

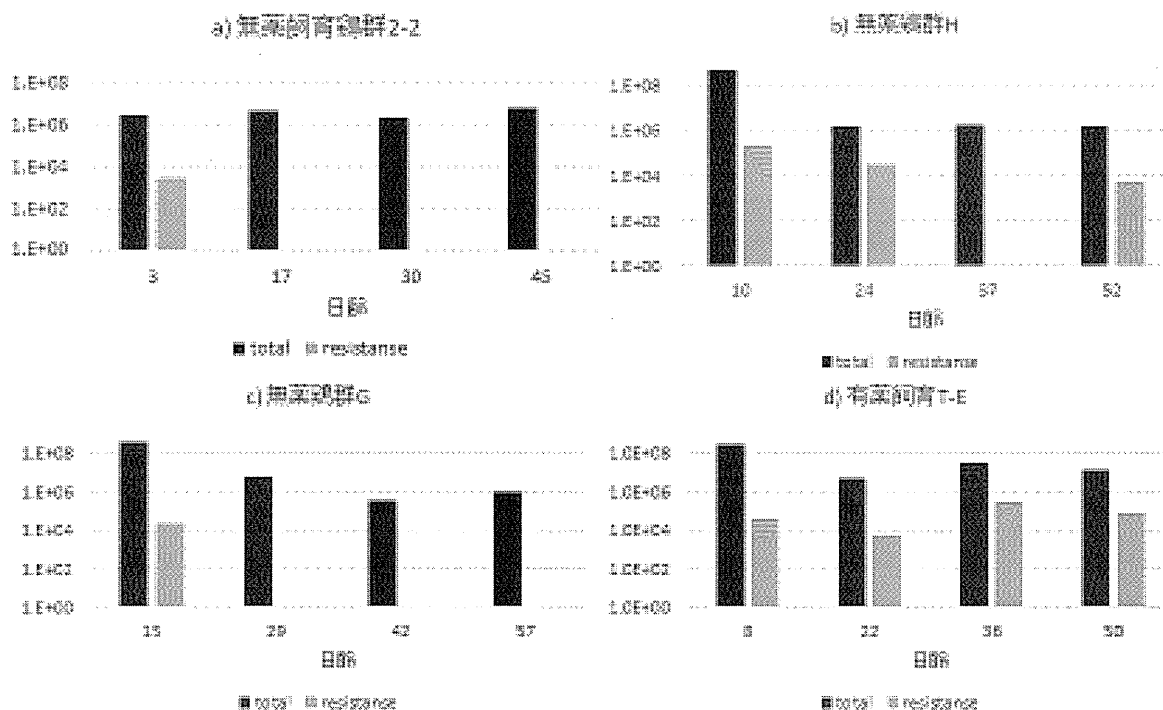


図1 セファロスポリン耐性菌の推移

表1 調査対象鶏群における抗菌性物質の使用状況

鶏群	抗菌性物質	投与時期	飼料添加物	動物薬
2-2	無			
G	無			
H	無			
T-E	有	0~20日齢	ナラシン 80g/t	アモキシシリン 50mg/kg
			エンラマイシン 5g/t	
		6~8日齢		
		21~40日齢	サリノマイシン 50g/t ノシヘプタイド 5g/t 硫酸コリスチン 10g/t	

表2 最高希釈CEX含有DHL培地からの分離菌種とβ-lactamase型

菌株	1回目		2回目		3回目		4回目	
	菌種	β-lactamase	菌種	β-lactamase	菌種	β-lactamase	菌種	β-lactamase
Z-2	5日目		15日目		55日目		40日目	
	<i>E. cloacae</i> (2)	NT	-	-	-	-	-	-
	<i>A. baumannii</i> (2)							
G	10日目		24日目		57日目		52日目	
	<i>E. coli</i> (5)	CTX-M19group (4)/ CTX-M11group (1)	-	-	-	-	-	-
H	15日目		29日目		42日目		57日目	
	<i>E. coli</i> (5)	CMV-2 (5)	<i>E. coli</i> (2)	NT*	-	-	<i>E. coli</i> (5)	CMV-2 (5)
	<i>E. cloacae</i> (2)							
T-2	5日目		22日目		55日目		50日目	
	<i>E. cloacae</i> (2)	NT	<i>E. coli</i> (5)	CMV-2 (5)	<i>E. coli</i> (5)	CMV-2 (5)	<i>E. coli</i> (4)	CMV-2 (4)

表3 CTX耐性大腸菌(n=30)における各種薬剤のMIC分布

	0.03	0.05	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	64	128	>128
CTX							3	10	12			1	4	
MERM			30											
GM				7	13		3	2			1	1	1	
KM							1	11	7					11
TC						2	12					9	7	
NA							18	9						3
CPFX	27		3											
CL			6	13	4	1	4							
CP								17	13					
測定範囲														
	≤2.38/0.12		4.75/0.25		9.5/0.5		19/1		38/2		76/4		152/8	
ST	22		1		1		1				5			

表4 CTX耐性大腸菌の薬剤耐性型

菌株	1回目		2回目		3回目		4回目	
	β-lactamase	耐性型	β-lactamase	耐性型	β-lactamase	耐性型	β-lactamase	耐性型
G	10日目		24日目		57日目		52日目	
	CTX-M19group (4)/ CTX-M11group (3)	TO-ST(5)						
H	15日目		29日目		42日目		57日目	
	CMV-2 (5)	CMV-2/TO/NA(5)	NT	KLPTO(2)			CMV-2 (5)	KLPTO(5)
T-2	5日目		22日目		55日目		50日目	
			CMV-2 (5)	-	CMV-2 (5)	-	CMV-2 (4)	-

食品由来薬剤耐性菌の発生動向及び衛生対策に関する研究
分担課題 全国地方衛生研究所において分離される薬剤耐性菌の
情報収集体制の構築

研究分担者	四宮博人	(愛媛県立衛生環境研究所)
研究協力者	調 恒明	(山口県環境保健センター)
	木村俊也	(愛媛県立衛生環境研究所)
	仙波敬子	(愛媛県立衛生環境研究所)
	園部祥代	(愛媛県立衛生環境研究所)
	菅 美樹	(愛媛県立衛生環境研究所)

研究要旨

薬剤耐性菌を制御するためには、環境—動物—食品—ヒトを包括するワンヘルス・アプローチが重要である。食品由来菌の薬剤耐性検査は、主として地方衛生研究所（以下、地研という。）において実施されていると考えられるが、その実態は不明であった。食中毒・感染性胃腸炎起因菌（サルモネラ属菌、EHEC、EHEC 以外の病原大腸菌、非病原大腸菌、カンピロバクター、コレラ菌、赤痢菌、チフス菌、パラチフス菌）について、ヒト、食品、動物、環境由来別に調査し、相当数の地研が食品由来菌の薬剤耐性菌検査を実施していることが判明した。薬剤耐性検査件数についても、食中毒・感染性胃腸炎起因菌のヒト由来株については約 10,000 件、同食品由来株については約 3,000 件の薬剤耐性検査が最近 3 年間で実施されていることが明らかにされた。また、全国の地研で保有・保管されている食品由来薬剤耐性菌株は 3,500 株以上であると推定された。既存の薬剤耐性菌サーベイランスとして、ヒトを対象としたもの（JANIS）と動物を対象としたもの（JVARM）があるが、地研における食品由来薬剤耐性菌の情報をこれらのデータベースと統合し、総合的に解析する体制整備が必要である。

