

厚生労働科学研究費補助（食品の安全確保推進研究事業）  
平成 28 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	土井りえ	埼玉県食肉衛生検査センター

#### 研究要旨

ヒトの健康に被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 2016 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 187 株で 44 血清型に型別された。薬剤耐性では 73 株（39.0%）が供試した 16 薬剤のいずれかに対して耐性を示した。CTX 耐性は 5 株、フルオロキノロン耐性は 1 株分離された。動物由来株は、イヌ 96 頭、ネコ 55 頭および野生アライグマ 181 頭の検査を行い、アライグマ 2 頭からサルモネラが分離されたが、感受性株であった。

ヒト由来腸管出血性大腸菌は 131 株が分離され、薬剤感受性試験では、131 株中 24 株（18.3%）が供試薬剤のいずれかに耐性を示した。CTX 耐性 4 株が分離された。健康者糞便の ESBL 産生菌検索では 152 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等 164 検体を供試し、サルモネラは鶏肉等 45 検体中 16 検体から 19 株、ESBL 産生菌は鶏肉 21 検体中 7 検体から 13 株、豚内臓肉 24 検体中 8 検体から 14 株が分離された。

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 30 検体中 4 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

### ・ 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及び健康保菌者由来のサルモネラ・腸管出血性大腸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健康ヒト糞便から大腸菌を分離し、その薬剤感受性を検討した。

#### 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。

#### 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

埼玉県動物指導センターの協力で得られたイヌ・ネコの糞便に加え、

「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糞便からのサルモネラ分離を検討し、調査に供した。

### ・ 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、腸管出血性大腸菌はクロラムフェニコール (CP; 30  $\mu$ g)、ストレプトマイシン (SM; 10  $\mu$ g)、テトラサイクリン (TC; 30  $\mu$ g)、カナマイシン (KM; 30  $\mu$ g)、アミノベンジルペニシリン (ABPC; 10  $\mu$ g)、ナリジクス酸 (NA; 30  $\mu$ g)、セフォタキシム (CTX; 30  $\mu$ g)、シプロフロキサシン (CPFX; 5  $\mu$ g)、ゲンタマイシン (GM; 10  $\mu$ g)、ホスホマイシン (FOM; 50  $\mu$ g)、ノルフロキサシン (NFLX; 5  $\mu$ g)、スルフアメトキサゾール・トリメトプリム合剤 (ST; 25  $\mu$ g)、イミペネム (IMP; 10  $\mu$ g)、アミカシン (AMK; 30  $\mu$ g)、メロペネム (MEPM; 10  $\mu$ g)、セフォキシチン (CFX; 30  $\mu$ g)、セフトジジム (CAZ; 30  $\mu$ g)、コリスチン (CL; 10  $\mu$ g) の 18 薬剤を供試した。また、コリスチンの感受性については耐性遺伝子である *mcr-1* の検出を PCR 法で検討した。カンピロバクターはテトラサイクリン (TC; 30  $\mu$ g)、ナリジクス酸 (NA; 30  $\mu$ g)、シプロフロキサシン (CPFX; 5  $\mu$ g)、ノルフロキサシン (NFLX; 5  $\mu$ g)、オフロキサシン (OFLX; 5  $\mu$ g)、エリスロマイシン (EM; 15  $\mu$ g) 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 2016 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 187 株は 44 血清型に型別され、*S. Infantis* が 20 株と最も多く分離され、次いで 04:i:- が 18 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 187 株のうち 73 株 (39.0%) が 18 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 20 株中 8 株 (40.0%) が耐性を示したが、04:i:- は供試 18 株中 16 株 (88.9%) が耐性株であった。薬剤別の耐性状況を表 2 に示した。耐性 73 株中 51 株が TC 耐性で、次いで SM 耐性が 49 株、ABPC 耐性が 31 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・ABPC 耐性が 14 株と最も多く、次いで SM・TC 耐性が 12 株であった。また、2 剤以上の複数薬剤に耐性を示す株は 55 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 5 株、フルオロキノロン耐性株が 1 株分離された (表 3)。CTX 耐性菌は耐性遺伝子 CTX-M-15 を保有する *S. Blockley* が 2 株、CTX-M-2 を保有する *S. Muenchen*、SHV-12 と TEM-1D を保有する 04:i:-、CMY-2 like を保有する *S. Minnesota* がそれぞれ 1 株ずつであった。フルオロキノロン耐性株は、血清型 *S. Kentucky* であった (表 4)。

