1587プラスミド、114178蛋白質を含むPLAST用のカスタム・データベースを構築した。PALSTはtblastn、blastpの同源性検索項目が利用できる。抽出遺伝子ごとにPLAST検索結果が閲覧可能である。

D. 考察

家畜現場の耐性菌モニタリングJVARM (Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring System)と院内感染菌耐性モニタリングシステムJANIS (Japan Nosocomial Infections Surveillance)の連携を強化し、動物等で選択された耐性菌が実際の臨床の場に入り込んで、ヒトに健康危害を及ぼしているのかに関して明らかにしていくことは重要である。今回の目標は、前回の研究班で開発した高度なゲノムレベルの解析技術を用いて動物や臨床で分離される耐性菌およびその耐性遺伝子の比較解析を行い、その伝播ルートを解明することである。その結果を、WHOが抗菌薬耐性統合サーベイランスに関する専門家グループ(AGISAR: Advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance)を組織し、「farm to human」への耐性菌の流れの動向調査を強化しようとしていることに対応させることを目指す。

JVARMの報告からは、ブロイラー由来大腸菌でセファロsporin耐性株が2004年以降、セファロsporin系薬剤は鶏の治療薬として承認されていないにもかかわらず、増加傾向が認められた。①耐性株ではCMY-2 β -ラクタマーゼが優勢であり、②セファロsporin耐性遺伝子の分布に4種類のプラスミド(IncA/C、IncB/O、Inc11及び

IncIy) が関与し、③4 種類のプラスミドのうち IncA/C が多剤耐性プラスミドであること、④ *bla_{CMY-2}* を保有するプラスミドのレプリコン型は、IncI1-Iy が多く認められたことが明らかになった。また、ヒトから分離されるセファロスポリン耐性大腸菌との MLST 解析の比較では、ブロイラー由来大腸菌とヒト由来大腸菌では、その遺伝型に共通する部分が少ないことが判明した。しかし、βラクタマーゼ遺伝子型や Inc 型では共通するものが見られることから、鶏の大腸菌が人の腸管に入ってもそのまま定着するのではなく、プラスミドがヒトの大腸菌に伝達して安定化している可能性、又はヒトの大腸菌にあるプラスミドと組み換えを起こし安定化する、あるいは薬剤耐性遺伝子をコードしている動く遺伝子だけがヒトの大腸菌のプラスミド、あるいは染色体に入り込んでいる可能性が考えられた。今後は、人由来と鶏由来の耐性大腸菌のゲノム、プラスミド、耐性遺伝子の比較を行い、耐性菌の伝播様式の解明を目指すことにする。

米国やカナダのブロイラー鶏においてセファロスポリン耐性大腸菌やサルモネラが増加した要因として、ヒナの大腸菌感染の予防等のために、ワクチン接種時にセフチオフル（第3世代セファロスポリン）を混合して卵内接種されていたことが原因となっていることが示された。わが国では、2012年3月に国内の養鶏団体からセフチオフルの使用に関する注意喚起が自主的に行われた。このことを考えると国内でも米国等と同じようなことが行われており、それが選択圧となりセファロスポリン耐性が増加してきていた可能性が考えられる。セフチオフルの使用に関する注意喚起後の、国内のブロイラーにおけるセファロスポリン耐性の動向について継続して調査する必要がある。

薬剤耐性食中毒菌の多くは薬剤耐性プラスミドによる耐性獲得であり、プラスミド単位で菌種・株間の伝播を追跡できるのであれば、より正確な耐性伝播の様式を明確にできる。そのためには、プラスミド配列を利用した詳細な系統分類法の構築が必要である。配列解読から情報解析までの必要な手法がパイプライン化されておらず、配列解読後の解析に時間と負担を要していた。“解読リードからシームレスにプラスミド解析”が可能な解析パイプラインを構築することを開始した。誰もが可能利用できる汎用性のある環境整備を整えていく予定である。Plasmid 配列全体を用いた分子系統解析から、菌種・株間の水平伝達を容易に推定し、俯瞰的に全体像が眺められるようなシステムへと発展させられるであろう。

