

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(2012)

	国内		海外	計
	有症者	無症者		
供試菌株数	91	49	3	143
耐性株数	35	13	3	51
(%)	38.5%	26.5%	100.0%	35.7%
薬剤耐性パターン				
SM	8			8
TC	2	1		3
ABPC	1			1
NA	6	1	2	9
Su	1			1
SM・TC		1		1
SM・Su	1			1
TC・Su		1		1
ABPC・Su		1		1
ABPC・NA	1			1
SM・TC・NA	1			1
SM・TC・Su	1	1		2
SM・ABPC・Su	1			1
KM・ABPC・NA	2			2
SM・TC・KM・Su	1			1
SM・TC・ABPC・Su	2	1		3
SM・TC・NA・Su	1	1		2
TC・NA・SXT・Su		1		1
CP・TC・KM・ABPC・Su	1			1
CP・TC・ABPC・SXT・Su	1			1
SM・TC・ABPC・NA・Su		3		3
SM・TC・ABPC・CTX・Su		1		1
SM・TC・ABPC・SXT・Su			1	1
SM・TC・NA・SXT・Su	1			1
CP・TC・ABPC・NA・SXT・Su	1			1
CP・SM・TC・KM・ABPC・SXT・Su	1			1
CP・SM・TC・KM・ABPC・NA・GM・SXT・Su	1			1
計	35	13	3	51

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 埼玉県内のCTX 耐性 *Salmonella* 分離例 (2012)

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	2012年9月	SM・TC・ABPC・CTX・Su	CTX-M-1group,TEM

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 (2012)

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	123	0 (0%)		0	
ネコ	27	0 (0%)		0	
アライグマ	226	5 (2.2%)	S.Nagoya	4	感受性
			O UT:a:z ₆	1	感受性

表 5 イヌ、ネコからのESBL分離状況 (2012)

由来動物	検査数	検出数 (陽性率)	保有耐性遺伝子 (株数)
イヌ	123	12* (9.8%)	TEM(1) CTX-M-1group(2) CTX-M-9group(4) TEM,CTX-M-1group(1) TEM,CTX-M-9group(4)
ネコ	27	1** (3.7%)	CTX-M-2group(1)

**E. coli*

***K. pneumoniae*

表 6 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 (2012)

No.	血清型	年齢区分	菌分離月	耐性パターン	海外渡航歴	備考
1	<i>S.sonnei</i>	30代	2012年3月	NA・CPFX・NFLX	インド	
2	<i>S.sonnei</i>	20代	2012年10月	SM・TC・NA・CPFX・NFLX・SXT・Su	インド	
3	<i>S.sonnei</i>	20代	2012年9月	SM・ABPC・CTX・GM・SXT	トルコ	TEM1,CTX-M-1group
4	<i>S.sonnei</i>	20代	2012年9月	SM・ABPC・CTX・GM・SXT	トルコ	TEM1,CTX-M-1group
5	<i>S.sonnei</i>	20代	2012年9月	SM・ABPC・CTX・GM・SXT	トルコ	TEM1,CTX-M-1group
6	<i>S.sonnei</i>	20代	2012年9月	SM・ABPC・CTX・GM・SXT	トルコ	TEM1,CTX-M-1group

表 7 腸管出血性大腸菌の血清型と毒素型(2012)

血清型	毒素型	検出数	血清型	毒素型	検出数
O157:H7	VT1&2	26	O103:H2	VT1	1
O157:H7	VT2	16	O111:H-	VT1	1
O157:H-	VT1&2	6	O121:H19	VT2	1
O157:H-	VT2	8	O128:H2	VT1&2	1
O157:H-	VT1	1	O145:H-	VT2	2
O26:H11	VT1	15	O145:H-	VT1	1
O26:H-	VT2	2	O165:HUT	VT1&2	1
O26:H-	VT1	1	OUT:H-	VT1	1
O8:H19	VT1&2	1	合計		86
O91:H-	VT1	1			

表 8 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(2012)

	O157H7	O157H-	O26H11	O26H-	O91H-	O111H-	O121H19	O165HUT	OUTH-	その他*	計			
供試菌株数	42	15	15	3	1	1	1	1	1	6	86			
耐性株数 (%)	7 16.7%	1 6.7%	3 20.0%	1 33.3%	1 100.0%	1 100.0%	1 100.0%	1 100.0%	1 100.0%	0 0.0%	17 19.8%			
薬剤耐性パターン														
CP											1			
SM											1			
SM・Su											1			
TC・Su	1											1		
CP・SM・Su											1			
SM・TC・Su											1			
SM・ABPC・Su	4											4		
ABPC・CTX・GM											1			
NA・CPFX・NFLX											1			
SM・TC・SXT・Su	1											1		
SM・ABPC・SXT・Su	1											1		
SM・TC・ABPC・SXT・Su	1												1	
SM・TC・KM・ABPC・NA・Su											1			
SM・TC・KM・ABPC・SXT・Su	1													1