A. 研究目的

薬剤耐性菌を制御するためには、環境—動物—食品—ヒトを包括するワンヘルス・アプローチが重要である。このうち、動物については農林省で実施している JVARM による薬剤耐性菌モニタリングシステムがあり、病院内の薬剤耐性菌については厚労省で行われている JANIS によるサーベイランスがある。一方、食品由来耐性菌については、これらのシステムではモニターされていない。地方衛生研究所（以下、地研）では、食品由来細菌に関する調査を実施して

おり、一部の地研ではそれらの薬剤耐性状況も調べている。本研究班で当該分担者は、全国の地研において収集されているヒト及び食品由来細菌（大腸菌、サルモネラ、カンピロバクター等）の薬剤耐性に関する情報収集体制の構築を担当する。そのためには、全国の地研で実施されている薬剤耐性菌検査の実態を知ることが必須である。食中毒起因菌等の食品由来細菌の検査は従来から地研で実施されてきたが、それらの薬剤耐性検査がどの程度行われているかについてはこれまで不明であったので、全国的

な調査を実施した。

B. 研究方法

1. 地研における薬剤耐性菌検査について

全国 80 カ所の地研を対象に、感染症法で規定される薬剤耐性菌及び臨床的に重要な薬剤耐性菌、ならびに食中毒・感染性胃腸炎起因菌（ヒト、食品、動物、環境由来菌を含む）に関して、薬剤耐性菌検査実施の有無、検査件数、検査の実施方法（感受性試験、耐性遺伝子の解析等）、実施形態等について調査した。

2. 地研で保有・保管している薬剤耐性菌を含む細菌株について

薬剤耐性菌検査を実施している地研を対象に、感染症法等で規定される薬剤耐性菌株、及び食中毒・感染性胃腸炎起因菌株（薬剤耐性菌株を含む）の保有・保管数について調査した。以上の詳細は末尾の添付資料に示す。

倫理面への配慮

全ての分離株及び調査情報は個人を特定できる情報を含まない状態で収集し、本研究に用いた。

C. 研究結果

1. 地研における薬剤耐性菌検査の実施状況

アンケート回答 75 地研のうち、何らかの薬剤耐性菌検査を実施していると回答した地研は 59 (78.7%) で、8 割近い地研が同検査を実施していることが判明した（図 1）。

2. 薬剤耐性菌検査の実施対象

実施対象菌のうち、食中毒・感染性胃腸炎起因菌（サルモネラ、EHEC、EHEC 以外の病原大腸菌、非病原大腸菌、カンピロバクター、コレラ菌、赤痢菌、チフス菌、パラチフス菌）についてまとめたものを、図 2 に示す。それぞれ、ヒト由来、食品由来、動物由来、環境由来別に示している。ヒトと食品に注目すると、サルモネラでは 59 地

研中の 31 地研と 22 地研がそれぞれヒト由来株、食品由来株の耐性検査を実施している。同様に、EHEC（ヒト 36、食品 17）、EHEC 以外の病原大腸菌（21、13）、非病原大腸菌（20、14）、カンピロバクター（26、23）で、相当数の地研が薬剤耐性菌検査を実施していることが判明した。一方、EHEC 以外の三類感染症起因菌では、ヒト由来株が主で食品由来株の検査を実施している地研は少数であった。

3. 薬剤耐性菌検査の件数

食中毒・感染性胃腸炎起因菌のヒト由来株及び食品由来株の薬剤耐性菌検査数（全国の実施地研、2012 年～2014 年）を図 3 に示す。サルモネラでは、この 3 年間で、ヒト由来株検査 1955 件（うち耐性 823 件）、食品由来株検査 811 件（うち耐性 643 件）の耐性検査が実施されている。EHEC については、ヒト由来株が主に検査され、食品由来株は少数であった。食品由来では、サルモネラ、非病原大腸菌、カンピロバクターの 3 種が主に検査され、EHEC 以外の三類感染症起因菌については、ほとんど検査されていない。また、3 年間の検査総数において、食品由来菌の陽性（耐性）率（68.0%）がヒト由来菌の陽性率（43.6%）よりも高い傾向が認められた。基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ産生菌（ESBL）及び AmpC 型 β -ラクタマーゼ産生菌については、サルモネラ（食品由来）と非病原大腸菌（ヒト由来及び食品由来）で多数検出されたが、カンピロバクターでは全く検出されていない（データは示していない）。

4. 薬剤感受性試験に使用する薬剤について

五類感染症に指定される薬剤耐性菌感染症起因菌の検査については、薬剤感受性試験が医療機関で行われることもあり、地研では耐性遺伝子の検査が行われことが多い一方、食中毒・感染性胃腸炎起因菌については、耐性検査として薬剤感受性試験が最も多く実施され、薬剤感受性試験の方法としては、ディスク拡散法が最もよく用いら

れていた（データは示していない）。食中毒・感染性胃腸炎起因菌に関して調査対象とした 18 種の抗菌剤を使用している地研数を菌種別に表 1 に示す。EHEC が最も多くの抗菌剤について耐性状況が調べられ、次いでサルモネラが調べられていた。この両者では 20 地研以上で 11 薬剤（ABPC, CTX, GM, KM, SM, TC, NA, ST, CP, FOM, CPFY）について感受性試験が実施され、詳細に調べられていることが判明した。EHEC 以外の三類感染症起因菌では赤痢菌が最も多くの抗菌剤について検査されていた。カンピロバクターでは、耐性状況を反映して、他の菌種ではほとんど用いられていない OFLX と EM が約 20 の地研で使用されていた。

5. 薬剤耐性菌検査の実施形態

薬剤耐性菌検査の費用を拠出する予算別（実施形態）について調査した。行政検査 41 地研、依頼検査 11 地研、研究的取組み 45 地研、その他 4 地研であった（表 2）。検査方法としては、感受性試験や遺伝子解析等、全ての検査方法を含んでいる。行政試験の実施対象菌は、CRE (17 地研)、VRE (18 地研) 等の感染症法で規定される薬剤耐性菌感染症起因菌が多く、サルモネラ (5 地研)、EHEC (7 地研)、カンピロバクター (5 地研) 等の食中毒・感染性胃腸炎起因菌は少数であった。一方、研究的取組みの対象菌は、サルモネラ (16 地研)、EHEC (11 地研)、カンピロバクター (13 地研) 等の食中毒・感染性胃腸炎起因菌が多く、CRE (6 地研)、VRE (3 地研) 等の薬剤耐性菌感染症起因菌は少数であった。これらの結果から、ヒトや食品由来の食中毒・感染性胃腸炎起因菌については、主として研究的取組み、特に地研の内部研究費（自治体予算）によって実施されていることが明らかにされた。

6. 地研で保有・保管している薬剤耐性菌株を含む細菌株について

全国の地研で実施されているヒト及び食品由来菌の薬剤耐性菌検査実施状況とともに、それら菌株の地研における保有・保管についても実態は不明であった。今回、こ

の点についても調査し、表 3 の結果を得た。保有菌株数について、0、0～10、10～100、>100 の区分で回答を求めた。サルモネラについては、45 地研がヒト由来株を 100 株以上（うち 12 地研は耐性菌株を 100 株以上）保有し、20 地研が食品由来株を 100 株以上（うち 7 地研は耐性菌を 100 株以上）保有していた。全国の地研で保有・保管されている菌株数を、10～100 を 50 株、>100 を 100 株として推定した。サルモネラでは、ヒト由来株 5300 (1800)、食品由来株 3300 (1150)（括弧内は耐性菌数）が保有・保管されていた。同様に、EHEC では、ヒト由来株 5900 (2150)、食品由来株 900 (250)、カンピロバクターでは、ヒト由来株 4850 (1850)、食品由来株 2900 (1300) が保有・保管されていることが推定された。参考に、最近 3 か年で当所で保有・保管されているサルモネラ株を表 4 に示す。

