



図2. 健康者糞便由来大腸菌の薬剤別耐性率, 2015年
 供試数: 297名 耐性菌検出者数: 137名 (46.1%)

表2. 東京都で分離されたサルモネラの薬剤耐性率 (2015年)

血清群	食品			ヒト糞便		
	供試菌株	耐性数	(%)	供試菌株	耐性数	(%)
O4	64	57	(89.1)	53	23	(43.4)
O7	67	61	(91.0)	28	14	(50.0)
O8	15	15	(100)	19	5	(26.3)
O9				17	5	(29.4)
1,3,19	1					
O3,10				4	2	(50.0)
O13				3	0	
O35				1	0	
OUT	1	1	(100)			
計	148	134	(90.5)	125	49	(39.2)

平成 27 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：「食品由来薬剤耐性菌の発生動向及び衛生対策に関する研究」

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

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	斉藤守弘	埼玉県食肉衛生検査センター
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

ヒトの健康に危害を与える可能性がある薬剤耐性菌の動向を把握するため、ヒトや食品等の環境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・イヌ・ネコ糞便および食品を対象に ESBL 産生菌の検索を行った。

埼玉県内で 2015 年に分離され、供試したヒト（散发下痢症例及び健康保菌者）由来サルモネラは 139 株で 37 血清型に型別された。薬剤耐性では 44 株（31.7%）が供試した 16 薬剤のいずれかに対して耐性を示したが、第 3 世代セフェム系薬剤の CTX やフルオロキノロン剤に耐性を示す株はなかった。動物由来株は、イヌ 128 頭、ネコ 49 頭および野生アライグマ 168 頭の検査を行い、アライグマ 1 頭からサルモネラが分離されたが、感受性株であった。イヌとネコの ESBL 産生菌の検索では 12 株分離された。

赤痢菌では、供試した *S. sonnei* 4 株中 2 株がフルオロキノロン耐性で、バングラデシュ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 137 株が分離され、薬剤感受性試験では、137 株中 20 株（14.6%）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 38 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食肉、野菜等 105 検体を供試し、サルモネラは鶏肉等 39 検体中 5 検体から、カンピロバクターは鶏肉等 39 検体中 7 検体、

ESBL 産生菌は鶏肉 6 検体中 2 検体と鶏レバー4 検体中 2 検体から分離された。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 37 検体中 10 検体から、サルモネラは 3 検体から分離された。

A. 研究目的

近年、ヒトの健康に危害を与える可能性がある耐性菌をコントロールするために、国際的な耐性菌対策への行動計画が求められるようになってきている。そこで、耐性菌情報の提供を目的として、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等に対して抵抗を示す耐性菌のヒトや環境からの分離状況を調査し、分離菌の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・イヌ・ネコ糞便および食品を対象に 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 (ビオメリュー社製) 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汚染調査に供した。また、食肉等からの ESBL 産生菌の検索も行った。

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 (CPF; 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 μg)、アミカシン(AMK:30 μg)、メロペネム(MEPM:10 μg)、スルフィンキサゾール(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2015年に、散発下痢症患者およ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139株は型別不能を除き、37血清型に型別され、*S. Infantis*が18株と最も多く分離され、次いで*S. Chester*が15株であった。

分離株について薬剤感受性試験を実施した結果、供試した139株のうち44株(31.7%)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. Infantis*は18株中9株(50.0%)が耐性を示したが、*S. Chester*の耐性株は供試15株中2株(13.3%)であった。薬剤別の耐性状況を表2に示した。耐性44株中32株がTC耐性で、次いでSM耐性が26株、Su耐性が25株であった。

分離株の区分別耐性パターンを表3に示す。SM・TC・Su耐性が9株と最も多く、次いでTC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15株分離された。しかし、第3世代セフェ

ム系薬剤であるCTXやフルオロキノロン耐性株の分離はなかった(表3)。

(2) 動物由来サルモネラ

イヌ、ネコおよび野生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128頭、ネコ49頭のいずれからもサルモネラは分離されなかった。野生アライグマは168頭中1頭(0.6%)から分離され、血清型は*S. Agona*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。

(3) 動物由来ESBL産生菌

ESBL産生菌の検索ではイヌ128頭中10頭(7.8%)から10株、ネコ49頭中2頭(4.1%)から2株分離され、菌種は全て*E. coli*であった(表5)。イヌ由来株では4株がCTX-M-8group、6株がCTX-M-9groupの耐性遺伝子を、ネコ由来株は2株とも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2株、ネコ由来で2株確認された。

