

平成 26 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：「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：ヒト及び食品由来食中毒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	松下明子	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	門脇奈津子	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 2014 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 140 株で 37 血清型に型別された。薬剤耐性では 61 株（43.0%）が供試した 16 薬剤のいずれかに対して耐性を示し、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。また、動物由来株として、伴侶動物のイヌ 102 頭、ネコ 29 頭および野生アライグマ 127 頭の検査を行い、ネコ 1 頭およびアライグマ 3 頭からサルモネラが分離された。イヌとネコの ESBL 産生菌の検索では 9 株分離された。

赤痢菌では、供試した *S. sonnei* 2 株中 1 株がフルオロキノロン耐性で、インドへの渡航歴のある患者からの分離であった。

ヒト由来腸管出血性大腸菌は 220 株が分離され、薬剤感受性試験では、220 株中 17 株（7.7%）が供試薬剤のいずれかに耐性を示した。CTX 耐性株やフルオロキノロン耐性株の分離はなかった。ヒト糞便からの ESBL 産生菌の検索では 37 検体中 6 検体から分離された。

食品の汚染実態調査では、県内の市場で購入した鶏肉、野菜等 105 検体を供試し、サルモネラは鶏肉 12 検体中 3 検体から、カンピロバクターは鶏肉 12 検体中 4 検体、ESBL は鶏肉 12 検体中 4 検体並びに生力キ 7 検体中 1 検体から検出された。サルモネラおよびカンピロバクター分離株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等の拭き取り検査を実施し、カ

ンピロバクターが 44 検体中 10 検体から、サルモネラは 1 検体から分離された。

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

1. 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 (ピオメリユー社製) 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。

・ 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 µg)、ストレプトマイシン (SM; 10 µg)、テトラサイクリン (TC; 30 µg)、カナマイシン (KM; 30 µg)、アミノベンジルペニシリン (ABPC; 10 µg)、ナリジクス酸 (NA; 30 µg)、セフォタキシム (CTX; 30 µg)、シプロフロキサシン (CPFX; 5 µg)、ゲンタマイシン (GM; 10 µg)、ホスホマイシン (FOM; 50 µg)、ノルフロキサシン (NFLX; 5 µg)、スルファメトキサゾール・トリメトプリム合剤 (ST; 25 µg) の 12 薬剤で、ヒト由来株についてはイミペネム (IMP; 10 µg)、アミカシン (AMK; 30 µg)、メロペネム (MEPM; 10 µg)、スルフィソキサゾール (Su; 250 µg) 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 µg)、ナリジクス酸(NA;30 µg)、シプロフロキサシン(CPFX;5 µg)、ノルフロキサシン(NFLX;5 µg)、オフロキサシン(OFLX;5 µg)、エリスロマイシン(EM;15 µg)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2014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142株は型別不能を除き37血清型に型別され、*S. Enteritidis*が18株と最も多く分離された。次いで *S. Thompson* と *S. Infantis* が12株であった。

この142株について薬剤感受性試験を実施した結果、供試した142株のうち61株(43.0%)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* は18株中6株(33.3%)が耐性を示した。*S. Schwarzengrund* は供試10株全てが耐性を示した。

分離株の区分別耐性パターンを表2に示す。NA耐性が11株と最も多く、次いでSM・TC・KM・Su耐性が10株、SM・TC・ABPC・Su耐性が8株であった。また、4剤以上の薬剤に耐性を示す株が27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、フルオロキノロン剤耐性株が1株分離された(表3)。CTX耐性菌はCP・SM・TC・KM・ABPC・CTXの6薬剤に耐性を示す血清型 *S. Blockley* であり、その保有耐性

遺伝子はCTX-M-15であった。フルオロキノロン耐性株は、CP・SM・TC・ABPC・NA・CPFX・NFLX・SXT・Suの9薬剤に耐性を示す血清型 *S. Kentucky* であり、そのMLST型はST198であった。

(2) 動物由来サルモネラ

イヌ、ネコおよび野生化アライグマのサルモネラ保菌状況調査の結果を表4に示す。イヌは102頭のいずれからも分離されなかったが、ネコは29頭中1頭(3.4%)から分離され、血清型は *S. Nagoya* であった。薬剤感受性は、供試した16薬剤に対して感受性を示した。野生化アライグマは127頭中3頭(2.4%)の便からサルモネラが分離された。その血清型はそれぞれ異なっていた。薬剤感受性は、血清型O4:i:-がSM・TC・ABPCの3剤に耐性であった。

(3) 動物由来ESBL産生菌

ESBL産生菌の検索ではイヌ100頭中8頭(8.0%)から8株、ネコ26頭中1頭(3.8%)から1株分離され、菌種は全て *E. coli* であった(表5)。イヌ由来株はCTX-M-1groupあるいはCTX-M-9groupのいずれかを、ネコ由来株はCTX-M-1groupの耐性遺伝子を保有していた。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イヌ由来で4株、ネコ由来で1株確認された。