E. 結論

家畜から分離されたセファロスポリン耐性大腸菌は、MEPMを除く人体用セファロスポリンに耐性を示した。家畜由来大腸菌に *bla_{CMY-2}* が優勢に分布していた。同じ地域で分離されたブロイラ

ー由来セファロスポリン耐性大腸菌とヒト由来セファロスポリン耐性大腸菌を比較したところ、菌の遺伝子型に共通性は認められなかったが、セファロスポリン耐性遺伝子型には共通性が認められた。ブロイラー由来耐性菌がヒトに定着する可能性よりも、耐性遺伝子の菌から菌への伝播が腸管内で起こっている可能性が考えられた。

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

G. 健康危険情報

ブロイラー、ヒトの大腸菌にセファロスポリン耐性菌が増加してきている。鶏の耐性菌が人の大腸に定着すると言うより、耐性遺伝子が何らかの方法で伝播している可能性が考えられた。

H. 研究発表

(1) 国内

五十君静信、朝倉宏、岡田由美子、百瀬愛佳。カンピロバクター食中毒制御を目指す基礎研究。日本臨床 70(8):1298-1303. (2012)

(2) 海外

1) Asakura H, Brüggemann H, Sheppard SK, Ekawa T, Meyer TF, Yamamoto S, Igimi S. Molecular Evidence for the Thriving of *Campylobacter jejuni* ST-4526 in Japan. PLoS One. 7(11):e48394. 2012

2) Ishihara K and Tamura Y et al: Factor associated with antimicrobial-resistant *Escherichia coli* in zoo animal, *Res Vet Sci* 93:574-580, 2012

3) Iwamoto T, Tamura Y, Szuki Y and Nasu M et al: Genetic diversity of *Mycobacterium avium* subsp. *hominissuis* strains isolated from humans, pigs, and human living environment. *Infect Genet Evol* 12:846-852, 2012

4) Baba K, Tamura Y and Asai T et al: Prevalence and mechanism of antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* isolates from diseased cattle, swine and chickens in Japan. *J Vet Med Sci* 74:561-565, 2012

5) M. Sugawara, F. Shahada, H. Izumiya, H. Watanabe, I. Uchida, Y. Tamamura, M. Kusumoto, T. Iwata and M. Akiba: Change in antimicrobial resistance pattern in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolates in a beef cattle farm. *J. Vet. Med. Sci.*, 74 (1), 93-97, 2012.

6) G. Chowdhury, G. P. Pazhani, D. Dutta, S. Guin, S. Dutta, S. Ghosh, H. Izumiya, M. Asakura, S. Yamasaki, Y. Takeda, E. Arakawa, H. Watanabe, A. K. Mukhopadhyay, M. K. Bhattacharya, K. Rajendran, G. B.

- Nair, T. Ramamurthy: *Vibrio fluvialis* in patients with diarrhea, Kolkata, India. *Emerg Infect Dis.* 18, 1868-71, 2012.
- 7) Baba, K., Ishihara, K., Ozawa, M., Usui, M., Hiki, M., Tamura, Y., Asai, T. Prevalence and Mechanism of Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* Isolates from Diseased Cattle, Swine and Chickens in Japan. *J Vet Med Sci* 74: 561-565. 2012
- 8) Asai, T., Hiki, M., Baba, K., Usui, M., Ishihara, K., Tamura, Y. Presence of *Staphylococcus aureus* ST398 and ST9 in swine in Japan. *Jpn. J. Infect. Dis.* 65: 551-552. 2012
- 9) Hiki, M., Usui, M., Kojima, A., Ozawa, M., Ishii, Y., Asai, T. Diversity of plasmid replicons encoding the *bla*CMY-2 gene in broad-spectrum cephalosporin-resistant *Escherichia coli* from livestock animals in Japan. *Foodborne Pathog Dis.* (in press)
- 10) Masumi Taguchi, Ryuji Kawahara, Kazuko Seto, Tetsuya Harada, Yuko Kumeda : Extended-Spectrum β -Lactamase- and AmpC β -Lactamase-Producing *Salmonella enterica* Strains Isolated from Domestic Retail Chicken Meat from 2006 to 2011. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 65, 555-557, 2012
- 11) Chieko Sakano, Makoto Kuroda, Tsuyoshi Sekizuka, Taisei Ishioka, Yukio Morita, Akihide Ryo, Hiroyuki Tsukagoshi, Yuko Kawai, Nobuko Inoue, Hayato Takada, Yumiko Ogasawara, Atsuyoshi Nishina, Masa-aki Shimoda, Kuniyoshi Kozawa, Kazunori Oishi, Hirokazu Kimura. Genetic analysis of non-hydrogen sulfide-producing *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and Infantis isolates in Japan. *J. Clinical Microbio.* In press.