(4) 赤痢菌

赤痢菌では、供試した*S. sonnei*4株中2株がフルオロキノロン耐性でバングラデシュへの渡航歴のある患者からの分離であった。

(5) 腸管出血性大腸菌

埼玉県内で2015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137株で最も多く分離された血清型は、O157:H7が69株、次いでO26:H11が48株であった。分離137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20株(14.6%)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、最も多かったのはSM・ABPC・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38検体中6検体から6株が分離された(表8)。菌種は全て*E. coli*で、CTX-M-9groupおよびCTX-M-1group保有株がそれぞれ3株ずつであった。ディスク法による感受性試験では、CTX-M-1group保有3株中2株、CTX-M-9group保有3株中2株がCTXのみならずフルオロキノロン剤に耐性を示した。

(8) カンピロバクター

2015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43株で、*C. jejuni*は40株、*C. coli*は3株であった(表9)。薬剤感受性試験は、*C. jejuni*は40株中18株(45.0%)、*C. coli*は3株全て(100.0%)が供試した6薬剤のいずれかに耐性を示した。また、*C. jejuni*の耐性18株中16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

2015年6月から2016年1月にかけて、埼玉県内の市場等で食肉、食鳥肉、内臓肉および漬物、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、サルモネラは豚内臓肉3検体中1検体、鶏肉6検体中2検体および鶏レバー4検体中2検体から分離された。カンピロバクターは牛挽肉等食肉26検体中2検体、豚内臓肉3検体中1検体、鶏肉6検体中

2検体およびから鶏レバー4検体中2検体から分離された。腸管出血性大腸菌はいずれの検体からも分離されなかった(表10)。分離されたサルモネラの血清型は*S. Schwarzengrund*と*S. Infantis*であり、薬剤感受性では、いずれも3剤以上に耐性を示した(表11)。薬剤別では、SM耐性およびTC耐性がそれぞれ6株ずつ分離されたが、CTXやフルオロキノロン剤に対して耐性を示す株はなかった(表12)。また、カンピロバクターは豚内臓肉から分離された*C. coli*株を除き、*C. jejuni*であった。鶏肉および鶏レバーから分離された*C. jejuni*1株ずつがフルオロキノロン剤に対して耐性を示した(表13)。

食品からのESBL産生菌の検索では、購入した105検体から鶏肉や、加熱用カキなど30検体を供試した。ESBLは鶏肉6検体中2検体並びに鶏レバー4検体中2検体から分離された(表14)。菌種は全て*E. coli*で、CTX-M-9groupが2株、CTX-M-1groupおよびSHV保有株がそれぞれ1株ずつであった。ディスク法による感受性試験では、鶏肉から分離されたCTX-M-9group保有の1株がCTXのみならずフルオロキノロン剤に耐性を示した。ESBL産生菌が分離された鶏肉および鶏レバーはいずれも国産であった。

(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37検体中10検体から20株、サルモネラは3検体から5株分離された。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 15)。

D. 考察

ヒトの健康に危害を与える可能性がある薬剤耐性食中毒菌等の問題に対応するために、近年、国際的サーベイランス体制の確立が求められており、国内のヒトおよび食品など環境から分離される耐性菌の発生状況を把握する必要がある。埼玉県内におけるヒトおよび食品などから分離されるサルモネラと腸管出血性大腸菌では、第 3 世代セフェム系薬剤である CTX やフルオロキノロン剤耐性株の分離はなかった。しかし 2014 年まで、同様の調査でその耐性菌の分離があり、また 2015 年も ESBL 産生菌の分離で CTX のみならず、ディスク法でフルオロキノロン剤に耐性を示す株が分離されていることから、今後も監視を続け、更なる情報収集の強化を図る必要がある。

E. 結論

CTX やフルオロキノロン剤耐性株の分離はなかったが、過去の分離状況から考えて、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. 研究発表

