

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 産生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	東京農業大学	生物応用化学科
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 ラクタマーゼ（ESBL）産生大腸菌およびバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）は鶏肉を介してヒトへ伝播する可能性が想定されている。昨年度の研究では、国内の市販鶏肉が ESBL 産生大腸菌および VRE のいずれにも汚染されている実態を明らかにし、ESBL 産生大腸菌はヒトへの当該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。一方、VRE は鶏肉から高頻度で検出されたものの、臨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。

本邦では、昨年度に引き続き、供試検体数を増やして ESBL 産生大腸菌および VRE の汚染実態調査を行い、さらに ESBL 産生大腸菌株が保有する IncI1 プラスミドの分子疫学的傾向について検討を行った。その結果、昨年度と同様、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遺伝子を保有していた。また、IncI1 プラスミドの多くが CC-3 に分類され、これらが接合伝達性を示したことから、ヒトへの伝播に CC-3 型 IncI1 が関与している可能性が示唆された。一方、VRE では、分離株のほとんどがヒト臨床分離株の遺伝特性との差異が認められたことから、ヒト健康危害の影響は少ないと想定されたが、ヒトへの危害となり得る VRE が鶏肉から検出された事例が少なからずとも存在するため、今後も市販鶏肉における VRE の危害分析を継続する必要があると考えられる。

A. 研究目的

基質特異性拡張型 ラクタマーゼ（ESBL）産生菌は市中において拡散しており、食品を介した人への伝播に関する危害分析を通じて、鶏肉がヒトへの伝播に最も重要な食品であることが判明した。昨年度までの研究より、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、ヒトへの当該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。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ことから、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。

市販鶏肉からバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）が検出された事例より、鶏肉を介した当該菌の直接的なヒトへの伝播・拡散、さらにヒト腸管内に定着する可能性が危惧されている。昨年度までの研究により、鶏肉から高頻度で VRE が検出されたものの、臨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。

本邦では、昨年度に引き続き、供試検体数を増やしてESBL産生大腸菌およびVREの汚染実態調査を行い、さらにESBL産生大腸菌が保有するIncI1プラスミドの分子疫学的傾向について検討を行った。

B. 研究方法

国内の市販国産及び輸入鶏肉 37 検体を追加してESBL産生大腸菌又はVREを分離した。ESBL産生大腸菌の分離には1 μ g/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(関東化学)を用い、VREでは1 μ g/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、耐性遺伝子型別、薬剤感受性試験及びPFGE法による遺伝子型別に供した。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及びIncI1のpMLST型別を行い、Plasmid MLST databases(<https://pubmlst.org/plasmid/>)におけるヒトおよび鶏由来株との比較を行った。

C. 研究結果

ESBL産生大腸菌の陽性率は、昨年度の結果と合わせて77.0%(87検体中67検体が陽性)であり、輸入鶏肉よりも国産鶏肉の陽性率の方がやや高い傾向を示した(表1、有意差なし[$P>0.05$])。ESBL産生大腸菌は計80株分離され、国産鶏肉と輸入鶏肉間における耐性遺伝子の傾向では有意な差は認められなかった($P>0.05$)。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28.8%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47.6%と高い傾向であった。ラクタム系以外の薬剤感受性を調べたところ、テトラサイクリン耐性が67.5%と最も多く、続いてストレプトマイシン耐性(60.0%)およびカナマイシン耐性(60.0%)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は、22.5%と比較的高い割合で耐性が認められた。分離菌株のPFGE

型別では、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。プラスミドレプリコン型は、IncFが68.48%、IncFIBが61.3%、IncI1が27.5%認められ(表2)、 $bla_{CTX-M-1}$ 及び $bla_{CTX-M-15}$ を併せ持つ分離菌株の63.2%がIncI1を保有していた。pMLST型別により、IncI1の36.4%がCC-3に分類され、そのほとんどが $bla_{CTX-M-1}$ 及び $bla_{CTX-M-15}$ をコードしていた(図2)。CC-3型IncI1を対象として接合伝達試験を行ったところ、約9割が接合伝達性を示した。