平成 24 年度 厚生労働省 食品の安心・安全確保推進研究事業
「食品由来細菌の薬剤耐性サーベイランスの強化と国際対応に関する研究」

「ヒト由来腸内細菌の薬剤耐性の遺伝学的研究」

分担研究報告書

研究分担者	泉谷秀昌	国立感染症研究所	細菌第一部
研究協力者	寺嶋淳	国立感染症研究所	細菌第一部
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
研究協力者	関塚剛史	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：本研究班では、ヒトの健康への脅威となる食品由来細菌感染症に関して、主として薬剤耐性菌に着目し、薬剤耐性食中毒菌による健康被害の発生動向を把握するための監視体制に関して、ヒト、食品、環境および家畜といった多方面からの情報整備をすることを目的とする。そのための基礎研究として上記耐性菌を含め、さまざまな菌の解析手法を開発しサーベイランスシステムに組み込むことで上記情報整備の拡充、高度化を図る。本分担研究においては、特に、細菌性食中毒の原因物質の第 1 に挙げられるサルモネラをはじめ、食品汚染を介した細菌感染症に着目して上記目的のための新規解析技術の検討を行う。

A. 研究目的

2011 年厚生労働省食中毒統計における細菌性食中毒の患者総数は 10,948 名（前年比+26%）であった。このうち、28%にあたる 3,068 名（同+24%）がサルモネラによるものであった。サルモネラ食中毒は 1990 年代と比較して減少しているが、上記データはいまなお本菌が公衆衛生上の重要な位置を占めていることを示している。サルモネラには約 2,500 種の血清型が含まれるが、中でも *Salmonella enterica* serovar Enteritidis（*S. Enteritidis*、以下 SE）による患者数は 1990 年代に急増し、現在もなお血清型別での検出頻度で第一位を占めている。

同じく *Salmonella enterica* serovar Typhimurium (*S. Typhimurium*、以下 ST) は、

SE が台頭してくる以前は血清型別で最も多く検出されていた。ST は現在でもなお、血清型別検出頻度の上位を占めている。

近年では *S. Infantis*（以下 SI）が鶏肉から高率に分離され、またヒトからの分離頻度も血清型別の上位にランクしている。

食中毒細菌における菌株の耐性化の傾向は異なっており、SE における耐性株の報告は少ないものの、ST および SI においては多剤耐性化が顕著であると言われている。

本研究では、これら食中毒細菌の感受性菌と耐性菌の動向を調査するとともに、耐性機序、あるいは菌株を分類するのに有用なマーカー等について探索、検討を行うことで、食中毒に関連した細菌のサーベイランス体制の強化を目指す。

(倫理面への配慮)

食中毒事例に関し、ヒトの臨床情報等を扱う場合には、事前に研究倫理委員会の承認を得た上で、個人情報の取り扱いに注意し、研究を遂行する。分離した菌株に関しては、匿名化を図り、特定の個人に不利益が生じないように配慮する。

B. 研究方法

1. 供試菌株：地方衛生研究所等および動物医薬品検査所等の協力により得られたサルモネラ分離株を使用した。

2. 薬剤感受性試験：BD社のセンシディスクを用いて、CLSIに準拠した方法により試験し耐性を決定した。使用した薬剤はアンピシリン (A)、ストレプトマイシン (S)、テトラサイクリン (T)、シプロフロキサシン (Cip)、カナマイシン (K)、セフトキシム (Ct)、クロラムフェニコール (C)、ST合剤 (Sx)、ゲンタマイシン (G)、ナリジクス酸 (N)、サルファ剤 (Su)、ホスホマイシン (F) の12剤であった (場合によってセファロチン (Cf) も使用)。最小発育阻止濃度 MIC は Etest もしくは微量液体希釈法を用いて決定した。