なし

G. 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 (2015)

O血清型	血清型名	国内		海外	計
		有症者	無症者		
O4	S.Paratyphi B	1			1
	S.Stanley	1			1
	S.Schwarzengrund		2(1)		2(1)
	S.Saintpaul	1	7(3)		8(3)
	S.Chester	4(1)	11(1)		15(2)
	S.Agona		2(2)		2(2)
	S.Typhimurium	1(1)	2		3(1)
	S.Bredeney		1		1
	S.Heidelberg		1(1)		1(1)
	O4UT	3(1)	7(5)		10(6)
O7	S.Ohio		1(1)		1(1)
	S.Livingstone		3		3
	S.Braenderup	1	1		2
	S.Rissen		1(1)		1(1)
	S.Montevideo	1			1
	S.Oranienburg	1			1
	S.Thompson	2	5		7
	S.Virchow		5(1)		5(1)
	S.Infantis	1(1)	17(8)		18(9)
	S.Bareilly		2		2
	S.Mikawasima		1		1
	S.Mbandaka	2			2
	S.Tennessee	1	1		2
	O7UT	1	1(1)		2(1)
O8	S.Nagoya		6(1)		6(1)
	S.Newport	1	5		6
	S.Manhattan	4(3)	4(4)		8(7)
	S.Litchfield		3		3
	S.Corvallis	1(1)	2		3(1)
	S.Albany		1		1
	O8UT		1		1
O9	S.Typhi			1(1)	1(1)
	S.Enteritidis	8(2)	2(2)		10(4)
O3,10	S.Anatum	1	1		2
	S.Weltevreden		1		1
O1,3,19	S.Senfthenberg		1		1
O13	S.Worthigton		1(1)		1(1)
O16	S.Hvitvingfoss		1		1
O28	S.Pomona		1		1
O41	O41:Z ₄ Z ₂₃ Z ₃₂ :-	1			1
計		37(10)	101(33)	1(1)	139(44)

() : 薬剤耐性株数

表 2 ヒト由来サルモネラの薬剤別耐性株数 (2015)

O群	血清型	供試菌株数	耐性菌株数	各薬剤別耐性菌株数 (再掲)															
				ABPC	GM	KM	SM	TC	ST	CP	CTX	Su	FOM	NA	CPFX	NFLX	AMK	IPM	MEPM
4	Paratyphi B	1	0																
4	Stanley	1	0																
4	Schwarzengrund	2	1			1	1	1					1						
4	Saintpaul	8	3	1			1	2					1				1		
4	Chester	15	2					2											
4	Agona	2	2				2	2					2						
4	Typhimurium	3	1	1		1													
4	Bredeney	1	0																
4	Heidelberg	1	1	1				1					1					1	
4	O4UT	10	6	4			4	6					4						
7	Ohio	1	1																1
7	Livingstone	3	0																
7	Braenderup	2	0																
7	Rissen	1	1					1											
7	Montevideo	1	0																
7	Oranienburg	1	0																
7	Thompson	7	0																
7	Virchow	5	1																2
7	Infantis	18	9			6	8	8	1				8						
7	Bareilly	2	0																
7	Mikawasima	1	0																
7	Mbandaka	2	0																
7	Tennessee	2	0																
7	O7UT	2	1					1	1				1						
8	Nagoya	6	1					1											
8	Newport	6	0																
8	Manhattan	8	7				6	6					5						
8	Litchfield	3	0																
8	Corvallis	3	1				1	1					1						
8	Albany	1	0																
8	O8UT	1	0																
9	Typhi	1	1																
9	Enteritidis	10	4	1			3						1						
3,10	Anatum	2	0																
3,10	Weltevreden	1	0																
1,3,19	Senftenberg	1	0																
13	Worthington	1	1	1															
16	Hvittingfoss	1	0																
28	Pomona	1	0																
41	O41:z4,Z23,Z32:-	1	0																
	計	139	44	9		8	26	32	2				25						5

表 3 ヒトから分離されたサルモネラの薬剤耐性パターン (2015)

	国内		海外	計
	有症者	無症者		
供試菌株数	37	101	1	139
耐性株数 (%)	10 27.0%	33 32.7%	1 100.0%	44 31.7%
薬剤耐性パターン				
SM	3			3
TC	2	6		8
KM		1		1
ABPC		1		1
NA		4	1	5
KM・ABPC	1			1
SM・TC・Su	2	7		9
TC・ST・Su		1		1
SM・TC・KM・Su	1	4		5
SM・TC・ABPC・Su	1	4		5
SM・TC・NA・Su		2		2
SM・ABPC・NA・Su		1		1
TC・ABPC・NA・Su		1		1
SM・TC・KM・NA・Su		1		1

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，ST：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 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 (2015)

由来動物	検査数	検出数 (陽性率)	血清型名	薬剤耐性
イヌ	128	0 (0%)		
ネコ	49	0 (0%)		
アライグマ	168	1 (0.6%)	S.Agona	感受性

表 5 イヌ、ネコからのESBL分離状況 (2015)

由来動物	検査数	検出数 (陽性率)	保有耐性遺伝子 (株数)
イヌ	128	10(7.8%)*	CTX-M-8group(4) CTX-M-9group(6)
ネコ	49	2(4.1%)*	CTX-M-9group(2)

*E. coli

表 6 腸管出血性大腸菌の血清型と毒素型 (2015)