* O8H19(1),O103H2(1),O128H2(1),O145H-(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 9 埼玉県内のCTX耐性 およびフルオロキノロン耐性腸管出血性大腸菌分離例(2012)

No.	血清型	毒素型	菌分離月	耐性パターン	備考
1	O121:H19	VT2	2012年1月	ABPC,CTX,GM	TEM1,CTX-M-65
2	OUT:H-	VT1	2012年5月	NA,CPFX,NFLX	GyrA S83L+D87N ParC S80I

表 10 ヒトからのESBL分離状況 (2012)

検査数	検出数	菌種	保有耐性遺伝子 (株数)
456	45	<i>E. coli</i>	TEM(2)
			CTX-M-1group(7)
			CTX-M-2group(2)
CTX-M-9group(6)			
TEM,CTX-M-1group(13)			
			TEM,CTX-M-9group(11)
		<i>K. pneumoniae</i>	TEM,SHV,CTX-M-1group,CTX-M-9group(2)
		not <i>E.coli</i>	CTX-M-9group(1)SHV,CTX-M-9group(1)

表 11 埼玉県内でヒトから分離された *Campylobacter jejuni* の薬剤耐性パターン(2012)

供試菌株数	40
耐性株数	28
(%)	70.0%
薬剤耐性パターン	
TC	3
NA	1
NA・EM	1
CPFx・NFLX・OFLX	1
NA・NFLX・OFLX	1
NA・CPFx・NFLX・OFLX	10
TC・NA・CPFx・NFLX・OFLX	10
TC・NA・EM・CPFx・NFLX・OFLX	1

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 12 食品からの食中毒菌分離状況(2012)

検体の種類	検体数	STEC	糞便	加水培養
牛レバー	10	0/10	0/10	0/10
鶏挽肉	11	0/11	4/11	5/11
豚挽肉	15	0/15	1/15	
牛豚挽肉	4	0/4	0/4	
牛挽肉	10	0/10	0/10	
漬物	12	0/12	0/12	
計	62	0/62	5/62	5/21

表 13 食肉からのサルモネラ分離状況(2012)

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	10	0		
鶏挽肉	11	4	S.Infantis(2)	SM・TC・ABPC(1) 感受性(1)
			S.Typhimurium(1)	SM・TC・ABPC・NA(1)
			S.Schwarzengrund(1)	TC(1)
豚挽肉	15	1	S.Infantis(1)	SM・TC(1)
牛豚挽肉	4	0		
牛挽肉	10	0		
計	50	5		

表14 食肉からのカンピロバクター分離状況(2012)

区分	検体数	陽性検体数	陽性株数	血清型(検出数)	耐性パターン(検出数)
牛レバー	10	0	0		
鶏挽肉	11	5	6	C. jejuni (5)	TC・NA・EM・CPFX・NFLX・OFLX(1) TC・NA・CPFX・NFLX・OFLX(1) NA・CPFX・NFLX・OFLX(1) TC(1) 感受性(1)
				C. coli (1)	TC・CPFX・NFLX・OFLX(1)
計	21	5	6		

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 15 食肉からのESBL分離状況 (2012)

区分	検査数	陽性数 (陽性率)	保有耐性遺伝子 (株数)
鶏肉	10	9* (90.0%)	CTX-M-1group(3) CTX-M-2group(1) TEM,CTX-M-1group(6) TEM,CTX-M-2group(1)
豚肉	12	0	
牛肉	5	0	

**E. coli*

平成 24 年度 食品の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」
分担研究報告書

分担課題名 ヒト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
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

研究要旨: 食中毒起因菌として重要なサルモネラの中でも、分離頻度の高い血清型 *Infantis*, *Typhimurium* および *Enteritidis* について薬剤感受性試験を実施した。その結果、耐性菌は、*Infantis* では食品由来株が、*Typhimurium* ではヒト由来株で高かった。しかし、5 薬剤以上に耐性を示す多剤耐性菌の割合は、いずれの血清型でもヒト由来株の方が高い傾向であった。*Enteritidis* では、2 薬剤以上に耐性を示す株は認められなかった。この様に血清型によって耐性パターンに差のあることが明らかとなった。

牛内臓肉由来カンピロバクターのキノロン系薬剤に対する耐性菌出現率は、*C. jejuni* が 54%、*C. coli* が 12.5%であった。ヒト由来株では *C. coli*、牛内臓肉由来株では *C. jejuni* の耐性率が高かった。

A. 研究目的

医療機関では、フルオロキノロン系薬剤耐性菌や ESBL 産生菌の分離が依然として増加傾向であり、問題となっている。特にサルモネラやカンピロバクター等の食中毒起因菌は、ヒトから分離される例が多いため、今以上に耐性菌が増加し続けると、抗菌薬の選択肢が限られるなど、治療の問題が生じることになる。薬剤耐性菌拡大のメカニズムを解明し、これ以上の拡大を防ぐためには、ヒトおよび食品から分離される菌の薬剤耐性状況を的確に把握することが非常に重要である。そこで食中毒起因菌であるサルモネラ、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. サルモネラ分離状況および耐性菌出現状況