D. 考察

地研における細菌学的検査は、感染症法による感染症法発生動向調査（病原体サーベイランスを含む）、食品衛生法による食中毒起因菌検査、厚労省が自治体に委託して行う食中毒菌汚染実態調査、研究的取組み等に基づいて実施されている。

食品由来菌の薬剤耐性検査は、食中毒起因菌検査の一環として実施されていると考えられるが、これらの検査において薬剤耐性検査は必ずしも必須項目ではなく、地研においてどの程度実施されているかの実態はこれまで不明であった。今回、回答 75 地研中の 59 地研 (78.7%) が何らかの薬剤耐性検査を実施していることが判明し、そのうち 26～36 地研がサルモネラ、EHEC、カンピロバクターヒト由来株の耐性検査を、17～23 地研がそれらの食品由来株の耐性検査を、それぞれ実施していることが明らかにされた。薬剤耐性検査件数についても、食中毒・感染性胃腸炎起因菌のヒト由来株については約 10,000 件、同食品由来株については約 3,000 件の耐性検査が 3 年間で実施されていることが判明した。また、全国の地研で保有・保管されている食品由来薬剤耐性菌

株は 3,500 株以上あると推定された。

これらの結果から、地研において食品由来菌の薬剤耐性検査が相当な規模で実施されていることが明らかにされた。これらの検査に要する費用は、主に地研が所属する自治体の研究予算から、また、一部は外部研究費や行政検査予算から拠出されていた。

JANIS 及び JVARM には食品由来薬剤耐性菌の情報は含まれないことから、環境—動物—食品—ヒトを包括するワンヘルス・アプローチにおいて、地研における食品由来菌の耐性データは重要である。JANIS 及び JVARM は、それぞれ病院及び動物由来耐性菌データベースであるが、地研での食品由来薬剤耐性菌の情報はデータベースとして一元化されていない。今後、三者のデータをナショナルサーベイランスとして統合するためには、すでに開発が進められている JANIS-JVARM 相互変換ソフトを参考に、地研データフォーマットを作成し JANIS に構築されたサブシステムに地研データを格納する等のシステムの開発が必要である。

E. 結論

地方衛生研究所におけるヒト及び食品由来菌の薬剤耐性検査の実態調査を行い、全国におけるこれらの菌株を対象とする薬剤耐性検査の実施地研数、耐性検査件数、耐性菌株の保有・保管数、耐性検査の実施形態が初めて明らかにされ、地研において食品由来菌の薬剤耐性検査が相当な規模で実施されていることが判明した。これらのデータは、環境—動物—食品—ヒトを包括するワンヘルス・アプローチにおいて重要であり、JANIS、JVARM とあわせ三者のデータを統合するシステムの開発が必要である。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 四宮博人, 勢戸和子, 川瀬 遵, 有川健太郎, 船渡川圭次, 鈴木匡弘, 久保田寛顕, 調 恒明: 地方衛生研究所における細菌学的検査・研究の最新事情. 日本細菌学雑誌 70(2):309-318, 2015.
- 2) 菅 美樹, 四宮博人, 北尾孝司: 市販鶏レバーおよび臨床材料から分離した基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ産生 *Escherichia coli* および *Klebsiella pneumoniae* が保有する *bla*_{CTX-M} 型別に関する検討. 感染症学雑誌 印刷中

2. 学会発表

- 1) 仙波敬子, 園部祥代, 木村俊哉, 大倉敏裕, 鳥谷竜哉, 四宮博人: 地研における薬剤耐性菌解析の取り組み、衛生微生物技術協議会第 36 回研究会、2015. 7. 23-24、仙台
- 2) 木村千鶴子, 仙波敬子, 園部祥代, 木村俊也, 四宮博人: 小児感染性胃腸炎患者から分離された腸管凝集付着性大腸菌の性状について、第 68 回日本細菌学会中国・四国支部総会、2105.10.3-4、岡山
- 3) Keiko Semba, Mayumi Yamashita, Sachiko Sonobe, Eiji Yokoyama, Tsuyoshi Sekizuka, Komei Shirabe, Makoto Kuroda, and Hiroto Shinomiya: Whole genome analysis of *Salmonella* isolates from foods and patients reveals their detailed relationships. シンポジウム 7 「ゲノム解析手法の最前線」、第 89 回日本細菌学会総会、2016.3.23-25、大阪 (予定)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

「食品由来薬剤耐性菌の発生動向及び衛生対策に関する研究」班アンケート

以下のアンケートの問い（全2頁）に対し、別紙回答用紙にお答えください。（ご回答いただいた地研名、自治体名は公表いたしません）

1. 地方衛生研究所における薬剤耐性菌検査について

- 1) 何らかの形で薬剤耐性菌の検査を実施したことがありますか。「はい」○または「いいえ」×でご記入ください。
- 2) 実施した経験のある地方衛生研究所（地研）にお聞きします。
 - a. 実施対象菌に○、非対象菌に×をご記入ください。（下記①～③別に回答）実施対象菌については、検査件数とそのうちの陽性①届出基準を満たす菌、②と③1剤以上の薬剤に耐性を示す菌、とする件数をご記入ください。また、表1-2)-a-②、③の陽性件数のうち、基質特異性拡張型βラクタマーゼ産生菌（ESBL）及びAmpC型βラクタマーゼ産生菌（AmpC）と判定したものがあれば件数を記入してください。なお、ここでの件数とは、2012年～2014年の合計菌株数とします。
 - ① 感染症法で規定される薬剤耐性菌
 - ② 食中毒／感染性胃腸炎起因菌等（ヒト、食品、動物、環境由来菌を含む）（食品には、食中毒に伴う調査及び食品の食中毒菌汚染実態調査等を含む）
 - ③ 上記①、②以外の菌（6つ以上の場合は行を加えてください）
 - b. 実施方法についてお聞きします。対象菌別に回答欄の①、②、③に○または×でご記入ください。
 - ① 薬剤感受性試験を実施した。
 - ② ディスクを用いた薬剤耐性機構のスクリーニング検査を実施した。
 - ③ 耐性遺伝子の解析を実施した。
 - c. 薬剤感受性試験（b-①）を実施した地研に方法の詳細をお聞きます。対象菌別に実施した方法に○、実施していない方法に×をご記入ください。
 - ・ディスク拡散法
 - ・微量液体希釈法（手作業 or 自動分析機）
 - ・E-test
 - ・その他（内容をご記入ください）
 - d. 薬剤感受性試験に使用した薬剤についてお聞きします。使用したものに○、しないものに×、表にないものは「その他」に薬剤名を記入してください。（①感染症法で規定される薬剤耐性菌、②食中毒・感染性胃腸炎起因菌等/一般食品由来株、③動物由来株 別に回答）
 - e. 耐性遺伝子の解析を実施した地研に聞きます。
 - ・耐性菌名と耐性遺伝子名をご記入ください。