血清型	毒素型			計
	VT1	VT2	VT1&2	
O157:H7		31	38	69
O157:H-	1	10	2	13
O26:H11	22		26	48
O111:H-			1	1
O91:H14	1			1
O91:H-	1			1
O145:H-		1		1
O165:H-			1	1
O186:H2	2			2
	27	42	68	137

表 7 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 (2015)

	O157:H7	O157:H-	O26:H11	O91:H14	O91:H-	O145:H-	O165:H-	その他*	計
供試菌株数	69	13	48	1	1	1	1	3	137
耐性株数	11	1	4	1	1	1	1	0	20
(%)	15.9%	7.7%	8.3%	100.0%	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	14.6%
薬剤耐性パターン									
CP			1						1
NA	1								1
FOM			1						1
CP・TC							1		1
SM・ABPC		1							1
SM・Su			1						1
CP・ABPC・Su			1						1
SM・TC・Su				1	1				2
SM・ABPC・Su	5								5
SM・ST・Su	1								1
SM・TC・ABPC・Su	2								2
CP・SM・TC・ABPC・Su	2								2
CP・SM・TC・ABPC・NA・GM・ST・Su							1		1

*O111:H-(1),O186:H2(2)

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, CPM: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, ST: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 8 ヒトからのESBL分離状況 (2015)

検査数	検出数	菌種	保有耐性遺伝子 (株数)
38	6	<i>E. coli</i>	CTX-M-1group(3) CTX-M-9group(3)

表 9 ヒトから分離されたカンピロバクターの薬剤耐性パターン (2015)

	<i>C.jejuni</i>	<i>C.coli</i>
供試菌株数	40	3
耐性株数	18	3
(%)	45.0%	100.0%
薬剤耐性パターン		
TC	1	3
NA	1	
NA・CPFX・NFLX・OFLX	4	
TC・NA・CPFX・NFLX・OFLX	12	

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 10 食品からの食中毒菌分離状況 (2015)

検体の種類	検体数	STEC	サルモネラ	カンピロバクター
食肉*	26	0/26	0/26	2/26
内臓肉**	3	0/3	1/3	0/3
鶏肉	6	0/6	2/6	2/6
鶏レバー	4	0/4	2/4	2/4
魚介類	12	0/12	0/12	0/12
野菜	38	0/38	0/38	0/3
漬物	16	0/16	0/16	
計	105	0/105	5/105	7/54

*:牛挽肉・豚挽肉・牛豚挽肉・馬肉・豚肉
**:豚内臓肉

表11 食品からのサルモネラ分離状況 (2015)

検体	検体数	陽性検体数	血清型 (検出株数)	耐性パターン (検出数)
豚内臓肉	3	1	O4:d:-(1)	SM・TC・Su(1)
鶏肉	6	2	S.Infantis(2)	SM・TC・Su(1) SM・TC・KM・ST(1)
鶏レバー	4	2	S.Schwarzengrund(2)	SM・TC・KM(1) SM・TC・KM・ST(1)
			S.Infantis(1)	SM・TC・KM(1)

表 12 食品由来サルモネラの薬剤別耐性株数 (2015)

O群	血清型	供試菌株数	耐性菌株数	各薬剤別耐性菌株数 (再掲)														
				ABPC	GM	KM	SM	TC	ST	CP	CTX	Su	FOM	NA	CPFX	NFLX	AMK	IPM
4	Schwarzengrund	2	2		2	2	2	1										
	O4:d:-	1	1			1	1					1						
7	Infantis	3	3			2	3	3	1			1						
	計	6	6		4	6	6	2			2							

表13 食品からのカンピロバクター分離状況 (2015)

検体	検体数	陽性検体数	種 (検出数)	耐性パターン (検出数)
食肉	26	2	<i>C. jejuni</i> (2)	TC(1) 感受性(1)
豚内臓肉	3	1	<i>C. coli</i> (1)	TC(1)
鶏肉	6	2	<i>C. jejuni</i> (2)	NA・CPFX・NFLX・OFLX(1) 感受性(1)
鶏レバー	4	2	<i>C. jejuni</i> (2)	TC・NA・CPFX・NFLX・OFLX(1) TC(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 14 食品からのESBL分離状況 (2015)

検体	検査数	陽性数	保有耐性遺伝子 (株数)
鶏肉	6	2*	CTX-M-9group(2)
鶏レバー	4	2*	CTX-M-1group(1) SHV(1)

**E. coli*

表15 食鳥肉フキトリ検体からのサルモネラ・カンピロバクター分離状況 (2015)

区分	検体数	陽性検体数	陽性株数	薬剤感受性パターン (株数)
サルモネラ	37	3	5	KM・GM(5)
カンピロバクター	37	10	20	感受性(20)