1) 供試菌株

2012 年に東京都内で分離されたヒト由来サルモネラ 83 株および食品（鶏肉）から分離された 87 株を供試した。また、併せて、2009 年以降に分離された ESBL 産生菌疑い株 49 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(ST), ナリジクス酸(NA), シプロフロキサシン(CPFX), ノルフロキサシン (NFLX), オフロキサシン(OFLX), スルフィソキサゾール(SIX), アミカシン(AMK), イムペネム(IPM), メロペネム(MEPM)の 16 薬剤を供試し, 米国臨床検査標準化委員会(CLSI)の方法に従い, センジディスク(BD)を用いた KB 法で薬剤感受性を調べた。

CTX に対する阻止円が 27mm 以下の菌株は ESBL 産生菌を疑い, CTX およびセフトジジム(CAZ)と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) ESBL 産生菌の遺伝子型

ESBL 産生菌については, 八木ら (FEMS Microbiol. Lett.,18, 53, 2000) および Shibata ら(J.Clin.Microbiol.,50,791,2006)のプライマーを用いた PCR 法で遺伝子型を調べた。

2. 牛内臓肉由来カンピロバクターの耐性菌出現状況

1) 供試検体

都内の食肉処理場および小売店で購入した牛内臓肉 (レバー, ハツ, ハラミ, テール, タン, 蜂の巣, センマイ, ギアラ, 盲腸) から分離された *C. jejuni* 50 株および *C. coli* 16 株を供試した。

2) 薬剤感受性試験

NA, CPFX, エリスロマイシン(EM),

TC, ABPC の 5 薬剤について KB 法で行なった。

C. 研究結果

1. サルモネラの検出状況

2012 年に東京都内でヒトから分離されたサルモネラ 83 株は 26 血清型に分類された (表 1)。最も多く分離された血清型は O9 群 Enteritidis で 23 株(27.7%), 次いで O7 群 Infantis 15 株(18.1%), O4 群 Typhimurium 9 株(10.8%)であった。

一方, 食品から分離された 87 株は 12 血清型に分類され, O7 群 Infantis が 46 株(52.9%)と最も多かった。次いで O4 群 Typhimurium, および O8 群 Manhattan, OUT : r:1,5 が各 8 株 (9.2%), O4 群 Schwarzengrund 6 株(6.9%), O4 群 Agona 3 株(3.4%)等であった (表 2)。

2. サルモネラの薬剤耐性菌出現状況

ヒト由来株および食品由来株ともに検出率が高かった血清型 Infantis と Typhimurium, ヒト由来株で分離数が多かった Enteritidis について薬剤感受性試験を実施した。

1) サルモネラ血清型 Infantis

ヒト由来 15 株のうち, 供試したすべての薬剤に感受性であったのは 6 株(40.0%)であった。耐性株は全体の 60.0%であり, 3 薬剤耐性は 2 株, 4 薬剤および 5 薬剤耐性はそれぞれ 3 株, 6 薬剤耐性は 1 株であった。

一方, 食品由来 42 株中, 供試したすべての薬剤に感受性であったものは 6 株(14.3%)のみで, 耐性率は 85.7%であり, ヒト由来株と比較して高い傾向であった。耐

性薬剤数をみると、1 薬剤耐性は 3 株、2 薬剤耐性が 2 株、3 薬剤および 4 薬剤耐性が各 11 株、5 薬剤耐性は 8 株、8 薬剤耐性が 1 株であった (表 3)。CTX 耐性株は、ヒト由来の 1 株であった。NDM-1 を疑う株は分離されなかった。

薬剤耐性パターンはヒト由来株、食品由来株ともに同じ傾向であった。

2) サルモネラ血清型 Typhimurium

ヒト由来 11 株 (O4:i:- の 2 株を含む) 中耐性株は 7 株(63.7%)、食品由来では 7 株中 4 株(57.1%)であり、ヒト由来株の耐性率は高かった。最も多くの薬剤に耐性を示した多剤耐性菌はヒト由来株で、CP, TC, SM, ABPC, ST, NA, CPF, OFL, NFL, Su の 10 薬剤に耐性であった。この株は散発患者由来株で、病院で検出されたものである。食品由来株は、1 薬剤耐性が 1 株、2 薬剤耐性が 2 株および 5 薬剤耐性が 1 株であった。NDM-1 を疑う株は分離されなかった。

3) サルモネラ血清型 Enteritidis

ヒト由来 23 株中耐性菌は 16 株(69.6%)であった。2 薬剤以上に耐性を示す株は検出されず、すべて 1 薬剤耐性であった。NA 耐性が 10 株(43.5%)、SM 耐性 5 株(21.7%)、TC 耐性 1 株(4.4%)であった (表 5)。

4) ESBL 産生菌の遺伝子型

都内で分離されたサルモネラのうち、ESBL 産生菌が疑われる株 (CTX 耐性あるいは阻止円 27mm 以下) は 2009 年以降 49 株分離された。これらの株を対象に KB 法でスクリーニングした結果、ESBL 産生菌