- ・解析方法をご記入ください。(PCR、DNA シーケンスなど)
- 3) 薬剤耐性菌検査の実施形態は以下のどれでしょうか。実施に○、非実施に×をご記入ください。対象となった耐性菌については、1-2)-a①、②、③に示す対象菌名でお答えください。
- ・行政検査
 - ・依頼検査 (1 他の自治体から、2 民間から、3 その他)
 - ・研究的取組 (外部研究費、内部研究費)
 - ・その他 (内容をご記入ください)
- 4) 1) で「×」と答えた地研に聞きます。今後、薬剤耐性菌検査を整備する予定はありますか。○、× または 不明でご記入ください。

2. 地方衛生研究所で保有・保管している細菌株/薬剤耐性菌株について

該当欄に○を付けて下さい。

- 1) 現在保有・保管している感染症法で規定される薬剤耐性菌株の概数
- 2) 現在保有・保管している食中毒／感染性胃腸炎起因菌等 (ヒト、食品、動物、環境由来菌を含む) の菌株の概数
- 3) 2)のうち、薬剤耐性菌株 (1 剤以上に耐性を示す菌) の概数
- 4) 上記 1)、3) 以外で現在保有・保管している薬剤耐性菌 (1 剤以上に耐性を示す菌) の菌種名 (記入) と菌株数の概数

3. 地方衛生研究所において薬剤耐性菌の検査を実施することについて、問題点、ご意見等があればお書きください。

図1

何らかの形で薬剤耐性菌の検査を実施したことがあるか

N = 75 (回答率 = 93.8%)

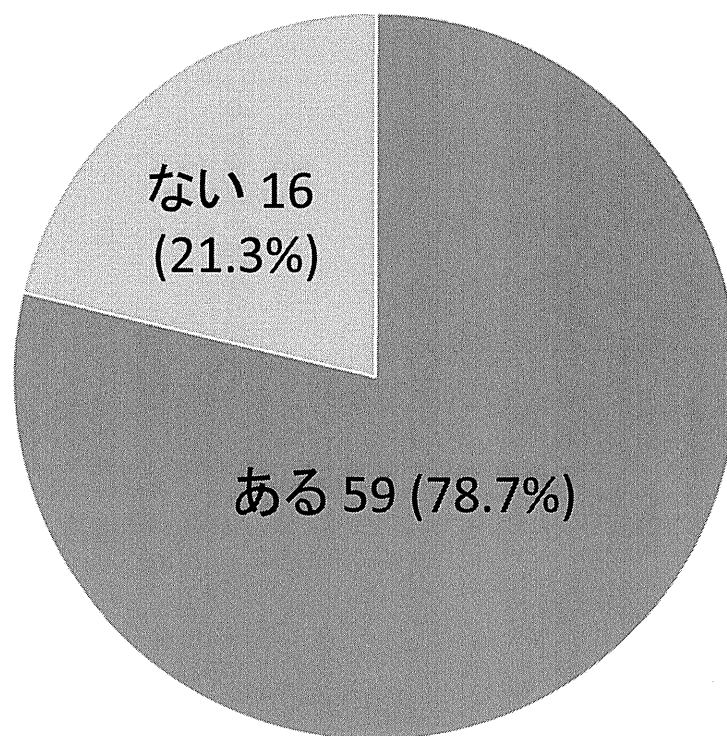


図2

薬剤耐性菌検査の実施対象(地研数)

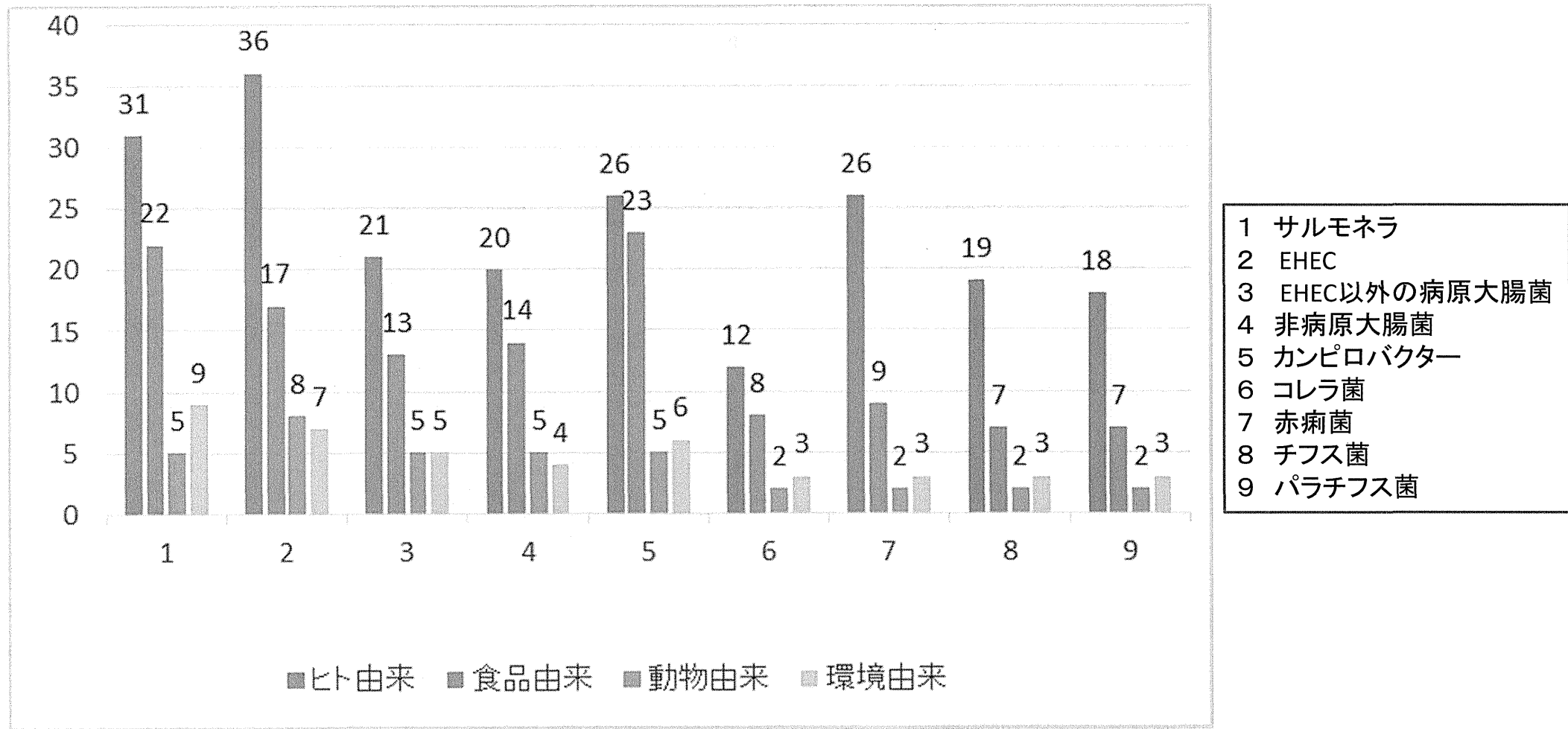
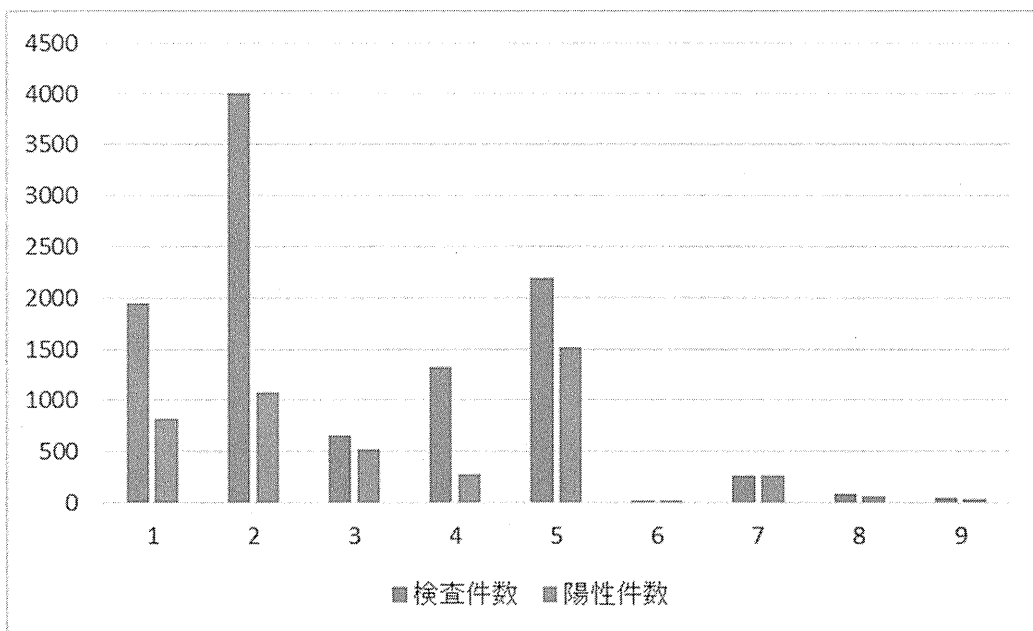