分離されたサルモネラは*S. Infantis*
分離されたカンピロバクターはすべて*C. jejuni*

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 国内の市販鶏肉における ESBL 酸性大腸菌およびバンコマイシン耐性腸球菌 VRE の分布状況とその諸性状に関する研究

研究分担者	五十君 静信	国立医薬品食品衛生研究所	食品衛生管理部
研究協力者	石井 良和	東邦大学医学部	微生物・感染症学講座
	朝倉 宏	国立医薬品食品衛生研究所	食品衛生管理部
	山本 詩織	国立医薬品食品衛生研究所	食品衛生管理部

研究要旨

基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ (ESBL) 産生大腸菌は鶏肉からの分離が高いことが報告されており、鶏肉由来 ESBL 産生大腸菌が有するプラスミドがヒト腸管内に元來定着している大腸菌に伝播することで ESBL 産生菌の拡散に寄与している可能性が示唆されている。さらに、鶏肉からのバンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) の検出事例もあり、鶏肉が ESBL 産生菌並びに VRE のヒトへの伝播に最も重要な食品であるとされている。

本邦では、国産・輸入市販鶏肉を対象として ESBL 産生大腸菌および VRE の汚染実態を調査すると共に、ESBL 産生大腸菌株が保有するプラスミドの諸性状について検討を行った。その結果、ESBL 産生大腸菌が高率で検出され、その多くがヒト由来 ESBL 産生大腸菌で多く認められる ESBL 型であった。また、ESBL 産生遺伝子との関連が強く示唆されている IncI1 プラスミドを保有する傾向が認められ、本邦においてもこれらの関連性と共に接合伝達性プラスミドである可能性が示唆された。市販鶏肉が ESBL 産生大腸菌に汚染されていると共に、ヒトへの ESBL 産生大腸菌の伝播には鶏肉から高率に分離される ESBL 産生大腸菌が直接あるいはプラスミド等を介して関与している可能性を示唆するものであると考えられる。一方、VRE では、比較的高い陽性率が認められたものの、いずれも *vanC1* 遺伝子を保有する *E. gallinarum* であり、*vanA* 及び *vanB* 遺伝子を保有する *E. faecium* 及び *E. faecalis* は検出されなかった。

A. 研究目的

基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌は、第三世代セフェム系抗菌薬を分解する代表的な院内感染症起因菌の一つである。これまでに、環境、食品及びヒトからの ESBL 産生菌の分離に関する文献情報を調べ、食品を介した人への伝播に関する危害分析を行った。その結果から、鶏の ESBL 産生大腸菌が、鶏肉を通じヒトへの伝播に重要であることが判明した。また、ESBL 産生菌は、菌株自体の直接伝播ではなく、ESBL 産生遺伝子を含むプラスミドがヒト腸内細菌へ伝播することで ESBL 産生菌の拡散に

大きく寄与する可能性が示唆されている。

また、鶏肉は ESBL 産生菌だけではなく、バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) の保菌リスクも報告されている。国内の輸入鶏肉より VRE が検出された事例が報告されており、鶏肉を介して直接的にヒトへ伝播・拡散すると示唆されている。さらに、VRE はヒトへ伝播した後、ヒト腸管内に定着する可能性も危惧されている。

本邦では、国産・輸入市販鶏肉を対象として ESBL 産生大腸菌および VRE の汚染実態を調査すると共に、ESBL 産生大腸菌株が保有するプラスミドの諸性状について検討を

行った。

B. 研究方法

国内で市販される国産鶏肉及び輸入鶏肉を供試検体とし、ESBL 産生大腸菌（供試検体数 50 検体）又は VRE（17 検体）を分離した。なお、供試検体は、地域的なバイアスがかからないように配慮し、多系列の複数店舗から購入し、産地（都道府県）が特定されている若鶏もも肉に限定した。ESBL 産生大腸菌の分離には 1µg/mL セフトキシム含有マッコンキー寒天培地及びクロモアガー-ESBL を用い、VRE では 1µg/mL バンコマイシン含有 Enterococcosel 寒天培地 (BD) 及びクロモアガー・VRE スクリーン（関東化学）を用いた。分離された ESBL 産生大腸菌及び VRE 菌株は、薬剤感受性試験、耐性遺伝子型別及び PFGE 法による遺伝子型別に供した。また、ESBL 産生大腸菌については、プラスミドレプリコン型の同定とそのプラスミドサイズの推定も行った。