### (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 5 に示す。イヌ 96 頭、ネコ 55 頭のいずれからもサルモネラは分離されなかった。野生化アライグマは 181 頭中 2 頭 (1.1%) 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 18 薬剤に対して感受性を示した。

### (3) 腸管出血性大腸菌

埼玉県内で 2016 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 6 に示した。分離された 131 株で最も多く分離された血清型は、O157:H7 が 87 株、次いで O26:H11 が 23 株であった。分離 131 株の薬剤感受性試験の結果、供試した 18 薬剤のいずれかに耐性であったのは 24 株 (18.3%) であった (表 7)。耐性パターンは 11 パターンに分かれ、最も多かったのは SM 耐性で 5 株が該当した。また、CTX 耐性株が 4 株分離された。

### (4) ヒト由来 ESBL 産生菌

ESBL 産生菌の検索では 152 検体中 4 検体から 4 株が分離された (表 8)。菌種は全て *E. coli* で、CTX-M-9group 保有株が 2 株、TEM と CTX-M-9group の両方を保有する株が 2 株であった。CTX-M-9group 保有 2 株と、TEM と CTX-M-9group 保有 1 株が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した。

### (5) 食品からの分離

2016 年 6 月から 2017 年 1 月にかけて、埼玉県内の市場等で食肉等 164 検体を購入し、サルモネラ、腸管出血性大腸菌の検査を行った。その結果、サルモネラは内臓肉 26 検体中 6 検体、鶏肉 21 検体中 9 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9)。内臓肉は豚タン及び豚カシラより分離された。その血清型は豚タンはすべて 04:i:-であり、豚カシラは *S. Agona* と 04:i:-であった。薬剤感受性では、04:i:-の1株を除き供試した18薬剤にいずれかに耐性を示した。鶏肉で分離されたのは *S. Infantis* が8株、*S. Schwarzengrund* が4株であった。*S. Infantis* の1株を除き供試した18薬剤にいずれかに耐性を示した(表10)。

食品のESBL産生菌の検索では、購入した164検体から鶏肉等など142検体を供試した。ESBLは鶏肉21検体中7検体、豚タン14検体中5検体、豚カシラ10検体中3検体から分離された(表11)。保有耐性遺伝子は、CTX-M-9group、CTX-M-1group およびTEM保有株いずれの材料からも分離されたが、SHV保有株は鶏肉のみから分離された。

#### (6) 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30検体中4検体から8株、サルモネラは3検体から6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。サルモネラは分離された6株すべてが供試した18薬剤にいずれかに耐性を示した(表12)。

#### D. 考察

近年、ヒトの健康に危害を与える可能性がある薬剤耐性菌の問題に対応するために、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

状況を多角的に把握する必要がある。埼玉県では2003年にCTX耐性腸管出血性大腸菌 026:H11 が分離され、フルオロキノロン耐性も *S. Typhimurium*(DT193) や *S. Schwarzengrund* が分離された、それ以降、毎年CTX耐性菌やフルオロキノロン耐性菌が分離されている。CTX耐性菌では、保有する耐性遺伝子も多岐にわたり、CTX-M型のみならずAmpC型やCMY-型も分離されている。さらに、ヨーロッパやアメリカでその拡がりや危惧されるMLST型ST198のフルオロキノロン耐性 *S. Kentucky* が2014年に初めて県内で確認されている。また、コリスチン耐性遺伝子である *mcr-1* の検出を検討し、幸いなことに今回は分離されなかったが、2015年に都内で流通した食肉から *mcr-1* 保有の大腸菌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耐性株の分離が続いており、その遺伝子型も多岐に亘ることから、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 (2016)