は 9 株であった。9 株中 6 株が鶏肉由来、3 株がヒト由来株で、血清型は O8 群 Manhattan が 5 株、O7 群 Infantis が 2 株、O18 群 Cerro および O4 群 i:- 1 株が各 1 株であった。

遺伝子型を表 6 に示した。血清型 Manhattan は 5 株中 4 株が TEM 型、1 株は CTX-M-2 group、血清型 Infantis の 2 株および O4:i:- の 1 株は CTX-M-2 group、血清型 Cerro の 1 株は CTX-M-1 group であった。CTX-M-9 group は検出されなかった。

5) 牛内臓肉由来カンピロバクターの耐性菌出現状況

牛内臓肉由来 *C. jejuni* 50 株中、いずれかの薬剤に耐性を示した株は 38 株(76%)であった。薬剤別耐性率は、NA および CPF 耐性 27 株(54%)、TC 耐性 16 株(32%)、ABPC 耐性 2 株(4%)であった。一方、*C. coli* 16 株中、いずれかの薬剤に耐性を示した株は 14 株(87.5%)で *C. jejuni* より耐性率は高かった。薬剤別耐性率は、NA および CPF 耐性 2 株(12.5%)、TC 耐性 9 株(56.3%)、ABPC 耐性 12 株(75%)であった。*C. jejuni* および *C. coli* 共に、EM 耐性株は認められなかった。

2009 年～2011 年にヒト下痢症患者から分離されたカンピロバクターと今回分離された牛内臓肉由来株のキノロン系薬剤耐性率を比較した結果を図 1 に示した。ヒト由来株では *C. coli* の耐性率が *C. jejuni* より高い傾向を示したが、牛内臓肉由来では *C. jejuni* の方が高かった。

D. 考察

近年、東京都ではサルモネラによる食中毒および散発下痢症患者が減少傾向であり、2012年に分離されたヒト由来株は83株、食品由来株(鶏肉由来)は87株であった。ヒト由来および食品由来の耐性菌出現状況を比較する目的で、ヒト、食品共に検出率の高い血清型 *Infantis* および *Typhimurium* と、ヒトで多く分離される血清型

Enteritidis について薬剤耐性率を調べた。供試した16薬剤に対する耐性株は、血清型 *Infantis* では食品由来株の方が高かったが、血清型 *Typhimurium* ではヒト由来株の方が高い傾向であった。いずれの血清型でも、5薬剤以上に耐性を示す多剤耐性菌は食品由来よりもヒト由来で多い傾向であった。一方、ヒトから多く分離される血清型 *Enteritidis* では、1薬剤耐性菌が多く、2薬剤以上に耐性を示す株は認められなかった。このように血清型によって耐性パターンに差があることが明らかとなった。

2009年以降、ESBL産生菌を疑うサルモネラが分離されるようになったため、これらの株を対象に精査した結果、9株がESBL産生菌であった。以前、鶏肉由来サルモネラについてESBL産生菌の遺伝子型を調べた成績では、ブラジル産鶏肉由来株はCTX-M-2 groupが多く、国産鶏肉由来株はCTX-M-9 group およびCTX-M-1 groupが多い傾向であった。今回、食品分離株のうち2株がCTX-M-2 groupであったことから、これらはブラジル産鶏肉由来であった可能性が示唆された。

牛内臓肉由来 *C. jejuni* および *C. coli* のキノロン系薬剤に対する耐性率は、それぞれ54.0%(*C. jejuni*)と12.5%(*C. coli*)であった。これまでヒト由来株のキノロン系薬剤

耐性菌出現状況を調べてきた結果では、*C. coli*の耐性率が高い傾向であったが、今回調べた牛内臓肉由来株ではヒト由来株と異なり、*C. jejuni*の耐性率が高かった。牛内臓肉由来とヒト由来株の耐性パターンの傾向については、今後も継続して調べていく必要があると考えられた。

E. 結論

近年、サルモネラによる食中毒は減少傾向であり、分離される菌株も減少している。このような状況下、ヒト由来および食品由来ともに検出率が高かったサルモネラ血清型 *Infantis* と *Typhimurium*、ヒト由来株で分離数の多かった *Enteritidis* について薬剤感受性試験を実施した。その結果、1薬剤以上に耐性を示す耐性菌は、*Infantis* では食品由来株が、*Typhimurium* ではヒト由来株で高かった。しかし、5薬剤以上に耐性を示す多剤耐性菌の割合は、いずれの血清型でもヒト由来株の方が高い傾向であった。

牛内臓肉由来カンピロバクターのキノロン系薬剤に対する耐性菌出現率は、*C. jejuni*が54%、*C. coli*が12.5%であった。ヒト由来株では *C. coli*で耐性率が高い傾向を示したが、牛内臓肉由来株では *C. jejuni*の耐性率が高かった。

F. 健康危機情報

鶏肉から検出されるサルモネラ血清型 *Infantis* の薬剤耐性率は85.7%、*Typhimurium*の耐性率は57.1%であった。牛内臓肉から検出された *C. jejuni*のキノロン系薬剤耐性率は54%であったが、ヒトの治療薬として用いられるEMに耐性を示す