3. MAMA-PCRによるSNP解析：SI 9株を次世代シーケンサー・イルミナにより解析し、共通なコアゲノムの比較から single nucleotide polymorphism (SNP) を見出した。そこから代表的な部分を選択し、各箇所のSNPアレルが2種類 (例：AかT、GかCなど) であったことから、PCRによる mismatch amplification mutation assay (MAMA) が可能となるようにプライマーを設計した。

Conventional PCRによっていずれのアレルであるか決定した。

C. 研究結果および考察

1. SIゲノム解析：

SI国内分離株9株に関してイルミナによりゲノム解読を行った。これと公開されている参照SI株のゲノム情報 (1株) とを比較した。その結果、コアゲノムのORF上に存在するSNPが825箇所同定された。解析した分離株は、ヒト由来株が3、鶏肉など非ヒト由来株が6であった。ヒト由来1株および非ヒト由来6株はいずれも4剤以上に耐性を示した。残りのヒト由来2株はA耐性および感受性であった。前者7株 (grR) に共通で、他の2株 (+ゲノム参照株) (grS) に共通でないSNPを抽出したところ、16箇所が当該条件を満たした (図1および表1)。このうち、*nfsA* および *nhnB* 遺伝子は、grR株において終止コドンへの置換があった。*nfsA* および *nhnB* はともに nitroreductase をコードしており、ニトロフラントインなどのニトロフラン系抗菌剤への感受性に影響しうることが示唆されていた。

2. ニトロフラントイン感受性試験：

上記結果から、SI grR株とgrS株とではニトロフラン系抗菌剤への感受性に違いがあることが考えられた。そこで、ディスク法によりニトロフラントインへの感受性を試験した。その結果、grS株では19mmおよび23mmの阻止円が観察されたのに対し、grR株では10-11mmの阻止円が観察された。供試菌株数を、計98株に増やして試験を行った結果、阻止円の大きさが17mm以上 (grSが含まれる)

と 14mm 以下 (grR が含まれる) の 2 つのグループに大別された (表 2)。

3. MAMA-PCR による SNP 解析 :

上記 grS-R 間で異なる SNP のうち、*nfsA* および *nhnB* を含めた 7 か所に関して、これらを識別する MAMA-PCR 用のプライマーを設計した。参照株+grS 株と同じ遺伝子型を G1、grR 株と同じ遺伝子型を G2 とした。上記 98 株中、海外参照株 1 株を除き、7 か所すべてが G1 か、G2 かのどちらかのタイプとなった (G1 は 34 株、G2 は 63 株)。これと感受性試験の結果を合わせると、G1 は grS に、G2 は grR に一致した (表 2)。

D. 結論

本研究から、SI にはニトロフラン系抗菌剤を指標に 2 つのグループがあることが示唆された。このグループは、上記感受性に関連すると推測される *nfsA* および *nhnB* 遺伝子の点変異ともリンクしており、なおかつ他の 5 か所の SNP ともリンクしていた。SI は、現在鶏肉から分離頻度の高いサルモネラ属菌として注目されているが、本研究は国内の SI が一様でないことを示唆するものであり、今後のサルモネラの疫学調査に貢献できることが期待される。

