

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 小西 典子 （東京都健康安全研究センター微生物部）  
研究協力者 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）  
横山 敬子 （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）  
甲斐 明美 （国立感染症研究所）

### 研究要旨

2016 年に分離されたヒト由来株 137 株のうち 1 薬剤以上に耐性を示した株は 33.6% で、食品由来株の 94.9% と比較して耐性率は低かった。フルオロキノロン系薬剤である CFX および NFLX に耐性を示す株はヒト由来株で 2 株（1.5%）、食品由来株では認められなかった。第 3 世代セファロスポリン系薬剤である CTX 耐性株はヒト由来株で 4 株（2.9%）、食品由来株で 6 株（5.1%）であり、2015 年分離株（ヒト由来株 2 株、食品由来株 5 株）と比較して増加していた。CTX に耐性を示したヒト由来株 4 株中 1 株は、9 薬剤（ABPC、SM、TC、ST、CP、Su、CFX、NFLX、CTX）に耐性を示した。フルオロキノロンおよび第 3 世代セファロスポリン系薬剤の両薬剤に耐性を示す株が蔓延すれば、治療に少なからず影響がでるものと考えられた。

2011 年～2015 年に分離した *C. jejuni* および *C. coli* のフルオロキノロン耐性率を比較すると、*C. jejuni* および *C. coli* 共に 2015 年分離株は最も低い耐性率であった。また治療の第一選択薬である EM に対しては、いずれの菌種とも耐性率は低く EM 耐性菌の増加は認められなかった。

市販食肉を対象に、プラスミド性コリスチン耐性遺伝子（*mcr-1*）陽性大腸菌の検出を試みた結果、鶏肉 55 検体中 8 検体（14.5%）、豚肉 49 検体中 1 検体（2.0%）が *mcr-1* を保有していた。今回の調査から、*mcr-1* 保有大腸菌が広く市販食用肉にも分布していることが明らかとなった。今後も、薬剤耐性菌分離状況を注意深く観察していく必要がある。

### A. 研究目的

医療現場では薬剤耐性菌の出現が依然として増加しており、問題となっている。このような状況下、2011 年 WHO は薬剤耐性菌に対し、ヒト、動物、環境といった垣根を越えた「One health」としての世界規模の取り組みの必要性を示した。わが国でも耐性菌をコントロールするための「薬剤耐性（AMR）対策アクションプラン」が 2016 年 4 月に示され、抗菌薬の適正な使用と薬剤耐性菌の動向調査・監視の強化等を行うことになった。

耐性菌の蔓延を防止するためには、その基礎資料となる薬剤耐性菌の変化や拡大を継続的に監視していくことが重要である。

そこで今回、人および食品から分離されるサルモネラおよびカンピロバクターについて薬剤耐性菌出現状況を調べた。更に市販食肉から分離された大腸菌を対象にプラスミド性コリスチン耐性遺伝子（*mcr-1*）保有状況を調べた。

### B. 研究方法

1. ヒトおよび食品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

2016 年にヒト（下痢症患者および無症状病原体保有者）から分離された 137 株および食品から分離された 118 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、同じく研究分担者である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, CPF, NFLX, AMK, IPM, MEPM の 16 薬剤である。更に一部の株については、セフトジジム(CAZ),セフォキシチン(CFX), コリスチン(CL)を追加した。これらの薬剤についてセンシディスク(BD)を用いたKBディスク法で調べた。

## 2. ヒト由来カンピロバクターの耐性菌出現状況

2015年に都内病院で分離された *C. jejuni* 116株および *C. coli* 8株を対象に薬剤感受性試験を行った。供試薬剤はTC, NA, CPF, NFLX, OFLX, EMの6薬剤である。