株は無かった。

G. 研究発表

1. 下島優香子，高野智香，猪股光司，井田美樹，西野由香里，黒田寿美代，石塚理恵，横山敬子，高橋正樹，仲真晶子，甲斐明美：牛レバー等内臓肉からのカンピロバクターおよび腸管出血性大腸菌検出状況，第5回日本カンピロバクター研究会，2012年11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. ヒトから分離されたサルモネラ(2012年, 東京都)

O群	血清型	分離数	O群	血清型	分離数
O9	Enteritidis	23(27.7%)	O4	Agona	1
O7	Infantis	15(18.1%)	O4	b:-	1
O4	Typhimurium	9(10.8%)	O4	d:-	1
O4	Saintpaul	4	O7	Mbandaka	1
O8	Manhattan	3	O7	Bareilly	1
O7	Braenderup	2	O7	Rissen	1
O4	Schwarzengrund	2	O8	Newport	1
O4	Sandiego	2	O8	Nagoya	1
O4	i:-	2	O8	Hadar	1
O4	eh:-	2	O8	Litchfield	1
O7	Thompson	2	O9	Javiana	1
O7	Montevideo	2	O3,10	Muenster	1
O1,3,19	Senftenberg	2	O3,10	Anatum	1
			合計		83

集団事例は1株のみ計上

表2. 食品から分離されたサルモネラ(2012年, 東京都)

O群	血清型	分離数	(%)
O7	Infantis	46	(52.9)
O4	Typhimurium	8	(9.2)
O8	Manhattan	8	(9.2)
OUT	r:1,5	8	(9.2)
O4	Schwarzengrund	6	(6.9)
O4	Agona	3	(3.4)
O7	Oranienburg	2	(2.3)
O13	Havana	2	(2.3)
O4	Derby	1	(1.1)
O4	i:-	1	(1.1)
O4	型別不能	1	(1.1)
O8	Muenchen	1	(1.1)
合計		87	

表3. S. Infantisの薬剤耐性パターン(2012年, 東京都)

薬剤耐性パターン								ヒト由来	食品由来
感受性								6 (40.0%)	6 (14.3%)
ABPC	KM	SM	TC	NA	ST	CP	Su		1
ABPC	KM	SM	TC		ST		Su	1	
	KM	SM	TC		ST		Su	1	7
ABPC		SM	TC		ST		Su		1
ABPC		SM	TC	NA			Su	1	
ABPC		SM	TC				Su	1	
	KM	SM	TC				Su	1	4
		SM	TC		ST		Su	1	4
ABPC		SM	TC				Su	1	1
		SM	TC	NA			Su		2
		SM	TC				Su	2	7
	KM		TC	NA					2
	KM		TC				Su		1
	KM	SM	TC						1
			TC				Su		1
	KM		TC						1
	KM								1
			TC						2
合計								15	42

供試薬剤: CP,TC,SM,KM,ABPC,ST,CTX,FOM,NA,NFLX,CPFX,OFLX,Su,AMK,IPM,MEPM

表4. S. Typhimuriumの薬剤耐性パターン(2012年, 東京都)

薬剤耐性パターン											ヒト由来	食品由来	
感受性											4 (36.4%)	3 (42.9%)	
ABPC			SM	TC	NA	ST	CP	Su	CPFX	OFLX	NFLX	1	
ABPC	KM	GM	SM	TC		ST	CP	Su				1	
ABPC		GM		TC		ST	CP	Su				1	
ABPC			SM	TC	NA			Su					1
ABPC			SM		NA		CP	Su				1	
ABPC			SM	TC			CP	Su				1	
ABPC			SM	TC				Su				1	
ABPC	KM												1
ABPC					NA							1	1
ABPC													1
合計											11	7	

供試薬剤: CP,TC,SM,KM,ABPC,ST,CTX,FOM,NA,NFLX,CPFX,OFLX,Su,
AMK,IPM,MEPM

O4:i:-株 : 食品由来の1株およびヒト由来の2株を含む

表5. ヒト由来S. Enteritidisの
薬剤耐性パターン

	分離数	(%)
感受性	7	(30.4%)
NA	10	(43.5%)
SM	5	(21.7%)
TC	1	(4.4%)
合計	23	

表6. ESBL産生菌の遺伝子型

No.	分離年	由来	血清型	ESBL型					
				SHV	TEM	M-1*	M-2*	M-9*	
1	2009年	もも串(鶏)	O8	Manhattan	-	+	-	-	-
2	2009年	ももたたき(鶏)	O8	Manhattan	-	+	-	-	-
3	2009年	レバ刺し(鶏)	O8	Manhattan	-	+	-	-	-
4	2009年	ヒト(保菌者)	O4	i:-	-	-	-	+	-
5	2010年	鶏レバー	O8	Manhattan	-	-	-	+	-
6	2011年	鶏レバー	O7	Infantis	-	-	-	+	-
7	2011年	鶏カルビ	O8	Manhattan	-	+	-	-	-
8	2011年	ヒト(散発患者)	O18	Cerro	-	-	+	-	-
9	2012年	ヒト(散発患者)	O7	Infantis	-	-	-	+	-