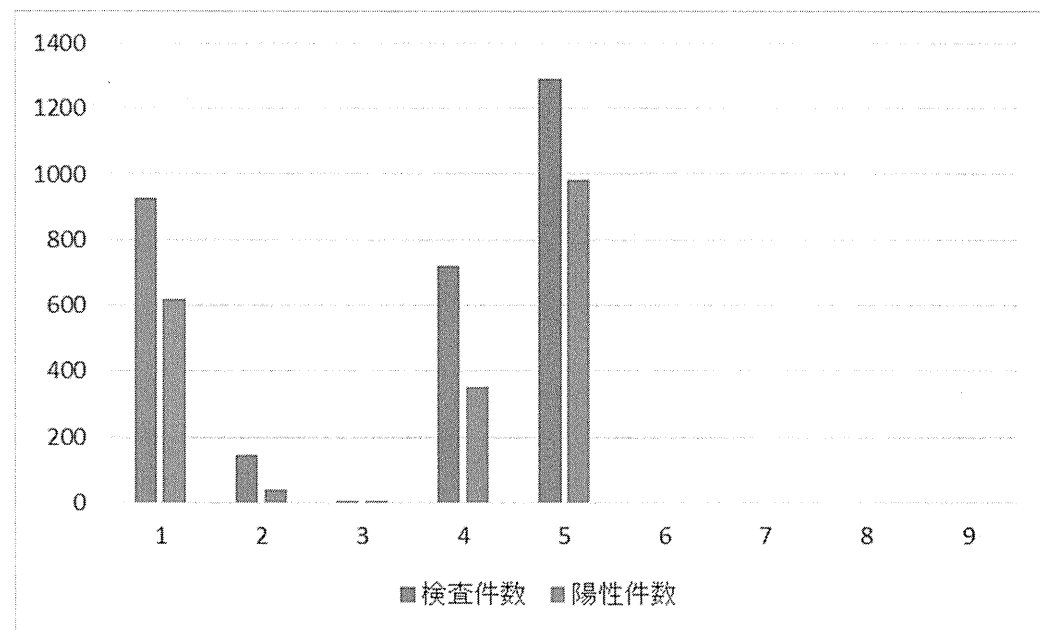
図3

地研における薬剤耐性菌検査件数(全国 2012年～2014年)

ヒト由来菌



食品由来菌



- 1 サルモネラ
- 2 EHEC
- 3 EHEC以外の病原大腸菌
- 4 非病原大腸菌
- 5 カンピロバクター

- 6 コレラ菌
- 7 赤痢菌
- 8 チフス菌
- 9 パラチフス菌

表1

薬剤感受性試験(ディスク拡散法)に用いた薬剤 (表内数字は実施地研)

	ABP C	CTX	GM	KM	SM	TC	NA	ST	CP	FO M	CPF X	NFL X	OFL X	Su	AM K	IPM	ME PM	EM
サルモネ ラ	26	26	23	25	20	26	22	20	24	23	22	15	2	8	6	11	7	5
EHEC	29	32	25	27	23	29	27	26	30	30	26	12	3	6	9	13	12	3
EHEC以外 の病原大 腸菌	14	14	12	14	10	14	13	13	15	15	13	7	2	4	5	8	6	2
非病原 大腸菌	15	18	14	14	11	14	13	14	15	15	13	7	3	3	6	10	7	2
カンピロ バクター	10	5	6	8	7	20	27	4	9	9	21	23	19	0	1	5	1	20
コレラ菌	4	3	3	4	3	4	4	3	5	4	3	3	0	1	2	2	2	1
赤痢菌	19	19	13	17	17	19	18	16	20	19	15	13	0	3	6	7	6	1
チフス菌	12	11	10	11	11	12	12	9	13	11	10	8	0	4	5	6	5	2
パラチフ ス菌	12	12	10	11	11	12	12	10	13	12	11	8	0	4	5	6	5	1

表2

薬剤耐性菌検査の実施形態

(表内数字は実施地研)

実施形態	行政検査	依頼検査			研究的取り組み		その他
		民間	他自治体	その他	外部研究費	内部研究費	
内訳	41	3	5	3	9	36	4
合計数	41 CRE(17), VRE(18), MDRA(5), MRSA(4), サルモネラ(5), EHEC(7), カンピロ(5)	11 CRE(1), VRE(5), MDRA(1), MRSA(3), サルモネラ(0), EHEC(1), カンピロ(0)			45 CRE(6), VRE(3), MDRA(4), MRSA(4), サルモネラ(16), EHEC(11), カンピロ(13)		4

表3 地研における薬剤耐性菌保有・保管数(推定)

菌種	菌株を保有する地研数				推定保有菌株数(全国)	
	ヒト由来株		食品由来株		ヒト由来株	食品由来株
	10～100	>100	10～100	>100		
サルモネラ	16 (12)*	45 (12)	26 (9)	20 (7)	5300 (1800)	3300 (1150)
EHEC	6 (13)	56 (15)	12 (5)	3 (0)	5900 (2150)	900 (250)
EHEC以外の病原大腸菌	31 (6)	21 (6)	8 (3)	2 (1)	3650 (900)	600 (250)
非病原大腸菌	26 (11)	13 (5)	15 (7)	3 (2)	2600 (1050)	1050 (550)
カンピロバクター	23 (13)	37 (12)	30 (10)	14 (8)	4850 (1850)	2900 (1300)
コレラ菌	29 (2)	6 (1)	1 (0)	0 (0)	2050 (200)	50 (0)
赤痢菌	38 (9)	14 (6)	0 (0)	0 (0)	3300 (1050)	0 (0)
チフス菌	21 (4)	5 (1)	0 (0)	0 (0)	1550 (300)	0 (0)
パラチフス菌	16 (3)	3 (2)	0 (0)	0 (0)	1100 (350)	0 (0)