E. 研究発表等

なし

F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

※解析に使用した菌株を提供していただいた地方衛生研究所、動物医薬品検査所、動物衛生研究所等の諸先生方に深謝いたします。

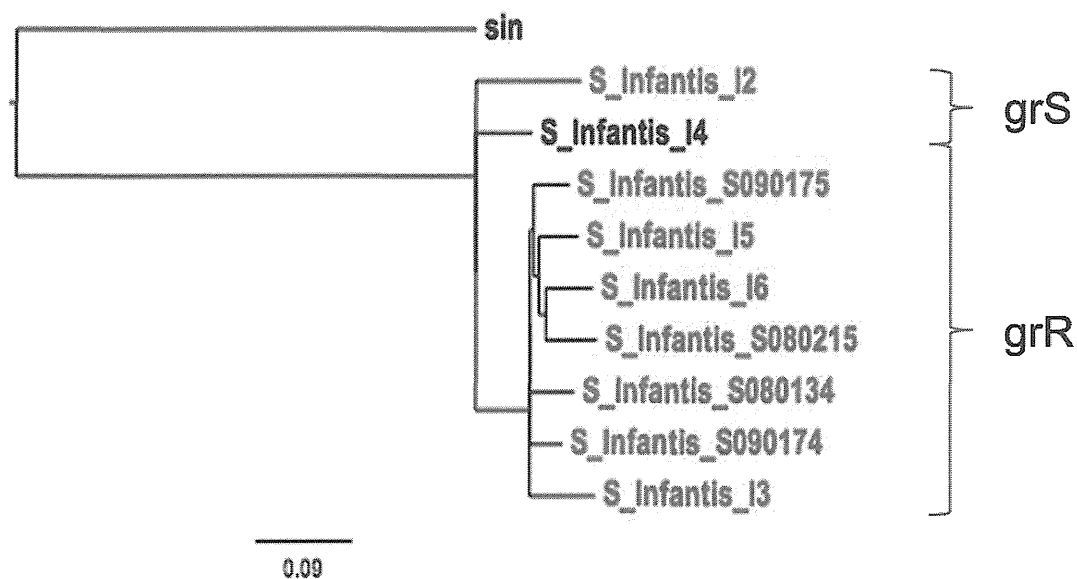


図 1. SI SNP 系統解析

表 1. grS-grR 間で異なる SNP

gene	product	grS	grR	mama target
ybbO	short chain dehydrogenase	L	P	y
nhnB	dehydropteridine reductase	Q	*	y
nfsA	nitroreductase A	W	*	y
ybjN	sensory transduction regulator	D	E	y
ycbW/zapC	duf1379 family	W	L	
	NADH dehydrogenase	D	N	
PBP	penicillin-binding protein	D	N	
	methyl-accepting chemotaxis protein II	V	G	
pduS	propanediol utilization ferredoxin	A	T	
menF	isochorismate synthase	L	Q	y
nrdE	ribonucleotide-diphosphate reductase subunit alpha	A	V	
alaS	alanyl-tRNA synthetase	D	N	
sitA	Iron transport protein periplasmic-binding protein	T	R	
recC	exonuclease V subunit gamma	D	A	
yifB	ATP-dependent protease	T	S	y
tyrB	aromatic amino acid aminotransferase	G	E	y

表 2. ニトロフラントイン感受性と MAMA-PCR による SNP 型別

Genotype	感受性試験(ディスク法300ug)												総計	
	9	10	11	12	14	17	18	19	20	21	23	26		27
G1						2	7	4	11	7	1	1	1	34
G2	10	31	16	5	1									63
1111222*	1													1
総計	11	31	16	5	1	2	7	4	11	7	1	1	1	98

MAMA-PCR の対象は *tyrB*, *yifB*, *menF*, *ybjN*, *nfsA*, *nhnB*, *ybbO* (表 1 右カラムを参照)。

*, 海外参照株

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

薬剤耐性菌が健康被害に及ぼす危険性を評価する科学的根拠の提供を目的としてヒト等から分離される食中毒菌を対象に、血清型別や薬剤感受性試験等の性状解析を行うとともに、ヒト及びイヌ・ネコ糞便を対象に ESBL 産生菌の検索を行った。

埼玉県内で 2012 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 143 株で 38 血清型に型別された。薬剤耐性では 51 株（35.7%）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 123 頭、ネコ 27 頭および野生アライグマ 235 頭の検査を行い、アライグマ 5 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。イヌとネコの ESBL 産生菌の検索では 13 株分離された。

ヒト由来腸管出血性大腸菌は 86 株が分離され、薬剤感受性試験では、86 株中 17 株（19.8%）が供試薬剤のいずれかに耐性を示し、CTX 耐性株とフルオロキノロン耐性株がそれぞれ 1 株ずつ分離された。ヒト糞便 460 検体からの ESBL 産生菌の検索では 51 株が分離された。

赤痢菌では、供試した 9 株中 2 株がフルオロキノロン耐性、4 株が CTX 耐性で、その血清型は *S. sonnei* であった。いずれも海外渡航歴のある患者からの分離であり、フルオロキノロン耐性株はインド、CTX 耐性株はトルコへの渡航歴があった。