* CTX group

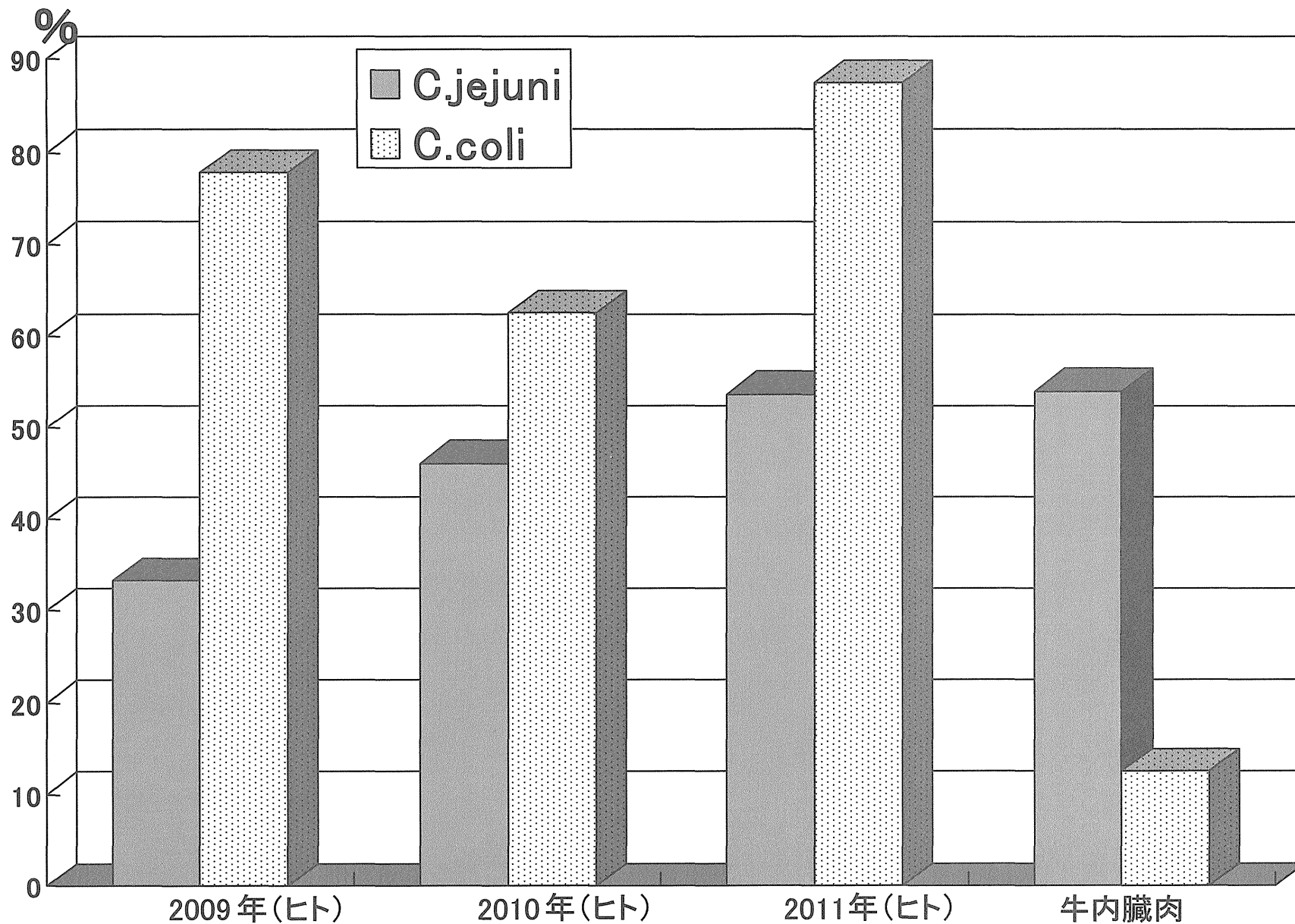


図1. ヒト下痢症および牛内臓肉由来カンピロバクターのフルオロキノロン(CPFX)耐性菌出現状況

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

研究分担者 五十君 静信（国立医薬品食品衛生研究所）

研究要旨

本研究では、簡便且つ迅速に *Acinetobacter* 属菌が産生する OXA-型カルバペネマーゼの検出システムを構築すること目的として研究を行い、イムノクロマトグラフィー法を応用した検出法を構築した。2007年に収集された *Acinetobacter* 属菌の内、パニペネムに $0.5 \mu\text{g/mL}$ 以上の最小発育阻止濃度を示す菌株に対して、本方法による OXA-型カルバペネマーゼの検出を試みた。さらに、amplified rDNA restriction analysis により、カルバペネマーゼ産生 *Acinetobacter* 属菌の菌種同定を行い、初めて全国レベルの分子疫学解析を実施した。その結果、2007年におけるカルバペネマーゼ産生 *Acinetobacter baumannii* に占める ST92 の割合が高く、クラス B に属するカルバペネマーゼのカルバペネム薬耐性への寄与は、*A. baumannii* では低く、non-*baumannii Acinetobacter* において高いことを明らかにした。これらの成果は、感染管理あるいは感染制御の分野で貢献する事が期待される。