C. 研究結果

ESBL 産生大腸菌の陽性率は全体で 76.0% であり、国産・輸入鶏肉の別ではほぼ同等の陽性率を示した（表 1、有意差なし [$P>0.05$]）。ESBL 産生大腸菌は計 45 株分離され、国産鶏肉由来株では $bla_{CTX-M-1}$ 及び $bla_{CTX-M-15}$ の両遺伝子を保有する割合が 42.4% であり、輸入鶏肉由来株に比べ、高い傾向であった（図 1）。一方、輸入鶏肉由来株では、 $bla_{CTX-M-2}$ 遺伝子を保有する割合が 50.5% と高い傾向であった。保有する耐性遺伝子の傾向を、国内鶏肉と輸入鶏肉で比較したところ、有意な差は認められなかった ($P>0.05$)。耐性遺伝子を保有する菌株を対象として β ラクタム系以外の薬剤に対する感受性を調べたところ、テトラサイクリン耐性が 81.6% と最も多く、続いてカナマイシン耐性 (63.2%)、ストレプトマイシン耐性 (55.3%) であった（表 2）。フルオロキノロン系薬剤であるシプロフロキサシンでは、28.9% と比較的高い割合で耐性が認められた。これらの菌株の諸性状を比較したところ、購入店別または産地別による偏りは

認められなかった。さらに、分離菌株を PFGE 型別した結果、全体的に類似性は乏しく、各分離菌株は異なるものであることが示された（図 2）。プラスミドレプリコン型は、IncF が 64.4%、IncFIB が 55.5%、IncI1 が 31.1% 認められた（表 3）。 $bla_{CTX-M-1}$ 及び $bla_{CTX-M-15}$ を併せ持つ分離菌株では、IncI1 が 73.3% の割合で認められた。分離菌株が保有する IncI1 のプラスミドサイズはほぼ同等であり、100kb 前後であった（図 3）。

VRE はの陽性率は全体で 63.6% であり、国産・輸入鶏肉の別ではほぼ同等の陽性率を示した（表 4、有意差なし [$P>0.05$]）。しかし、分離された 22 株のほとんどが *E. gallinarum* であり、*vanC1* 遺伝子を保有していた（図 4）。*E. faecium* 及び *E. faecalis* は同定されず、*vanA* 及び *vanB* の両遺伝子も検出されなかった。分離菌株のバンコマイシンに対する MIC は、2~8µg/mL と低い傾向であった。また、バンコマイシン以外の薬剤に対する感受性を調べたところ、テトラサイクリン耐性が 95.5% と最も多く、続いてカナマイシン耐性 (81.8%)、ストレプトマイシン耐性 (54.5%) であった。フルオロキノロン系薬剤であるシプロフロキサシンでは、4.5% に耐性が認められたが、ほとんどが感受性であった（表 5）。これらの菌株の諸性状と PFGE 型より、各分離株は異なるものであることが示された（図 5）。

D. 考察

国内の市販鶏肉から ESBL 産生大腸菌が 76.0% と高率で分離され、他の報告と比べても高い陽性率であった。また、分離菌株の多くが、ヒト由来 ESBL 産生大腸菌で比較的多く認められる CTX-M-1 型と CTX-M-2 型であり、さらに、近年の流行型として危惧されている CTX-M-15 型の存在も認められた。これは、市販鶏肉が ESBL 産生大腸菌に汚染されている実態を示す成績であると共に、ヒトへの ESBL 産生大腸菌の伝播には鶏肉が重要である可能性が考えられ、鶏肉からヒトへの伝播リスクが示唆された。

CTX-M-1 及び CTX-M-15 産生大腸菌は、プラスミドレプリコン型として Inc I1 を保有

する傾向が認められた。IncI1 は ESBL 産生遺伝子との関連が強く示唆されており、本邦においてもこれらの関連性と共に接合伝達性プラスミドである可能性が示唆された。今後、IncI1 プラスミドの MLST 型を決定し、ヒト由来及び鶏由来 IncI1 プラスミドと比較解析を行うことで、ESBL 産生菌の拡散機構を明らかにする。

市販鶏肉中の VRE として 63.6%の陽性率が認められたが、いずれも *E. gallinarum* であると共に *vanC1* 遺伝子を保有していた。临床上で重要視されている VRE は、*vanA* 又は *vanB* 遺伝子を保有する *E. faecium* 及び *E. faecalis* であり、本邦では検出されなかった。しかし、今回用いた供試検体数が少ないことから、今後さらに多くの検体を対象として市販鶏肉における VRE の危害分析を行う必要があると考えられる。

E. 結論

国内の市販鶏肉が ESBL 産生大腸菌に汚染されていると共に、ヒトへの ESBL 産生大腸菌の伝播には鶏肉が最も重要である可能性が示唆された。また、接合伝達性プラス