O血清型	血清型名	国内		海外	計
		有症者	無症者		
O4	S. Stanley	7(1)	1		8(1)
	S. Schwarzengrund	6(5)	4(2)		10(7)
	S. Saintpaul	4(3)	4		8(3)
	S. Chester	8(1)	7		15(1)
	S. Derby		1(1)		1(1)
	S. Agona	3(2)	1(1)		4(3)
	S. Typhimurium	5(4)	1		6(4)
	S. Brandenburg		1		1
	O4:i:-	11(10)	7(6)		18(16)
	O4:b:-	4	2		6
O4:-:-	1	1(1)		2(1)	
O7	S. Montevideo		1		1
	S. Thompson	4	7		11
	S. Infantis	10(5)	10(3)		20(8)
	S. Bareilly		2		2
	S. Mbandaka		1		1
	S. Tennessee	1	9		10
	O7:eh:-	1(1)			1(1)
	O7:l,w:-	1			1
O7:-:-		3		3	
O8	S. Narashino	1			1
	S. Nagoya	3(1)	2		5(1)
	S. Muenchen		3(1)		3(1)
	S. Manhattan	1(1)	8(5)		9(6)
	S. Newport	2	1		3
	S. Kentucky		1(1)		1(1)
	S. Blockley	3(3)			3(3)
	S. Litchfield		2		2
	S. Corvallis	2(1)			2(1)
	S. Hadar		1(1)		1(1)
O9	S. Typhi			2(1)	2(1)
	S. Berta	1			1
	S. Enteritidis	10(7)	2		12(7)
O3,10	S. Anatum		1(1)		1(1)
	S. Uganda		1		1
	S. Weltevreden	1			1
	O3,10:l,w:-	2(2)			2(2)
O1,3,19	S. Senftenberg		2		2
O11	S. Aberdeen	1			1
O13	S. Putten	1			1
O16	O16:l,w:-	1			1
O18	S. Cerro	1			1
O21	S. Minnesota		1(1)		1(1)
OUT	OUT:r:-		1(1)		1(1)
計		96(47)	89(25)	2(1)	187(73)

( ): 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(2016)

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	CFX	NA	CPFX	NFLX	CAZ
4	Stanley	8	1	1		1	1	1	1	1	1					
4	Schwarzengrund	10	7	1		5	4	4					2			
4	Saintpaul	8	3	1				1					1			
4	Chester	15	1	1			1	1								
4	Derby	1	1	1			1	1		1						
4	Agona	4	3				3	3								
4	Typhimurium	6	4	3	1		1	1								
4	O4:i:-	18	16	15	1	2	15	14	2	2	1		1			1
4	O4:-:-	2	1			1										
7	Infantis	20	8			4	7	8	1							
7	O7:eh:-	1	1					1								
8	Nagoya	5	1						1							
8	Muenchen	3	1	1	1	1	1	1			1					1
8	Manhattan	9	6	1			6	6								
8	Kentucky	1	1									1	1	1	1	
8	Blockley	3	3	2		3	3	3		3	2					2
8	Corvallis	2	1										1			
8	Hadar	1	1				1	1					1			
9	Typhi	2	1										1			
9	Enteritidis	12	7	3			3						2			
3,10	Anatum	1	1					1								
3,10	O3,10:l,w:-	2	2					2	2							
21	Minnesota	1	1	1			1	1			1	1				1
UT	OUT:r:-	1	1				1	1								
計		187	73	31	3	17	49	51	7	7	5	2	10	1	1	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 (2016)

	国内		海外	計
	有症者	無症者		
供試菌株数	96	89	2	187
耐性株数 (%)	47 49.0%	25 28.1%	1 50.0%	73 39.0%
薬剤耐性パターン				
SM	3			3
TC	2	2		4
KM	2	1		3
ABPC	2			2
NA	4		1	5
SXT	1			1
SM・TC	5	7		12
TC・SXT	2			2
KM・ABPC	4			4
KM・NA		1		1
ABPC・NA	1			1
SM・TC・KM	4	2		6
SM・TC・ABPC	8	6		14
SM・TC・NA		1		1
SM・TC・GM	1			1
CP・SM・TC・KM	1			1
CP・SM・TC・ABPC		1		1
CP・SM・ABPC・SXT	1			1
SM・TC・ABPC・NA	1			1
SM・TC・KM・SXT	1			1
SM・TC・ABPC・GM		1		1
NA・CPFX・NFLX・LVFX		1		1
SM・TC・ABPC・CTX・CFX・CAZ		1		1
CP・SM・TC・KM・ABPC・CTX・CAZ	2			2
CP・SM・TC・KM・ABPC・SXT	1			1
SM・TC・KM・ABPC・CTX・GM・CAZ		1		1
CP・SM・TC・KM・ABPC・CTX・SXT・CAZ	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: セフォタキシム, CPFX: シプロフロキサシン  
 GM: ゲンタマイシン, NFLX: ノルフロキサシン, CAZ: セフトジジム

表 4 フルオロキノロン耐性およびセフェム耐性 *Salmonella* 分離例 (2016)