食品の汚染実態調査では、62 検体中 5 検体（8.1%）からサルモネラ 5 株が、カンピロバクターは 21 検体中 5 検体（23.8%）から 6 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およびカンピロバクター 1 株ずつ供試薬剤に感受性であったが、それ以外は供試薬剤のいずれかに耐性を示した。

食鳥肉のフキトリ調査では、出荷前最終洗浄後のと体 80 検体の拭き取り検査を実施したが、サルモネラおよびカンピロバクターは分離されなかった。

A. 研究目的

近年、ヒトや食品等の周辺環境から分離されるサルモネラや大腸菌などの食中毒起因菌で、治療薬剤であるフルオロキノロン剤や第三世代セファロスポリンに対して抵抗を示す耐性菌の出現や増加が問題となっている。このような耐性菌がどのような経路でヒトに感染するのか、健康被害に及ぼす危険性を評価する科学的根拠の提供を目的としてヒト、食品および伴侶動物等から分離される食中毒菌を対象に、血清型別や薬剤感受性試験等の性状解析を行った。また、ヒト及びイヌやネコの糞便を対象にESBL産生菌の検索を行った。

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。また、埼玉県衛生研究所に搬入された糞便をchromID™ ESBL Agar(バイオメリュー社製)に塗抹し、ESBL産生菌の検索を行った。

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・カンピロバクターの分離を検討し、調査に供した。また、食肉からのESBL産生菌の検索も行った。

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。イヌ・ネコについてはヒト同様ESBL産生菌の検索を行った。

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2012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143株は型別不能を除き32血清型に型別され、*S. Enteritidis*が20株と最も多く分離された。次いで*S. Typhimurium*が14株であった。

この143株について薬剤感受性試験を実施した結果、供試した143株のうち51株(35.7%)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20株のうち14株(70.0%)が耐性を示し、NA耐性が7株、次いでSM耐性が5株であった。

分離株の区分別耐性パターンを表2に示す。NA耐性が9株、SM耐性が8株で、それ以外のパターンは3株以下であった。また4剤以上の薬剤に耐性を示す多剤耐性株が18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)。この株は昨年引き続き業態者検便において同じ60代の男性から分離されたものであり、血清型、薬剤感受性パターン及び保有耐性遺伝子も昨年分離株と一致していた。

(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、野生化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実施したが、サルモネラの分離はなかった。捕獲された野生化アライグマは226頭中5頭(2.2%)の便からサルモネラが分離された。その血清型は*S. Nagoya*が4株、OUTが1株であった。薬剤感受性では5株とも供試薬剤全てに対して感受性であった。

(4) 動物由来ESBL産生菌

ESBL産生菌の検索ではイヌ123頭中12頭(9.8%)から12株、ネコ27頭中1頭(3.7%)から1株分離された(表5)。その菌種はイヌから分離された12株はすべて*E. coli*であり、ネコ分離株は*K. pneumoniae*であった。イヌ分離株はTEM、CTX-M-1group、CTX-M-9groupの耐性遺伝子を保有していた。ネコ分離株はCTX-M-2groupの保有が認められた。一部の株について実施したディスク法による感受性試験では、フルオロキノロン剤にも耐性を示す株が複数株確認された。

(5) 赤痢菌

2012年に県内で分離された赤痢菌9株中6株がフルオロキノロン剤あるいはCTXに対して耐性を示した(表6)。血清型はいずれも*S. sonnei*であった。フルオロキノロン剤耐性株は2株分離され、いずれもインドへの渡航歴があった。CTX耐性株は同じトルコツアーに参加した4名から分離され、薬剤耐性パターンも耐性遺伝子(TEM, CTX-M-1group)も同一であった。

(6) 腸管出血性大腸菌

埼玉県内で2012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

患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7に示した。分離された86株で最も多く分離された血清型は、O157:H7 (VT1&2 産生)が26株、次いでO157:H7 (VT2 産生)が16株、O26:H11 (VT1 産生)が15株の順であった。分離86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17株(19.8%)であった(表8)。耐性株の耐性パターンは14パターンに分かれた。最も多かったのはSM・ABPC・Su耐性で4株が該当し、残りのパターンはすべて1株ずつであった。また、フルオロキノロン剤あるいはCTXに対して耐性を示す株が1株ずつ分離された(表9)。CTX耐性株の血清型及び毒素型は、O121:H19(VT2)でTEM1とblaCTX-M-65を保有していた。フルオロキノロン剤耐性株の血清型及び毒素型は、OUT:H- (VT1)であった。CTX耐性株は腹痛、下痢、血便の症状を呈した患者から分離されたが、フルオロキノロン剤耐性株は無症状の業態者検便受診者から分離された。