ミドによる鶏肉からヒトへの伝播リスクも推測された。一方で、临床上で重要視される VRE による汚染は少ないと考えられたが、今後さらなる危害分析を行う必要があると考えられた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 山本詩織、朝倉 宏、岡田由美子、吉田麻利江、五十君静信：国内の市販鶏肉における ESBL 産生大腸菌の分布状況と保有プラスミドの諸性状について、第 89 回日本細菌学会総会、2016 年 3 月、大阪

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1. ESBL 産生大腸菌株の産地別陽性率

産地	陽性数	供試検体数	陽性率(%)
北海道	1	2	50.0
青森	3	4	75.0
岩手	7	8	87.5
群馬	1	1	100.0
千葉	1	1	100.0
鳥取	2	3	66.7
佐賀	1	2	50.0
宮崎	8	8	100.0
鹿児島	3	6	50.0
小計(国産)	27	35	77.1
ブラジル	9	9	100.0
アメリカ	0	3	0.0
タイ	2	3	66.7
小計(輸入)	11	15	73.3
総計	49	65	75.4

表2. 購入店毎における ESBL 産生大腸菌株の諸性状

購入店	検体番号	産地	分離菌株	耐性遺伝子	Inc type	β ラクタム薬以外の薬剤耐性
FJ	11	岩手	11-A-1	CTX-M-2	-	KM
	28	鳥取	28-A-1	CTX-M-2	I1, FIB, F	KM, TC, CP
	35	ブラジル	35-A-1	CTX-M-9	I1, FIB, F	TC
IN	15	岩手	15-A-1	CTX-M-1, 15	I1, FIB, F	KM, TC
SM	17	北海道	17-A-1	CTX-M-1, 15	I1	TC
			17-A-4	CTX-M-1	-	TC, CP
	13	宮崎	13-A-1	CTX-M-9	FIB, F	SM, KM, GM, TC, CPFX
OS	19	青森	19-A-1	CTX-M-1, 15	I1, FIB, F	TC, CPFX
	20	岩手	20-A-1	CTX-M-1, 15	I1, FIB, F	TC, CPFX
	23	千葉	23-A-1	CTX-M-1, 15	FIB, F	SM, KM, TC
	26	鹿児島	なし			
IT	24	鹿児島	24-A-1	CTX-M-1, 15	I1, FIB, F	SM, TC
			24-A-2	-		
	27	タイ	なし			
YM	50	岩手	50-A-1	CTX-M-1, 15	I1, FIB, F	KM, TC
	51	ブラジル	51-A-1	CTX-M-2	F	SM, GM
AO	31	北海道	なし			
	32	ブラジル	32-A-2	CTX-M-2, 9	FIB, F	SM, KM, TC, CP
HY	38	宮崎	38-A-1	CTX-M-15	FIB, F	KM, TC
			38-A-2	CTX-M-1, 15	I1	TC
	44	アメリカ	なし			
HK	41	佐賀	なし			
MS	47	青森	なし			
	46	群馬	46-A-1	CTX-M-9	F	SM, KM, TC
	48	宮崎	48-A-1	CTX-M-9	FIB, F	SM, KM, GM, TC
DS	55	鹿児島	なし			
	56	岩手	なし			
	57	アメリカ	なし			
O	12	青森	12-A-1	CTX-M-2	-	KM
	22	岩手	22-A-1	CTX-M-9	FIB, F	SM, KM, TC
			22-A-2	CTX-M-1, 15	I1	TC
MD	14	岩手	14-A-1	CTX-M-9	FIB, F	SM, KM, TC, CP, CPFX
	54	ブラジル	54-A-1	-		
ST	16	宮崎	16-A-1	CTX-M-9	FIB, F	SM, CP, CPFX
TK	18	岩手	18-A-2	CTX-M-2	FIB, F	SM, KM, TC
HM	29	佐賀	29-A-1	-		
	60	鹿児島	60-A-1	CTX-M-1, 15	P	SM, TC
			60-A-2	-		TC
	21	宮崎	21-A-1	CTX-M-2	-	KM, TC
			21-A-3	-	-	KM, TC
	25	ブラジル	25-A-1	CTX-M-2	FIB, P, F	SM, KM, TC, CPFX
			25-A-2	CTX-M-1, 15	FIB, F	KM, TC, CP
39	タイ	39-A-1	CTX-M-1, 15	I1, FIB, F	SM, TC, CPFX	
40	アメリカ	なし				
HP	30	宮崎	30-A-1	CTX-M-1, 15	N, FIB, F	TC
SB	33	ブラジル	33-A-1	-		
	34	タイ	34-A-1	CTX-M-9	I1, FIB, F	SM, GM
BD	36	宮崎	36-A-1	CTX-M-9	FIB, F	SM, KM, GM, TC, CPFX
	37	ブラジル	37-A-1	CTX-M-2	F	SM, KM, CP
TP	42	青森	42-A-1	CTX-M-2	-	SM, KM
	43	宮崎	43-A-1	CTX-M-1, 15	I1, FIB, F	SM, KM, TC
	45	鹿児島	45-A-1	CTX-M-1, 15	I1, F	ABPC, CAZ, SM, KM, TC, CP
MK	49	ブラジル	49-A-1	CTX-M-2	FIB, F	SM, KM, TC, CP
GD	52	鳥取	なし			
MP	53	ブラジル	53-A-1	CTX-M-2	FIB, A/C, F	KM, GM, TC
TB	58	鹿児島	なし			
KK	59	鳥取	59-A-1	-		