No.	OH血清型	血清型名	区分	耐性パターン	備考
1	O8:i:z <sub>6</sub>	Kentucky	無症者	NA・CPFX・NFLX	GyrA S83F+D87N, ParC S80I
2	O8:d:1,2	Muenchen	無症者	SM・TC・KM・ABPC・CTX・GM・CAZ	<i>bla</i> CTX-M-2
3	O8:k:1,5	Blockley	有症者	CS・SM・TC・KM・ABPC・CTX・CAZ	<i>bla</i> CTX-M-15
4	O4:i:-		有症者	CS・SM・TC・KM・ABPC・CTX・SXT・CAZ	<i>bla</i> SHV-12, TEM-1D
5	O21:b:en,x	Minnesota	無症者	SM・TC・ABPC・CTX・CFX・CAZ	<i>bla</i> CMY-2 like
6	O8:k:1,5	Blockley	有症者	CS・SM・TC・KM・ABPC・CTX・CAZ	<i>bla</i> CTX-M-15

表 5 イヌ、ネコおよびアライグマからのサルモネラ分離状況（2016）

由来動物	検査数	検出数（陽性率）	血清型名	薬剤耐性
イヌ	96	0（0%）		
ネコ	55	0（0%）		
アライグマ	181	2（1.1%）	S.Nagoya	感受性

表 6 腸管出血性大腸菌の血清型と毒素型（2016）

血清型	毒素型			計
	VT1	VT2	VT1&2	
O157:H7		36	51	87
O157:H-		2	8	10
O26:H11	23			23
O111:H-	2		1	3
O8:H9		1*		1
O76:H19	1			1
O121:H19		1	1	2
O128:H2			1	1
OUT:H45		1		1
OUT:H-	2			2
	28	41	62	131

\*:VT2e

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（2016）

	O157:H7	O157:H-	O26:H11	O111:H-	O8:H9	OUT:H45	OUT:H-	その他	計
供試菌株数	87	10	23	3	1	1	2	4	131
耐性株数	8	4	7	1	1	1	2	0	24
(%)	9.2%	40.0%	30.4%	33.3%	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	18.3%
薬剤耐性パターン									
SM		4	1						5
ABPC	3								3
NA			1						1
SM・TC	4								4
SM・SXT							1		1
ABPC・CTX・CAZ								1	1
SM・TC・ABPC	1			1					2
SM・TC・ABPC・FOM			1						1
CP・SM・TC・KM・SXT						1			1
SM・TC・ABPC・NA・SXT							1		1
CP・SM・TC・KM・ABPC・SXT					1				1

\* O76:H19(1),O121:H19(2)O128:H2(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：セフォタキシム，FOM：ホスホマイシン，CAZ：セフトアジム

表 8 ヒトからのESBL分離状況 (2016)

検査数	検出数	菌種	保有耐性遺伝子 (株数)
152	4	<i>E. coli</i>	CTX-M-1group(2) TEM,CTX-M-9group(2)

表 9 食品からの食中毒菌分離状況 (2016)

検体の種類	検体数	STEC	サルモネラ
食肉*	86	0	0
内臓肉**	26	0	7
鶏肉	21	0	9
魚介類	31	0	0
計	164	0	16

\*:牛肉・牛挽肉・馬刺し・豚肉

\*\* :豚内臓・豚タン・豚カシラ

表 10 食品からのサルモネラ分離状況 (2016)

検体	検査数	陽性数(株数)	血清型 (耐性薬剤)
豚タン	14	4 (5)	O4:i:- (TC) O4:i:- (ABPC) O4:i:- (ABPC,CPFX) O4:i:- ((SM,TC,ABPC)2) O4:i:- ((-))
豚カシラ	10	2 (2)	S. Agona(SM,TC) O4:i:- (SM,TC,ABPC)
鶏肉	21	10 (12)	S. Schwarzengrund(TC) S. Schwarzengrund(TC,KM) S. Schwarzengrund(SM,TC,KM,SXT)(2) S. Infantis(SM,TC)(3) S. Infantis(TC,KM) S. Infantis(SM,TC,SXT) S. Infantis(SM,TC,KM,SXT) S. Infantis(TC,ABPC,NA,CPFX,NFLX,FOM,SXT) S. Infantis(-)

表 11 食品からのESBL産生大腸菌分離状況 (2016)

検体	検査数	陽性数	保有耐性遺伝子 (株数)
豚タン	14	5	TEM(3) CTX-M-1group(1) CTX-M-9group(3) TEM,CTX-M-9group(3)
豚カシラ	10	3	CTX-M-1group(1) CTX-M-9group(2) TEM,CTX-M-1group(1)
鶏肉	21	7	SHV(4) CTX-M-1group(4) CTX-M-9group(1) TEM,CTX-M-1group(2) TEM,CTX-M-9group(2)

表12 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(2016)

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	30	3	6	TC・KM(1) SM・TC・KM(3) SM・TC・KM・NA(2)
カンピロバクター	30	4	8	感受性(8)

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*