研究協力者

石井 良和（東邦大学医学部）

A. 研究目的

市販鶏肉等を汚染しているカンピロバクター（食中毒菌）及び汚染菌として重要な大腸菌の耐性に関して検討し、食品を介した耐性菌の人への健康影響に関する基礎的な知見を集積する。

オキシミノセファロスポリン系薬分解型 β ラクタマーゼ、いわゆる基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ (Extended-Spectrum Beta-Lactamase: ESBL) 産生大腸菌が臨床材料および健常人から分離される頻度が急激に増加している。このような場合の耐性菌拡散経路として食品を介したヒトへの拡散が否定できない。2008年からこれまでに野菜、果物、魚介類、食用肉などの食品を対象にオキシミノセファロスポリン系薬耐性大腸菌のスクリーニング検査を実施してきた。その結果、市販されている肉類、特に鶏肉から当該耐性菌が高率に分離されることが明らかとなった。そして、全てのオキシミノセファロスポリン系薬耐性大腸菌から耐性因子として CTX-M-型 ESBL が検出された。

以上の背景から、市販鶏肉を汚染しているオキシミノセファロスポリン耐性大腸菌が保有する ESBL および大腸菌の型別を実施し、食品を介した耐性菌のヒトへの健康影響に関する基礎的な知見を集積することを目的に本研究を実施した。

B. 研究方法

カンピロバクターについては、市販鶏肉、牛肝臓、ヒト臨床分離菌株の遺伝子型別により検討した。大腸菌については、基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ (Extended-Spectrum beta-Lactamase: ESBL) 産生大腸菌の分離が急増していることから、ヒトおよ

び市販鶏肉から分離される大腸菌および ESBL をコードする遺伝子の関係を明らかにすることを目的に本研究を実施した。

ESBL 産生大腸菌は、市販鶏肉を購入し、分離を試みた。ESBL 産生大腸菌の分離は、無菌的に採取した 20g の肉片に 25mL の LB 培地を添加し、 35°C 、一晚培養を実施した。10 μL の培養液を選択培地である CHROMagar™ ESBL (CHROMagar, France) に接種し、 35°C 、一晚培養した。CHROMagar™ ESBL 上で赤みがかった濃いピンク色を呈したコロニーを羊血液寒天培地にて純培養した。純培養後、定法にしたがって Phoenix system (日本 BD、東京)にて同定・薬剤感受性検査を実施した。Phoenix system により大腸菌と同定され、且つ薬剤感受性検査を基にした Expert role で ESBL の産生が疑われた菌株に対して、Clinical and Laboratory Standards Institute が推奨する ESBL 確認試験を実施した。その結果、11 株の ESBL を産生することが確認された大腸菌に対して、Multi-Locus Sequence Typing (MLST) および ESBL 型別を実施した。なお、MLST は定法にしたがって、<http://pubmlst.org/> が公開するデータベースを用いて解析した。ESBL 型別は multiplex primer を用いてグループ型別を実施した後、各グループ全長を増幅可能なプライマーを用いて PCR で増幅したのち、DNA sequencing により、型別を実施した。

ヒト臨床分離菌株として 2010 年、2011 年および 2012 年に東邦大学医学部 2 年次学生実習で学生が分離し、遺伝子解析を実施することを自ら同意して提出した 17 菌株を対象に鶏肉由来株と同様の解析を実施した。

倫理面への配慮

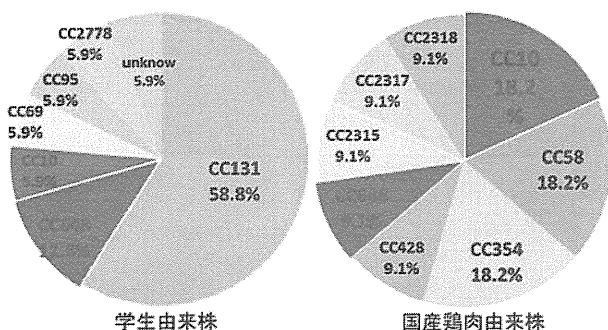
本研究は倫理面に配慮しなければならない研究ではないが、学生から分離された ESBL 産生大腸菌を収集する際に、「本研究の目的、菌株提出は自由、本研究への協力の有無が成績には影響しない」ことを説明した。

C. 研究結果

国産鶏肉由来 ESBL 産生大腸菌の MLST 型

国産鶏肉由来大腸菌の MLST を実施したが、特定の Clonal complex (CC) に偏る傾向は認められなかった (図 1)。菌株数は少ないが、ヒト由来大腸菌と共通である CC10 および CC648 がそれぞれ、2 株および 1 株認められた。