## 3. 市販流通する食肉からのコリスチン耐性大腸菌の検出

### 1) 供試検体

2015年に都内で流通した鶏肉55検体、豚肉49検体、牛肉47検体を用いた。

### 2) 大腸菌分離方法

食肉25gに普通ブイヨン30mlを加えストマッキング後、乳剤をXM-G寒天培地(日水製薬)に滴下し、塗抹培養を行う方法と、食肉25gに緩衝ペプトン水(BPW)225mlを加え35℃で18時間培養後、XM-G寒天培地に分離培養する方法で行った。塗抹したXM-G寒天培地は、35℃、18~24時間培養後、出現した大腸菌定型集落を薬剤感受性試験に供試した。

### 3) 供試菌株

鶏肉55検体由来159株、豚肉49検体由来55株および牛肉47検体46株の大腸菌を供試した。

### 4) 薬剤感受性試験

コリスチンに対するMICを寒天平板希釈法(0.25µg/mL~16µg/mL)で測定した。MICが4µg/mL以上の株についてプラスミド性コリスチン耐性遺伝子(*mcr-1*)の保有をPCR法で確認した(Liu YY, et al. Lancet. Infect. Dis, 2016)。

## 4. 倫理面への配慮

全てのヒト由来株および調査情報は、個人を特定できる情報を含まない状況で収集し、本研究に用いた。なお、本研究は東京都健康安全研究センター倫理審査委員会の承認を受けている。

## C. 研究結果

### 1. ヒトおよび食品から分離されたサルモネラの薬剤耐性菌出現状況

2016年にヒトから分離されたサルモネラは137株で37血清型に、食品由来株は118株で14血清型に分類された(表1)。分離された血清型を比較すると04群Schwarzengrund, 04群Typhimurium, 04群Agona, 07群Infantisはヒトおよび食品由来共に多く分離されていた。

ヒト由来株137株のうち1薬剤以上に耐性を示した株は33.6%で、食品由来株の94.9%と比較して耐性率は低かった。血清群別では04群68株中36株(52.9%), 07群31株中1株(3.2%), 08群13株中5株(38.5%), 09群14株中3株(21.4%), 03,10群5株中1株(20.0%)であった。01,3,19群および017群(各2株), 013群および018群(各1株)に耐性菌は認められなかった(表2)。

一方、供試した食品由来118株のほぼ全ての株は鶏肉および鶏肉内臓肉由来であった。供試した薬剤16薬剤中1薬剤以上に耐性を示した株は118株中112株(94.9%)で耐性率は非常に高かった。血清群ごとに分離菌株数と耐性率をみると04群は65株中61株(93.8%), 07群は35株中34株(97.1%), 08群は10株中9株(90.0%)であった(表2)。

ヒトおよび食品由来株の薬剤別耐性率を図1に示した。ヒト由来株で耐性率が高かった薬剤はSu(32.8%), TC(32.1%), SM(30.7%)であった。食品由来株ではTC(79.7%), SM(74.6%), Su(72.9%), KM(61.0%)であり、耐性率の高い薬剤は、ヒト由来株と食品由来株で同様の傾向であった。

フルオロキノロン系薬剤であるCPFおよびNFLXに耐性を示す株はヒト由来株で2株(1.5%)、食品由来株では認められなかった。ヒト由来フルオロキノロン系薬剤耐性株の血清型は07群Thompsonおよび08群Kentuckyであった。第3世代セファロスポリン系薬剤であるCTX耐性株はヒト由来株で4株(2.9%)、食品由来株で6株(5.1%)であり、2015年分離株(ヒト由来株2株、食品由来株5株)より増加していた。ヒト由来CTX耐性株の血清型は07群Infantisが2株、07群Thompson, 08群Blockleyが各1株、食品由来株は08群Blockleyが5株および07群Infantisが1株であった。

### 2. ヒト由来カンピロバクターの薬剤耐性菌出現状況

散発患者由来 *C. jejuni* のフルオロキノロン

耐性率は 37.1%で、2011 年以降では最も低い耐性率であった(図 2)。一方、*C. coli*では耐性率は 50%で、*C. jejuni*よりは耐性率が高いが、2011 年以降では最も低かった(図 3)。治療の第一選択薬である EM 耐性株はいずれの菌種でも低かった。