* 括弧内は薬剤耐性菌を示す

表 4 サルモネラ分離株の薬剤耐性状況

亜種	O型別	血清型	耐性薬剤	由来				計	
				患者	市販食材	豚	爬虫類		
I	O4	<i>S.</i> Abony	-				1	1	
		<i>S.</i> Agona	TC	1				1	
		<i>S.</i> Derby	ABPC,SM,TC			1		1	
			SM,ST			1		1	
			SM,TC			1		1	
			-			5		5	
		<i>S.</i> Heidelberg	NA	1				1	
		<i>S.</i> Paratyphi-B	TC	2				2	
			-	3				3	
		<i>S.</i> Saintpaul	-	7			1	8	
		<i>S.</i> Sandiego	-				1	1	
		<i>S.</i> Schwarzengrund	SM,TC	1	4			5	
			SM,TC,KM		1			1	
			SM,TC,KM,ST		2			2	
			SM,TC,ST		1			1	
		<i>S.</i> Typhimurium	ABPC,CP	1				1	
			ABPC,CP,SM,TC	1				1	
			ABPC,CP,SM,TC,ST			4		4	
			ABPC,SM,TC,NA			3		3	
			SM			1		1	
			SM,TC	1		13		14	
			SM,TC,ST			1		1	
			-	4		5		9	
		型別不能	ABPC,CP,SM,TC,NA,CTX,CAZ	1				1	
	O7	<i>S.</i> Bareilly	-	1				1	
		<i>S.</i> Braenderup	KM	1				1	
			-	2				2	
		<i>S.</i> Choleraesuis	ABPC,CP,SM,TC,KM,NA	1				1	
		<i>S.</i> Infantis	ABPC,CAZ		1			1	
			ABPC,SM,TC		1			1	
			ABPC,SM,TC,KM		1			1	
			SM,TC,KM	3	6			9	
			SM,TC,KM,ST	1	2			3	
			KM		2			2	
			SM	1				1	
			SM,TC	5	8			13	
			SM,TC,KM	1	1			2	
			SM,TC,KM,ST		5			5	
			SM,TC,ST	2	2			4	
			TC	1				1	
		-	17		10		27		
		<i>S.</i> Mbandaka	-	1				1	
		<i>S.</i> Montevideo	-	2				2	
		<i>S.</i> Oranienburg	-	3				3	
		<i>S.</i> Richmond	-				1	1	
		<i>S.</i> Thompson	-	3	1		5	9	
		O8	<i>S.</i> Virchow	TC,ST	2				2
			-	5				5	
型別不能	-		1				1		
<i>S.</i> Bovismorbificans	-					1	1		
<i>S.</i> Corvallis	-		3				3		
<i>S.</i> Hadar	SM,TC,KM			1			1		
<i>S.</i> Litchfield	-		1				1		
<i>S.</i> Manhattan	SM,TC			7			7		
	SM,TC,NA			1			1		
<i>S.</i> Muenchen	-					2	2		
<i>S.</i> Newport	-		1		1	1	3		
O9	<i>S.</i> Enteritidis		NA	3				3	
		SM	1				1		
		-	44				44		
	<i>S.</i> Javiana	-				1	1		
	<i>S.</i> Miami	-				1	1		
	<i>S.</i> Panama	-			2		2		
O3,10	<i>S.</i> Falkensee	-	1				1		
O11	<i>S.</i> Rubislaw	-				1	1		
O13	<i>S.</i> Poona	-	2				2		
O17	<i>S.</i> Matadi	-				2	2		
O18	<i>S.</i> Cerro	-	3				3		
OUT	<i>S.</i> OUT	SM,TC,KM		1			1		
III	-	-	6			1	7		
	-	-				1	1		
	-	-				2	2		
IV	-	-				3	3		
	-	-							
	-	-							
計	-	耐性株数	31	47	25	2	105		
	-	分離株数	141	48	48	25	262		
	-	(%)	22.0	97.9	52.1	8.0	40.1		

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 27 年度 分担研究報告書

食品由来薬剤耐性菌の発生動向及び衛生対策に関する研究

分担課題 ヒトおよび食品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)
	尾畑 浩魅	(東京都健康安全研究センター微生物部)
	赤瀬 悟	(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)
	西野由香里	(東京都健康安全研究センター微生物部)
	平井 昭彦	(東京都健康安全研究センター微生物部)

研究要旨

輸入鶏肉および国産鶏肉由来大腸菌について薬剤耐性菌出現状況を調べた結果、輸入鶏肉由来株で耐性率が 50%を超えている薬剤は SM, TC, Su の 3 薬剤であったが、国産鶏肉では TC のみであった。フルオロキノロン (CPFX) に耐性を示したのは輸入鶏肉で 17.8% (2011 年), 29.7% (2015 年), 国産鶏肉では 16.6% (2012 年), 6.5% (2015 年) であった。ESBL 産生菌は輸入鶏肉 から 47 株 (20.6%), 国産鶏肉から 15 株 (5.0%) 分離された。

健康者糞便由来の 297 株について薬剤感受性試験を実施した結果、供試した薬剤に 1 薬剤以上耐性を示した株の割合は 46.1%であった。CTX 耐性株は 8.1%, CPFX 耐性は 11.1%であった。今後、これらの株については、ESBL 産生菌あるいは AmpC 産生菌の確認を行う予定である。

食品およびヒト糞便由来サルモネラの薬剤耐性率は、食品由来が 90.5%, ヒト由来が 39.2%であった。食品由来株の多くは鶏肉および鶏内臓肉由来である。食品とヒト由来株の両方で多く検出された血清型は 07 群 Infantis, 04 群 Schwarzengrund, 04 群 Agona の 3 血清型であった。それぞれの血清型菌の耐性率を比較すると、Infantis では食品由来 90.7%, ヒト由来 82.4%, Schwarzengrund では食品由来 91.7%, ヒト由来 100%, Agona では食品由来 100%, ヒト由来 80%と共に薬剤耐性率は高かった。

臨床分離株の薬剤耐性モニタリング事業 (JANIS) で収集されたデータは非常に膨大で多種類に渡るが、ヒト糞便由来サルモネラの薬剤感受性試験データが少ないということから、今回、血清型ごとに薬剤感受性試験結果をまとめた。分離数の少ない血清型菌については十分なデータを示すことが困難であったことから、来年度以降も同様にデータの収集を行い、薬剤耐性菌の出現動向を調べる必要があると考えられた。

A. 研究目的

近年、抗菌薬に対する耐性菌の出現が世界的な問題として取り上げられ、薬剤耐性菌対策が国際的な課題となっている。医療の現場でも耐性菌による院内感染がたびたび発生し、問題となっている。今後、薬剤耐性を獲得した下痢症起因菌等の病原菌が拡大・蔓延すれば、治療が極めて困難となり、人の生命を脅かす脅威となる。耐性菌の拡大の防止、あるいは耐性菌対策を構築するためには、現状を正確に把握することが重要である。そこで今回、ヒトおよび食品から高頻度に分離され

る大腸菌およびサルモネラについて、薬剤耐性菌出現状況を調べた。

B. 研究方法

1. 鶏肉から分離された大腸菌の薬剤耐性菌出現状況

1) 鶏肉からの大腸菌分離方法

2011~2012 年および 2015 年に都内で流通した輸入鶏肉 106 検体、国産鶏肉 116 検体の合計 222 検体を供試した。鶏肉 25 g に普通ブイヨン 30ml を加えストマッキング処理を行った後、その