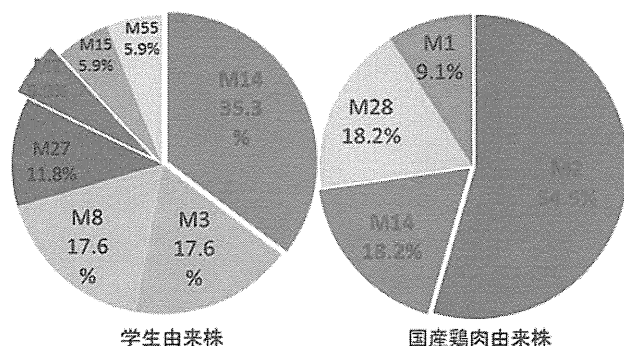
図1. 学生糞便由来ESBL産生大腸菌および国産鶏肉由来ESBL産生大腸菌のMLST型



国産鶏肉由来大腸菌の ESBL 型

国産鶏肉由来大腸菌が産生する ESBL の型別を実施したところ、*bla*_{CTX-M-2} の検出頻度が最も高く、次いで *bla*_{CTX-M-14}、*bla*_{CTX-M-28}、*bla*_{CTX-M-1} の順となった (図 2)。

図2. 学生糞便由来大腸菌および国産鶏肉由来大腸菌が保有するESBLの遺伝子型



学生糞便由来 ESBL 産生大腸菌の MLST 型

学生糞便由来 ESBL 産生大腸菌 17 株を対象に MLST 解析を実施した結果、CC131 が約 60% を占め、健康人が保有する大腸菌も CC131 であることが明らかとなった。さらに、学生糞便由来 ESBL 産生大腸菌も国産鶏肉由来株と同様、CC648 および CC10 が存在した (図 1)。

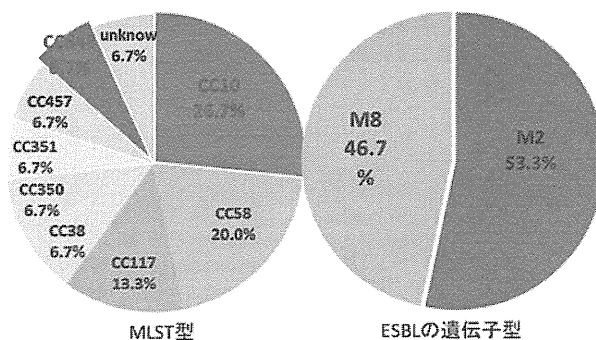
学生糞便由来大腸菌の ESBL 型

学生糞便由来大腸菌の ESBL 遺伝子型で主要なものは *bla*_{CTX-M-14} であり、同一グループの *bla*_{CTX-M-27} を合わせると *bla*_{CTX-M-9} サブグループが 47.1% と約半数を占めた。次いで、*bla*_{CTX-M-3} サブグループ (*bla*_{CTX-M-3}、*bla*_{CTX-M-15}、*bla*_{CTX-M-55}) が 29.4%、*bla*_{CTX-M-8} (17.6%)、*bla*_{CTX-M-2} (5.9%) の順となった (図 2)。

ブラジル産鶏肉由来 ESBL 産生大腸菌の MLST 型

ブラジル産由来 ESBL 産生大腸菌の主要な MLST 型は、CC10、CC58、CC117 であり、その頻度は 26.7%、20.0%、13.3% であった。ブラジル産鶏

図3. ブラジル産鶏肉由来ESBL産生大腸菌のMLST型と保有するESBLの遺伝子型



肉由来 ESBL 産生大腸菌も国産鶏肉由来株の場合と同様に CC10 および CC648 といった、学生糞便由来株でも見られた大腸菌が認められた (図 3)。

ブラジル産鶏肉由来大腸菌の ESBL 型

ブラジル産鶏肉由来大腸菌が保有する ESBL 遺伝子型は *bla*_{CTX-M-2} および *bla*_{CTX-M-8} 以外には認められなかった (図 3)。

D. 考察

学生糞便由来大腸菌と国産鶏肉由来大腸菌を対象に MLST により、そのクローナリティーを検討した。一部に同一の CC 株が認められた。しかし、学生由来株の主要な CC が 131 であったのに対して、国産鶏肉由来株の CC に偏りは見られなかった (図 1)。この結果から、国産鶏肉由来 ESBL 産生大腸菌が健康人の腸管に定着した可能性は高くないと判断された。

さらに、学生糞便由来大腸菌と国産鶏肉由来大腸菌の ESBL をコードする主要な遺伝子型も異なっていた。したがって、国産鶏肉由来大腸菌の ESBL をコードする遺伝子が学生糞便に定着する大腸菌に伝達された可能性も高くないと判断された (図 2)。

一方、学生糞便由来大腸菌から *bla*_{CTX-M-8} という特異な ESBL をコードする遺伝子が検出された (図 3)。この ESBL をコードするは、これまで南米特にブラジル以外の国から検出されたとの報告は非常に少なく、アジア諸国からの報告は皆無である。