(7) ヒト由来 ESBL 産生菌

ヒト糞便 456 検体を対象とした ESBL 産生菌の検索では 460 検体中 45 検体 (9.9%) から 45 株が分離された(表10)。その菌種は *E. coli* が 41 株と最も多く、そのうち TEM と CTX-M-1group を保有する株が 13 株と最も多く、次いで TEM と CTX-M-9group 保有株の 11 株であった。ディスク法による感受性試験では、CTX のみならずフルオロキノロン剤に耐性を示す株が 41 株中 25 株と半数以上を占め、そのうち 7 株が血清型 O25:H4 であった。

(8) カンピロバクター

2012 年に食中毒疑いで搬入された臨床材料から分離したカンピロバクターは 40 株で、すべて *C. jejuni* であった(表11)。薬剤感受性試験では 40 株中 28 株 (70.0%) が供試した 6 薬剤のいずれかに耐性を示した。耐性 28 株中 23 株がフルオロキノロン剤耐性であった。

(9) 食品からの分離

2012 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 62 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10 検体及び鳥挽肉 11 検体のみを対象とした(表12)。

その結果、サルモネラは鶏挽肉 4 検体と豚挽肉 1 検体から検出された。カンピロバクターは鶏挽肉 5 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鶏挽肉から *S. Infantis*、*S. Typhimurium*、*S. Schwarzengrund*、豚挽肉から *S. Infantis* であった。鶏挽肉から分離された *S. Infantis* 1 株は供試薬剤すべてに感受性であったが、それ以外の分離株は供試薬剤のいずれかに耐性を示した(表13)。

カンピロバクターは鶏挽肉 11 検体中 5 検体から *C. jejuni* が 5 株、*C. coli* が 1 株の計 6 株が分離された。牛レバーからは分離されなかった。分離株の薬剤感受性は、*C. jejuni* の 1 株を除き、供試薬剤 (NFLX、OFLX、CPFX、NA、TC、EM) のいずれかに耐性を示した(表14)。

食肉からの ESBL 産生菌の検索では、鶏肉 10 検体、豚肉 12 検体、牛肉 5 検体を供した結果、鶏肉 9 検体から ESBL 産生菌が分離された。その菌種はすべて *E. coli* であり、O 血清型は UT であった。9 株中 TEM と CTX-M-1group を耐性遺伝子として保有する株が 6 株と最も多かった。ディスク法による感受性試験では、CTX だけでなくフルオロキノロン剤に耐性を示す株が 9 株中 6 株と半数以上を占めていた。

(10) 食鳥処理場由来

2012 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 検体を供試したが、サルモネラおよびカンピロバクターは分離されなかった。

D. 考察

2012 年に県内で分離されたヒト由来サルモネラ 143 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 51 株 (35.7%) であり、昨年 (47.7%) よりも耐性率は下降していたが、CTX 耐性株

(04:i:-) が分離された。この株は昨年分離された 60 代の男性から再び分離されたもので、血清型、薬剤感受性パターン及び保有耐性遺伝子も昨年分離株と同じであった。この血清型 (04:i:-) は 2002 年から 2012 年までの 11 年間に県内で 38 株分離されており、当初は分離株数も少なく、薬剤感受性も供試薬剤に感受性であった。しかし、耐性株が徐々に増加し、2008 年と 2010 年には CTX 耐性株が 1 株ずつ下痢症患者から検出さ

れた。特に 2008 年分離株は薬剤感受性パターンと保有耐性遺伝子が 2011 年分離株と一致していた。同一人物から 2011 年と 2012 年に分離された株の同一性や 2008 年分離株との相関性を含めて、今後 PFGE 法等による解析を進める必要があると思われた。