(4) 赤痢菌

赤痢菌では、供試した *S. sonnei* 2株中1株がフルオロキノロン耐性で、インドへの渡航歴のある患者からの分離であった(表6)。

(5) 腸管出血性大腸菌

埼玉県内で2014年に、ヒト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220株で最も多く分離された血清型は、O157:H7 (VT1&2 産生)が158株、次いで、O157:H7 (VT2 産生)が24株、O26:H11 (VT1 産生)が12株の順であった。分離220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(7.7%)であった(表8)。耐性株の耐性パターンは13パターンに分かれた。最も多かったのはSM・TC・Su耐性で3株が該当した。

(7) ヒト由来 ESBL 産生菌

ESBL 産生菌の検索では37検体中6検体から6株が分離された(表9)。その菌種は全て *E. coli* で、そのうちCTX-M-9group 保有株が4株、CTX-M-1group 保有株が2株であった。ディスク法による感受性試験では、CTX-M-9group 保有株の2株がCTXのみならずフルオロキノロン剤に耐性を示し、その血清型はO86aとOUTであった。

(8) カンピロバクター

2014年に食中毒疑いで搬入された17事例の臨床材料から分離したカンピロバクターは39株で、すべて *C. jejuni* であった(表10)。薬剤感受性試験では39株中30株(76.9%)が供試した6薬剤のいずれかに耐性を示し、そのうち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

2013年6月から2014年1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105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。その結果、サルモネラは鶏肉12検体中5検体から、カンピロバクターは鶏肉12検体中4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(表11)。検出されたサルモネラの血清型は *S. Schwarzengrund* と *S. Manhattan* であり、薬剤感受性では供試した16薬剤のいずれかに耐性であった。また、カンピロバクターは *C. jejuni* が3株、*C. coli* が1株であり、フルオロキノロン剤に対して耐性を示した。

食肉からのESBL産生菌の検索では、ESBLは鶏肉12検体中4検体並びに生力キ7検体中1検体から検出された。(表12)。ESBL産生菌が分離された鶏肉4検体派の産地は国産3検体、ブラジル産1検体であった。

(10) 食鳥処理場由来

食鳥処理場での出荷前最終洗浄後のと体等の拭き取り検査で、カンピロバクターが44検体中10検体から、サルモネラは1検体から分離された。薬剤感受性ではカンピロバクターでは供試16薬剤のいずれにも感受性であった。サルモネラではKM・GMに耐性を示した(表13)。

D. 考察

2014年に県内で分離されたヒト由来サルモネラ142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61株(43.0%)であり、2012年(35.7%)、2013年(35.1%)と比較して耐性率の上昇が見られた。CTX耐性株とフルオロキ

ノロン剤耐性株が 1 株ずつ分離された。*S. Blockley* は、以前は、埼玉県内において検出数も多く耐性率の高い血清型であったが、2009 年から 2014 年にかけてわずか 2 株しか分離されておらず、1 株は供試薬剤に感受性であった。フルオロキノロン剤耐性の *S. Kentucky* は、県内での検出は 2009 年から 2014 年にかけてわずか 1 株であったが、アフリカ東部からヨーロッパやアメリカ等に拡がりをみせている多剤耐性の *S. Kentucky* と同じ MLST 型 ST198 であった。今後とも病原体サーベイランスを通じてその動向を注視する必要がある。

動物由来では、ネコや野生化アライグマから 4 株のサルモネラが分離されたが、1 株を除き供試薬剤すべてに感受性であり、フルオロキノロン剤や CTX に対して耐性を示す株は分離されていない。しかし、伴侶動物のイヌやネコ、ヒトの生活圏を浸食する野生化アライグマについて今後も監視していく必要がある。

赤痢菌で 2013 年に引き続きフルオロキノロン剤耐性株が分離され、インドへの渡航歴があった。このような海外からの持ち込みに関して、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は 7.7%と 2013 年の 19.8%や 2012 年の 19.4%と比べて低下した。これは保育園集団事例での分離株が感受性であった影響があった。

ヒトやイヌおよびネコの糞便を材料とした ESBL 産生菌の検索でヒトで 16.2%、

イヌでは 8.0%、ネコでは 3.8%の検体から分離された。昨年に引き続きディスク法による感受性試験で、CTX のみならずフルオロキノロン剤に耐性を示す株が、複数株検出されていたことから引き続き監視する必要があると考えられた。

E. 結論

ヨーロッパやアメリカでその拡がりが増え、危険される MLST 型 ST198 の *S. Kentucky* が初めて県内で確認され、フルオロキノロン系薬剤やセフェム系薬剤の耐性株の検出も続いていることから、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

サルモネラ感染事例において、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