### 3. 市販流通する食肉からのコリスチン耐性大腸菌の検出

市販の食肉(鶏肉、豚肉、牛肉)から分離された大腸菌を対象にコリスチンに対する MIC を寒天平板希釈法で測定した。4 µg/ml 以上に耐性を示した株は、鶏肉由来では 159 株中 10 株(6.3%)、豚肉由来 55 株中 1 株(1.8%)、牛肉由来は認められなかった。これらの株を対象に *mcr-1* の保有を PCR 法で調べた結果、鶏肉由来株では 8 株、豚肉由来株では 1 株が陽性となった(表 3)。

市販食肉を対象とすると、鶏肉 55 検体中 8 検体(14.5%)、豚肉 49 検体中 1 検体(2.0%)がプラスミド性コリスチン耐性遺伝子を保有していた(表 4)。

### D. 考察

ヒトおよび食品から分離されたサルモネラの血清型を比較すると、04 群 Schwarzengrund、04 群 Typhimurium、04 群 Agona、07 群 Infantis は共通して高率に検出されていることから、食品(鶏肉および鶏肉内臓肉)がヒトのサルモネラ症に影響を与えていることが示唆された。

一方、0 群別耐性率を比較すると、ヒト由来株より食品由来株で耐性率が高い傾向であった。薬剤別耐性率はヒトおよび食品由来株でほぼ同様の傾向であった。食品由来株で耐性率が高かった薬剤は TC、SM、Su、KM で、いずれも耐性率は 70%以上であった。

ヒト下痢症の治療薬として用いられるフルオロキノロン耐性株はヒト由来株 2 株のみであり、耐性率は低かった。しかし CTX に耐性を示したヒト由来株 4 株中 1 株は、9 薬剤(ABPC、SM、TC、ST、CP、Su、CPFX、NFLX、CTX)に耐性を示した。この患者は散発患者であるが、感染源等是不明であった。このようなフルオロキノロンおよび第 3 世代セファロスポリン系薬剤に耐性を示す株が蔓延すれば、治療に少なからず影響がでるものと考えられた。

カンピロバクター食中毒は依然として多く発生しており、東京都では 2016 年に発生した食中毒 129 事例中 32 事例(24.8%)がカンピロバクターによるものである。今年度は散発患

者由来株を対象として薬剤耐性菌出現状況を調べた。2011 年~2015 年に分離した株についてフルオロキノロン耐性率を比較すると、*C. jejuni* および *C. coli* 共に 2015 年分離株は最も低い耐性率であった。これらの理由については不明であり、特に *C. coli* では供試数が少ないことから単純な比較は難しいと考えられるが、今後の動向を注意深く見る必要があると考えられた。一方、治療の第一選択薬である EM に対しては、いずれの菌種とも耐性率は低く EM 耐性菌の増加は認められていない。

市販食肉を対象として、プラスミド性コリスチン耐性遺伝子保有大腸菌の分離を試みた結果、鶏肉 55 検体中 8 検体(14.5%)、豚肉 49 検体中 1 検体(2.0%)から検出された。*mcr-1* 陽性大腸菌が検出された鶏肉の産地は国産(6 検体)、ブラジル(2 検体)、豚肉はスペイン産であった。コリスチンは動物用医薬品や飼料添加物として長年、豚、鶏、および牛に使用されている。今回の調査で、*mcr-1* 保有大腸菌が市販鶏肉および豚肉から分離されたことから、広く食用肉にも分布していることが明らかとなった。

### E. 結論

2016 年にヒトから分離されたサルモネラは 137 株、食品由来株は 118 株で、04 群 Schwarzengrund、04 群 Typhimurium、04 群 Agona、07 群 Infantis が共通に分離されていた。