0.1ml を XM-G 寒天培地（日水製薬）に滴下し塗抹分離培養を行った（直接法）。また鶏肉 25g に緩衝ペプトン水 225ml を加え、35℃で 18 時間培養した後、XM-G 寒天培地に塗抹分離を行った（増菌法）。培養後 XM-G 寒天培地に発育した大腸菌様集落 1～3 集落について生化学的性状試験を行い、大腸菌と同定した。

2) 分離された大腸菌の薬剤感受性試験

輸入鶏肉から分離された大腸菌 228 株（2011 年：191 株、2015 年：37 株）および国産鶏肉由来の 302 株（2012 年：163 株、2015 年：139 株）を供試した。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（SXT）、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（Su）、ホスホマイシン（FOM）、アミカシン（AMK）、イムペネム（IPM）、メロペネム（MEPM）の 17 薬剤を供試し、米国臨床検査標準委員会（CLSI）の方法に従い、センシディスク（BD）を用いた KB 法で薬剤感受性を調べた。CTX に対して R（耐性）または I（中間）であった株について AmpC/ESBL 鑑別ディスク（関東化学）を用いて ESBL 産生菌および AmpC 産生菌のスクリーニング試験を行った。ESBL 産生菌あるいは AmpC 産生菌と判定された菌株については、それぞれの遺伝子型を決定した。ESBL 産生菌の遺伝子型は Shibata ら（Antimicrob. Agents Chemother. 50, 791-795, 2006）および Yagi ら（FEMS Microbiol. Lett. 184, 53-56, 2000）のプライマーを用い、AmpC 産生菌については Javier ら（J. Clin. Microbiol. 40, 2153-2162, 2002）のプライマーを用いた。

2. 健康者から分離された大腸菌の薬剤耐性菌出現状況

2015 年 6 月～12 月に当センターに搬入された健康者成人 297 名の糞便から分離された大腸菌 297 株を供試した。これらの菌株を対象に上記 17 薬剤に対する耐性率を調べた。

3. 食品およびヒト糞便から分離されたサルモネラの薬剤耐性菌出現状況

1) 供試菌株

2015 年に食品から分離された 148 株およびヒトから分離された 125 株を供試した。集団事例由来株は代表株 1 株を計上した。

2) 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験に用いる薬剤は、埼玉県衛生研究所と共通の薬剤を用いた。すなわち ABPC, GM, KM, SM, TC, SXT, CP, CTX, Su, FOM, NA, CPFX,

NFLX, AMK, IPM, MEPM の 16 薬剤である。

C. 研究結果

1. 鶏肉から分離された大腸菌の薬剤耐性菌出現状況

輸入鶏肉および国産鶏肉由来大腸菌の薬剤感受性試験結果を図 1 に示した。輸入鶏肉で耐性率が 50%を超えている薬剤は SM, TC, Su の 3 薬剤であったが、国産鶏肉では TC のみであった。

輸入鶏肉由来株のフルオロキノロン耐性株について分離年で比較すると、NA 耐性：46.6%→51.4%, CPFX 耐性：17.8%→29.7%, OFLX 耐性：17.3%→29.7%, NFLX 耐性：16.2%→27.0%といずれも耐性率が増加していた。

一方、国産鶏肉で CPFX に耐性を示したのは 16.6%（2012 年）、6.5%（2015 年）であった。

CTX に耐性（R）を示した株は輸入鶏肉で 97 株（42.5%）、国産鶏肉で 45 株（14.9%）あり、このうち ESBL 産生菌であったのは輸入鶏肉 47 株、国産鶏肉 15 株であった。遺伝子型をみると、輸入鶏肉では CTX-M-2 group が 23 株（48.9%）、CTX-M-9 group が 16 株（30.4%）、CTX-M-8 group 3 株（6.4%）、TEM 型 4 株（8.5%）、SHV 型 1 株（2.1%）であった。国産鶏肉では CTX-M-1 group が 6 株（40%）、CTX-M-2 group が 4 株（26.7%）、CTX-M-9 group が 3 株（20%）、SHV および TEM が各 1 株であった。

AmpC 産生菌は輸入鶏肉で 9 株、国産鶏肉で 8 株分離された。遺伝子型を調べた結果、輸入鶏肉由来は全て CMY-2、国産由来株は 7 株が CMY-2、1 株は不明であった（表 1）。

2. 健康者から分離された大腸菌の薬剤耐性菌出現状況

健康者糞便 297 名から分離された大腸菌 297 株について薬剤感受性試験を実施した結果、1 薬剤以上に耐性を示した菌株は 137 株（46.1%）であった。薬剤別耐性率をみると、最も耐性率が高かったのは APBC で 30%、次いで NA（24.6%）、Su（22.2%）、TC（21.2%）、SM（17.8%）、ST（14.4%）、CPFX（11.1%）、NFLX（10.4%）、CTX（8.1%）、CP（7.7%）、KM（6.7%）、GM（5.1%）、FOM（0.7%）の順で、AMK, IPM, MEPM は全て感受性であった（図 2）。

3. 食品およびヒトから分離されたサルモネラの耐性菌出現状況

供試した食品由来株 148 株のほぼ全てが、鶏肉および鶏内臓肉由来であった。供試した薬剤 16 薬剤中 1 薬剤以上耐性を示した株は 148 株中 134 株（90.5%）で、耐性率は非常に高かった（表 2）。血清群ごとに分離菌株数と耐性数をみると、O4 群

は 64 株中 57 株 (89.1%), 07 群は 67 株中 61 株 (91.0%), 08 群は 15 株中 15 株 (100%) 等であった。01, 3, 19 群 1 株に耐性は認められなかった。

一方、ヒト由来株 125 株のうち、1 薬剤以上に耐性を示した株は 49 株 (39.2%) で、食品由来株と比較して耐性率は低かった。血清群別では、04 群 53 株中 23 株 (43.4%), 07 群 28 株 14 株 (50%), 08 群 19 株中 5 株 (26.3%), 09 群 17 株中 5 株 (29.4%), 03, 10 群 4 株中 2 株 (50%) が耐性菌であった。013 群 3 株および 035 群 1 株に耐性菌は認められなかった。

食品およびヒト由来サルモネラの血清型別薬剤別耐性率を表 3 および表 4 に示した。食品由来株は 15 種類の血清型に、ヒト由来株は 36 種類の血清型に分類された。食品およびヒト由来株のいずれも、KM, SM, TC, Su の 4 薬剤の耐性が多かった。食品とヒト由来株の両方で多く検出される血清型は 07 群 *Infantis*, 04 群 *Schwarzengrund*, 04 群 *Agona* の 3 血清型であった。それぞれの耐性率を比較すると、*Infantis* では食品由来 90.7%, ヒト由来 82.4%, *Schwarzengrund* では食品由来 91.7%, ヒト由来 100%, *Agona* では食品由来 100%, ヒト由来 80% と共に薬剤耐性率は高かった。