表 3. ESBL 産生大腸菌が保有する耐性遺伝子型とプラスミドレプリコン型

耐性遺伝子型	株数	プラスミドレプリコン型	株数
CTX-M-1	1	-	1
CTX-M-2	11	I1, FIB, F	1
		FIB, A/C, F	1
		FIB, P, F	1
		FIB, F	2
		F	2
		-	4
CTX-M-9	9	I1, FIB, F	2
		FIB, F	6
		F	1
CTX-M-15	1	FIB, F	1
CTX-M-1およびCTX-M-15	15	I1, FIB, F	7
		N, FIB, F	1
		I1, F	1
		FIB, F	2
		I1	3
		P	1
CTX-M-2およびCTX-M-9	1	FIB, F	1

表 4. VRE 株の産地別陽性率

産地	陽性数	供試検体数	陽性率(%)
青森	0	1	0
岩手	2	2	100.0
群馬	1	1	100
鳥取	1	2	50
宮崎	1	1	100
鹿児島	2	4	50
小計(国産)	7	11	63.6
ブラジル	3	4	75
アメリカ	1	2	50
小計(輸入)	4	6	66.7
総計	11	17	64.7

表5. 購入店毎における VRE 株の諸性状

購入店	検体番号	産地	分離菌株	耐性遺伝子	菌種同定	薬剤感受性試験	
						バンコマイシンのMIC	耐性パターン(バンコマイシン以外)
MS	46	群馬	VRE 46-1	VanC1	<i>E. gallinarum</i>	4	ABPC, SM, KM, GM, TC
			VRE 46-2	VanC1	<i>E. gallinarum</i>	4	SM, KM, TC
	47	青森	なし				
Y	50	岩手	VRE 48-1	VanC2,3		4	—
			VRE 50-1	VanC1	<i>E. gallinarum</i>	8	SM, KM, TC
	51	ブラジル	VRE 50-2	VanC1	<i>E. gallinarum</i>	4	SM, KM, TC
D	55	鹿児島	VRE 51-3	VanC1	<i>E. gallinarum</i>	4	TC
			なし				
			VRE 56-1	VanC1	<i>E. gallinarum</i>	4	KM, TC
			VRE 56-2	VanC1	<i>E. gallinarum</i>	4	ABPC, KM, CP
	56	岩手	VRE 56-3	VanC1	<i>E. gallinarum</i>	4	KM, TC
MD	54	ブラジル	VRE 56-4	VanC1	<i>E. gallinarum</i>	4	KM, TC
			なし				
TS	58	鹿児島	VRE 54-2	VanC1	<i>E. gallinarum</i>	2	SM, KM, TC, CPMX
TP	45	鹿児島	VRE 54-2	VanC1	<i>E. gallinarum</i>	8	SM, KM, TC
			VRE 45-3	VanC1	<i>E. gallinarum</i>	4	ABPC, SM, KM, GM, TC
MK	49	ブラジル	なし				
H	60	鹿児島	VRE 60-2	VanC1	<i>E. gallinarum</i>	4	ABPC, SM, KM, GM, TC
K	59	鳥取	VRE 59-1	VanC1	<i>E. gallinarum</i>	8	SM, KM, TC
			VRE 59-2	VanC1	<i>E. gallinarum</i>	8	SM, KM, TC
			VRE 59-3	VanC1	<i>E. gallinarum</i>	4	SM, KM, TC
			VRE 59-4	VanC1	<i>E. gallinarum</i>	8	SM, KM, TC
S	44	アメリカ	VRE 44-1	VanC1	<i>E. gallinarum</i>	4	ABPC, TC
			VRE 44-2	VanC1	<i>E. gallinarum</i>	8	TC
G	52	鳥取	なし				
p	53	ブラジル	VRE 53-2	VanC1		4	KM, TC
			VRE 53-3	VanC1		4	KM, TC