ヒト由来株 137 株のうち 1 薬剤以上に耐性を示した株は 33.6%で、食品由来株の 94.9%と比較して耐性率は低かった。フルオロキノロン系薬剤である CPFX および NFLX に耐性を示す株はヒト由来株で 2 株(1.5%)、食品由来株では認められなかった。第 3 世代セファロスポリン系薬剤である CTX 耐性株はヒト由来株で 4 株(2.9%)、食品由来株で 6 株(5.1%)であり、2015 年分離株(ヒト由来株 2 株、食品由来株 5 株)より増加していた。

CTX に耐性を示したヒト由来株 4 株中 1 株は、9 薬剤(ABPC、SM、TC、ST、CP、Su、CPFX、NFLX、CTX)に耐性を示した。このようなフルオロキノロンおよび第 3 世代セファロスポリン系薬剤に耐性を示す株が蔓延すれば、治療に少なからず影響がでるものと考えられた。

2011 年~2015 年に分離した *C. jejuni* および *C. coli* のフルオロキノロン耐性率を比較すると、*C. jejuni* および *C. coli* 共に 2015 年分離株は最も低い耐性率であった。また治療の第一選択薬である EM に対しては、いずれの菌

種とも耐性率は低く EM 耐性菌の増加は認められなかった。

市販食肉を対象に、*mcr-1* 陽性大腸菌の検出を試みた結果、鶏肉 55 検体中 8 検体 (14.5%)、豚肉 49 検体中 1 検体 (2.0%) がプラスミド性コリスチン耐性遺伝子を保有していた。今回の調査から、*mcr-1* 保有大腸菌が広く市販食用肉にも分布していることが明らかとなった。

## F. 研究発表

### 1. 学会発表

1) 佐藤友美, 臼井 優, 小西典子, 甲斐明美, 田村 豊: 牛及び食肉由来メチシリン耐性黄色

ブドウ球菌 (MRSA) の特徴とヒトへの影響, 第 159 回日本獣医学会学術集会, 2016 年 6 月, 神奈川県.

2) 西野由香里, 下島優香子, 井田美樹, 福井理恵, 黒田寿美代, 上原さとみ, 平井昭彦, 貞升健志: 東京都で流通する食品からのコリスチン耐性大腸菌の検出, 第 37 回日本食品微生物学会学術総会, 2016 年 9 月, 東京都.

3) 小西典子, 赤瀬 悟, 尾畑浩魅, 原田幸子, 森功次, 門間千枝, 平井昭彦, 甲斐明美, 貞升健志: ヒトおよび食品由来サルモネラの血清型の特徴と耐性菌出現状況, 第 37 回日本食品微生物学会学術総会, 2016 年 9 月, 東京都.

## G. 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

表1. ヒトおよび食品由来サルモネラの上位血清型(2016年, 東京都)

ヒト由来株				食品由来株			
O群	血清型	分離数	(%)	O群	血清型	分離数	(%)
O7	Infantis	18	(13.1)	O4	Schwarzengrund	41	(34.7)
O4	Chester	13	(9.5)	O7	Infantis	34	(28.8)
O9	Enteritidis	13	(9.5)	O4	Agona	13	(11.0)
O4	Schwarzengrund	12	(8.8)	OUT r: 1, 5		7	(5.9)
O4	Typhimurium	11	(8.0)	O8	Blockley	6	(5.1)
O4	i: -	7	(5.1)	O4	Typhimurium	4	(3.4)
O4	Agona	7	(5.1)	O8	Manhattan	4	(3.4)
O4	Stanley	6	(4.4)	O4	Heidelberg	2	(1.7)
O7	Thompson	6	(4.4)	O4	i: -	2	(1.7)
O4	Saintpaul	5	(3.6)	O4	Derby	1	(0.8)
O3,10	Anatum	4	(2.9)	O4	運動性(-)	1	(0.8)
O7	Bareilly	3	(2.2)	O4	Bredeney	1	(0.8)
O8	Newport	3	(2.2)	O7	Tennessee	1	(0.8)
O4	Brandenburg	2	(1.5)	O21	Minnesota	1	(0.8)