一方、CPFX, NFLX, AMK, IPM, MEPM に対する耐性株は認められなかった。

D. 考察

都内で流通する鶏肉から大腸菌検出を試みた結果、2011 年～2015 年に購入した輸入鶏肉 106 検体から 228 株、2012 年～2015 年に供試した国産鶏肉 116 検体からは 302 株の大腸菌が分離された。輸入鶏肉の多くはブラジル産であった。分離された大腸菌を対象に 17 薬剤に対する薬剤感受性試験を実施した結果、輸入鶏肉では、SM, TC, Su に対する耐性率が高く、いずれも 50% を超えており、2011 年由来株と 2015 年由来株と比較してもその傾向は変わらなかった。ESBL 産生株は、2011 年 19.4%, 2015 年 27.0% と上昇していた。フルオロキノロン耐性株について分離年で比較すると、NA 耐性: 46.6%→51.4%, CPFX 耐性: 17.8%→29.7%, OFLX 耐性: 17.3%→29.7%, NFLX 耐性: 16.2%→27.0% といずれも耐性率が増加していた。耐性率が増加した理由は不明であるが、抗菌薬使用状況との関連も疑われる。

国産鶏肉由来株は、輸入鶏肉由来株と比較して全体的に耐性率は低く、耐性率が 50% 以上であったのは TC のみであった。ESBL 産生株の割合は、2013 年 5.5%, 2015 年 4.3% と減少した。通常、治療薬として鶏に第三世代セフェム系薬剤を使用することはない。しかし、肉用鶏 (ブロイラー) の飼育現場で行われている発育鶏卵中の胎児に

ワクチンを使用する過程で、第三世代セフェム系薬剤であるセフトロフルが使用されている実態が明らかとなっている。2012 年 3 月、自主的に本薬剤の使用を規制したことから、それ以降の耐性率が低下しているとの報告がある。今回の調査でも 2013 年に比べて 2015 年の耐性率が減少したのは、規制による効果であると考えられる。同様にフルオロキノロン系薬剤についても耐性率は下がっていることが明らかとなった。一方、KM の耐性率は 25.8% (2012 年) から 46.8% (2015 年) に増加していた。

健康者糞便由来の 297 株について薬剤感受性試験を実施した結果、供試した薬剤に 1 薬剤以上耐性を示した株の割合は 46.1% であった。CTX 耐性株は 8.1%, CPFX 耐性は 11.1% であった。今後、これらの株については、ESBL 産生菌あるいは AmpC 産生菌の確認を行う予定である。

食品およびヒト糞便由来サルモネラの薬剤耐性率は、食品由来が 90.5%, ヒト由来が 39.2% であった。食品由来株の多くは鶏肉および鶏内臓肉由来である。薬剤別耐性率も、食品由来とヒト由来で同じような傾向を示すことから、関連性が疑われた。NA 耐性株は食品由来株で 15 株 (10.1%), ヒト由来株では 5 株 (1.6%) であったが、CPFX 耐性株はいずれにおいても認められなかった。CTX 耐性株は食品由来株で 4 株、ヒト由来株では 1 株であった。今後これらの株についても遺伝子型等、精査を行っていく予定である。

臨床分離株の薬剤耐性モニタリング事業 (JANIS) で収集されたデータは非常に膨大で多種類に渡るが、ヒト糞便由来サルモネラの薬剤感受性試験データが少ないということから、今回、各血清型ごとに薬剤感受性試験をまとめた。分離数の少ない血清型菌については十分なデータを示すことが困難であったことから、来年度以降も同様にデータの収集を行い、薬剤耐性菌の検出動向を調べる必要があると考えられた。

E. 結論

輸入鶏肉および国産鶏肉由来大腸菌について薬剤耐性菌出現状況を調べた結果、輸入鶏肉由来株で耐性率が 50% を超えている薬剤は SM, TC, Su の 3 薬剤であったが、国産鶏肉では TC のみであった。フルオロキノロン (CPFX) に耐性を示したのは輸入鶏肉で 17.8% (2011 年), 29.7% (2015 年), 国産鶏肉では 16.6% (2012 年), 6.5% (2015 年) であった。ESBL 産生菌は輸入鶏肉 から 47 株 (20.6%), 国産鶏肉から 15 株 (5.0%) 分離された。

健康者糞便 297 名から分離された大腸菌 297 株中 1 薬剤以上に耐性を示した菌株は 137 株 (46.1%) で薬剤耐性率は高かった。最も耐性率

が高かった薬剤は ABPC (30%) であった。

食品由来サルモネラのうち 1 薬剤以上耐性を示した株は 134 株 (90.5%) で、耐性率は非常に高かった。一方、ヒト由来株では 49 株 (39.2%) であった。食品とヒトの両方から多く検出される血清型は 07 群 Infantis, 04 群 Schwarzengrund, 04 群 Agona で、共に薬剤耐性率は高かった。また薬剤別耐性率も食品、ヒトの各由来株でその傾向が同じであることから、両者の共通性が示唆された。

F. 健康危険情報

検出されるサルモネラのうち、食品とヒトの両方から検出される血清型では、薬剤耐性率の動向に注意が必要である。

ヒト健康人の糞便から検出される大腸菌の薬剤耐性菌出現状況に注視していく必要がある。

G. 研究発表

学会発表

- 1) 西野由香里, 下島優香子, 井田美樹, 石塚理恵, 黒田寿美代, 吉原祥子, 甲斐明美, 平井昭彦, 貞升健志: 鶏肉由来大腸菌の薬剤感受性, 第 36 回日本食品微生物学会学術総会, 2015 年 11 月, 川崎市

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

図1. 鶏肉から分離された大腸菌の薬剤感受性試験結果

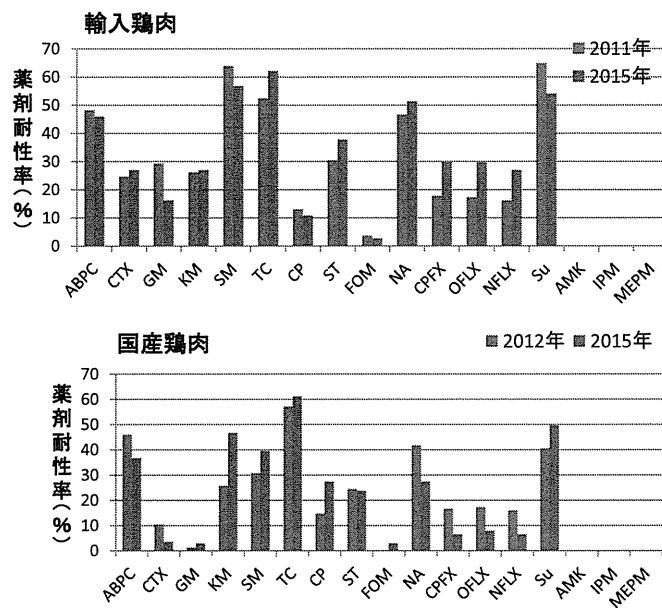


表1. βラクタマーゼ産生菌の分離状況と遺伝子型

	由来	年度	菌株数	ESBL (%)	AmpC (%)
	輸入	2011	191	37 (19.4)	9 (4.7)
		2015	37	10 (27.0)	1 (2.7)
	国産	2012	163	9 (5.5)	8 (4.9)
		2015	139	6 (4.3)	1 (0.7)

由来	年度	菌株数	ESBL					AmpC		不明		
			菌株数	CTX-M(グループ)				SHV	TEM		菌株数	CIT CMY-2
				-1	-2	-8	-9					
輸入	2011	191	37		20		16	1		8	8	
	2015	37	10	1	3	3			4	1	1	
国産	2012	163	9	4	2		2	1		7	7	
	2015	139	6	2	2		1		1	1	1	