動物由来では、イヌやネコからサルモネラは分離されず、野生化アライグマからは分離されたが、幸いなことに、分離された 5 株は供試薬剤すべてに感受性であった。今後もイヌやネコに加えてヒトの生活圏を浸食する野生化アライグマについて監視していかなければならない。

赤痢菌ではフルオロキノロン剤耐性株が分離されたが、いずれもインドへの渡航歴があり、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いるため注視する必要がある。また、同じトルコツアー参加者から CTX 耐性赤痢菌が検出され、検査当時はほとんど症状がなかったことから、ヒトによる持ち込みに関しても、更なる情報収集の強化を図る必要がある。

腸管出血性大腸菌は、供試 16 薬剤に対する耐性率が 19.8%と 2011 年の 41.7%に比べて半減したが、これは 2011 年に発生した 026:H11 (VT1) による集団感染事例での分離株がすべて耐性菌であったことが大きく影響している。また、CTX やフルオロキノロン剤に耐性を示す株が 2011 年に引き続き分離されたことから、今後とも注意する必要がある。

ヒトやイヌおよびネコの糞便を材料とした ESBL 産生菌の検索ではヒトやイヌの約 10%の検体から分離され、ディスク

法による感受性試験では、CTX のみならずフルオロキノロン剤に耐性を示す株が、その半数以上を占めていた。近年、CTX-M-15 産生大腸菌 ST131 という特定のクローンの検出数が世界中で増加している。この大腸菌の抗原は O25:H4 であることが多いが、今回ヒトから CTX-M-1group を保有し、ディスク法で CTX とフルオロキノロン剤耐性を示す大腸菌 O25:H4 が 3 株分離されており、分離株の解析を進めるとともに、今後もその動向を監視する必要がある。

食品の汚染実態調査では、食肉からの ESBL 産生菌の検索において、鶏肉 10 検体中 9 検体から ESBL 産生菌が分離された。ディスク法による感受性試験では、CTX とフルオロキノロン剤に耐性である株が 9 株中 6 株と半数以上を占めていたことから、今後とも監視する必要があると考えられた。

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大きな低下は見られていない。フルオロキノロン系薬剤やセフェム系薬剤の耐性株も検出されていることから、健康被害に及ぼす危険性を評価する科学的根拠の提供を目的として、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

腸管出血性大腸菌感染事例において、CTX 耐性菌やフルオロキノロン剤耐性株

が分離された。これらの発生動向等に注意を払う必要がある。

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 (2012)

O血清型	血清型名	国内		海外	計
		有症者	無症者		
O2	S.Paratyphi A			1(1)	1(1)
O4	S.Stanley	3(1)			3(1)
	S.Schwarzengrund	2(2)			2(2)
	S.Saintpaul	10(1)	4		14(1)
	S.Sandiego	1			1
	S.Derby		2		2
	S.Agona		3(1)		3(1)
	S.Typhimurium	9(6)	4(4)		13(10)
	S.Bredeney		1(1)		1(1)
	O4UT	9(4)	4(2)		13(6)
O7	S.Braenderup	1			1
	S.Rissen			1(1)	1(1)
	S.Montevideo	2	3		5
	S.Oranienburg	2			2
	S.Thompson	3(1)	2		5(1)
	S.Potsdam	3			3
	S.Infantis	4(2)	1		5(2)
	S.Mikawasima		1		1
	S.Mbandaka		1(1)		1(1)
O7UT		1		1	
O8	S.Nagoya	5	13		18
	S.Manhattan	2(1)	1(1)		3(2)
	S.Newport	1	1(1)		2(1)
	S.Litchfield	2	1(1)		3(1)
	S.Bovismorbificans	1			1
	S.Corvallis		1		1
	S.Hadar	1(1)			1(1)
O9	S.Typhi			1(1)	1(1)
	S.Enteritidis	18(13)	2(1)		20(14)
	S.Miyazaki	1(1)			1(1)
O3, 10	S.Give	1(1)			1(1)
	S.Weltevreden	1			1
O13	S.Poona	1			1
O16	S.Hittingfoss		1		1
O18	O18UT	5			5
O35	O35UT	1			1
O39	O39UT	1			1
O UT	OUT	1(1)	2		3(1)
計		91(35)	49(13)	3(3)	143(51)

() : 薬剤耐性株数