集団事例は1株を計上

ヒト由来株: 137株, 37血清型,

食品由来株: 118株, 14血清型

表2. 東京都で分離されたサルモネラの薬剤耐性率(2016年)

O群	ヒト由来株			食品由来株		
	供試数	耐性数	(%)	供試数	耐性数	(%)
O4	68	36	(52.9)	65	61	(93.8)
O7	31	1	(3.2)	35	34	(97.1)
O8	13	5	(38.5)	10	9	(90.0)
O9	14	3	(21.4)			
O3,10	5	1	(20.0)			
O1,3,19	2	0				
O13	1	0				
O17	2	0				
O18	1	0				
O21				1	1	(100)
OUT:r:1, 5				7	7	(100)
合計	137	46	(33.6)	118	112	(94.9)

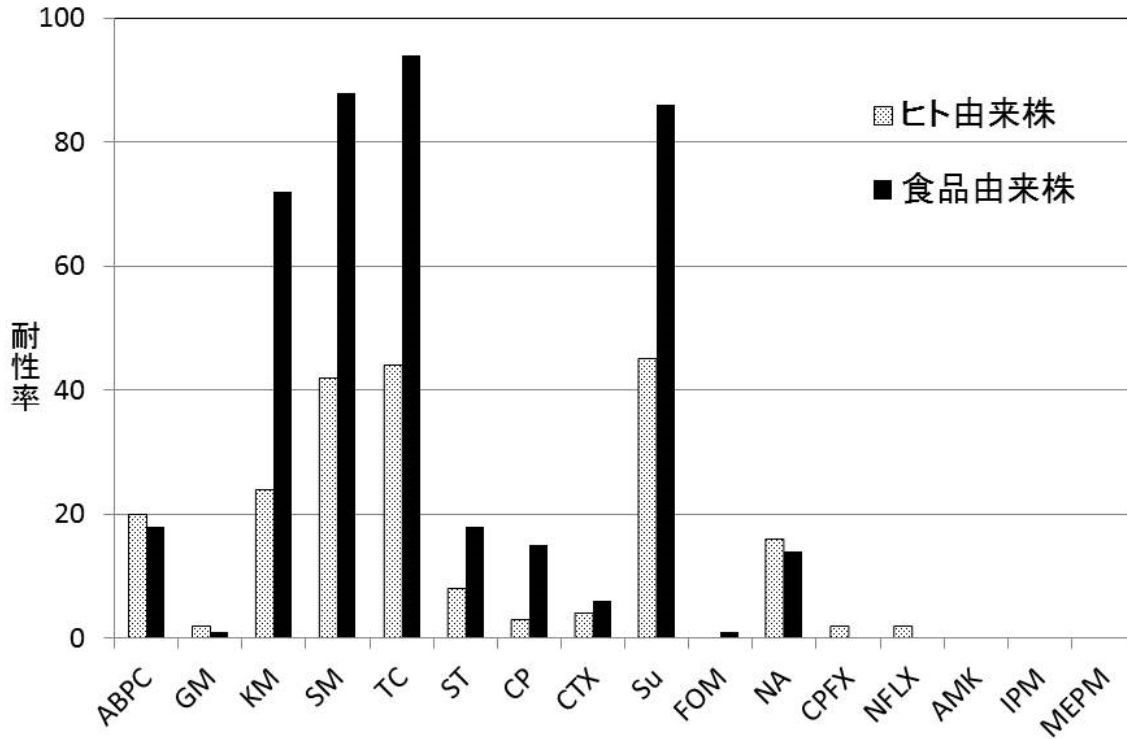


図1. ヒトおよび食品由来サルモネラの薬剤別耐性率(2016年, 東京都)

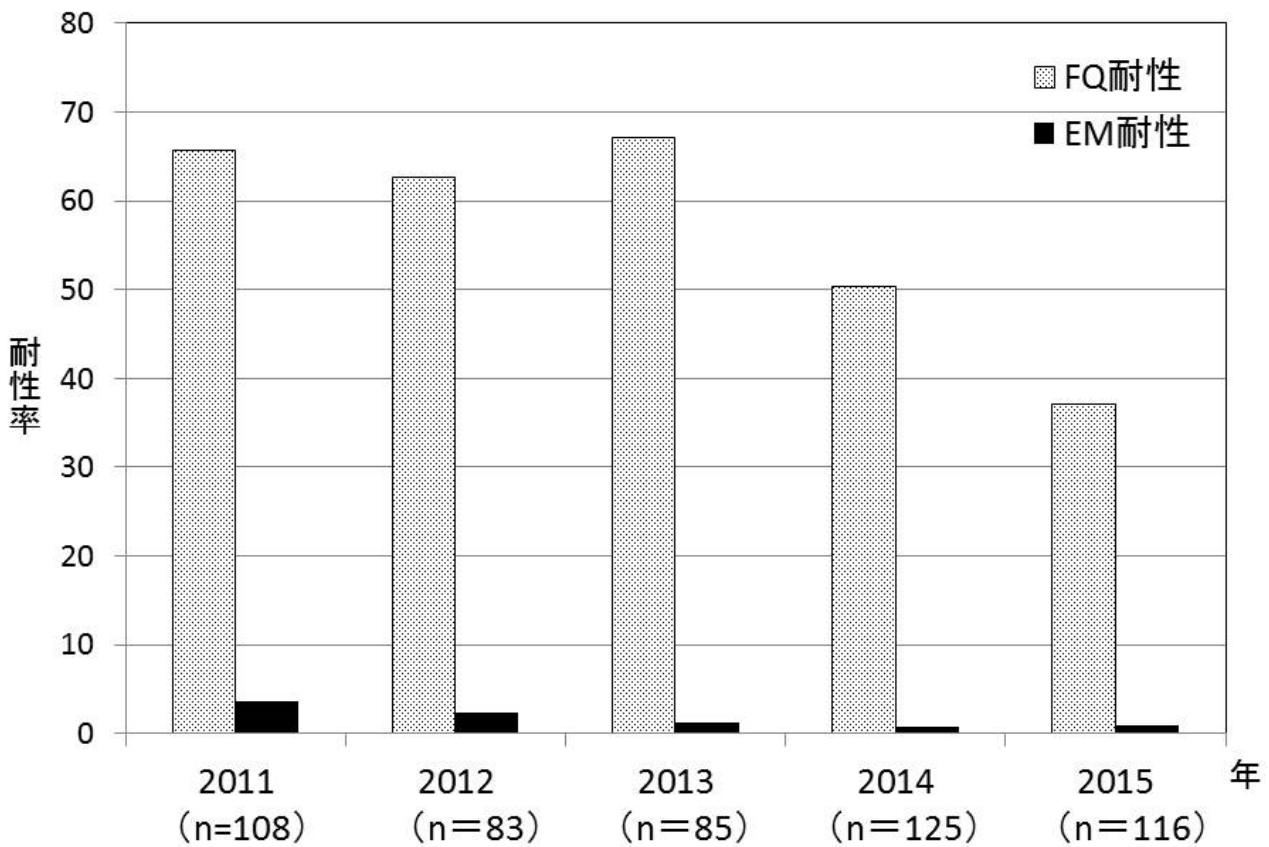


図2. 散発下痢症由来*C. jejuni*のフルオロキノロンおよびエリスロマイシンに対する耐性株出現状況

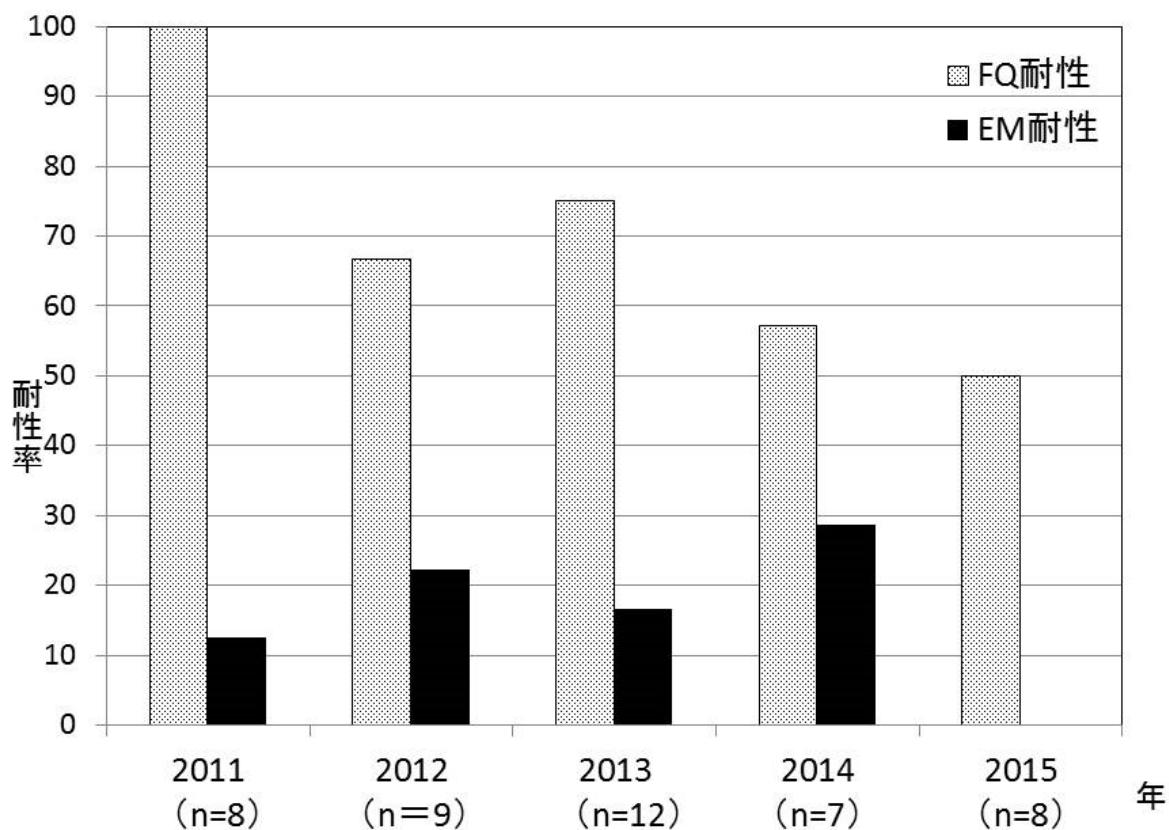


図3. 散発下痢症由来 *C. coli* のフルオロキノロンおよびエリスロマイシンに対する耐性株出現状況

表3. 食肉由来コリスチン耐性大腸菌の出現状況

由来	検体数	供試菌株数	コリスチン耐性株 (4 $\mu$ g/ml以上)	<i>mcr-1</i> 陽性数
鶏肉	55	159	10	8
豚肉	49	55	1	1
牛肉	47	46	0	0

*mcr-1*陽性大腸菌のコリスチンに対するMICは全株 8 $\mu$ g/ml以上であった。

表4. 市販食肉からのプラスミド性コリスチン耐性遺伝子(*mcr-1*)  
保有大腸菌検出数

検体	供試数	陽性数 (%)	陽性検体の原産国
鶏肉	55	8 (14.5)	日本(6), ブラジル(2)
豚肉	49	1 (2.0)	スペイン(1)
牛肉	47	0	