VREの陽性率は、昨年度の結果と合わせて72.2%(54検体中39検体が陽性)であり、輸入鶏肉よりも国産鶏肉の陽性率の方がやや高い傾向を示した(表1、有意差なし[$P>0.05$])。しかし、分離菌株は全て $vanC1$ 又は $vanC2,3$ 遺伝子を保有する*E. gallinarum*であり、 $vanA$ 又は $vanB$ 遺伝子を保有する*E. faecium*及び*E. faecalis*は同定されなかった。分離菌株のバンコマイシンに対するMICは2~8 μ g/mLと低い傾向であるものの、シプロフロキサシン耐性株が14.6%も認められ、MICは8 μ g/mL以上であった。

D. 考察

国内の市販鶏肉におけるESBL産生大腸菌は、昨年度と同様、高率で分離された。また、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、近年の流行型として危惧されているCTX-M-15型が多く認められた。CTX-M-1及びCTX-M-15産生大腸菌ではIncI1を保有する菌株が多く認められたことから、IncI1のpMLST型別による由来別の疫学的傾向を比較したところ、ヒト・鶏肉・鶏由来では共通してCC-3が多く認められること、さらにいずれもCTX-M-1型が多く見られることが示された。鶏肉由来株のCC-3型IncI1は接合伝達性を示すことから、鶏-鶏肉-ヒトにおける水平伝播にはCC-3型IncI1が寄与している可能性が示唆された。

市販鶏肉から分離されたVRE菌株では、昨年度同様、ヒト臨床分離株の遺伝特性との差異が認められることから、ヒト健康危

害の影響は少ないと想定された。しかし、ヒトへの危害となり得る VRE が鶏肉から検出された事例が少なからずとも存在するため、今後も市販鶏肉における VRE の危害分析を継続する必要があると考えられた。

E. 結論

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、その一つとして、接合伝達性である CC-3 型 IncI1 プラスミドによる伝播リスクが推測された。一方で、VRE によるヒト健康危害の影響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

- 1) 山本詩織、朝倉 宏、五十君静信：基質特異性拡張型 ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌に関わる最近の動向とその拡散に関する考察～食品汚染実態とその危害性について～、食品衛生学雑誌、印刷中

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：国内の市販鶏肉由来 ESBL 産生大腸菌が保有する IncI1 プラスミドの分子疫学的傾向とその特性について、第 90 回日本細菌学会総会、2017 年 3 月、宮城
- 2) 山本詩織、吉田麻利江、岡田由美子、朝倉 宏、五十君静信：市販鶏肉における ESBL 産生大腸菌及び VRE の汚染実態と分離株の遺伝特性について、日本防菌防黴学会第 43 回年次大会、2016 年 9 月、東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1 . ESBL 産生大腸菌および VRE 株の産地別陽性率

産地	ESBL 産生大腸菌株			VRE 株		
	陽性数	供試検体 数	陽性率 (%)	陽性数	供試検体 数	陽性率 (%)
北海道	2	3	66.7	1	1	100.0
青森	6	9	66.7	5	6	83.3
岩手	17	19	89.5	11	13	84.6
群馬	1	1	100.0	1	1	100.0
千葉	2	2	100.0	1	1	100.0
鳥取	2	3	66.7	1	2	50.0
佐賀	2	3	66.7	0	1	0.0
宮崎	11	11	100.0	4	4	100.0
鹿児島	6	9	66.7	5	7	71.4
小計(国産)	49	60	81.7	29	36	80.6
ブラジル	16	16	100.0	6	11	54.5
アメリカ	0	5	0.0	1	4	25.0
タイ	2	6	33.3	3	3	100.0
小計(輸入)	18	27	66.7	10	18	55.6
総計	67	87	77.0	39	54	72.2

表 2 . 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	22	I1, FIB, P, F	1
		I1, FIB, F	3
		FIB, A/C, F	1
		FIB, P, F	1
		N, FIB, F	1
		FIB, F	8
		F	2
CTX-M-9	18	-	5
		I1, FIB, F	2
		FIB, F	14
		F	1
		-	1
CTX-M-15	1	FIB, F	1
CTX-M-1 および CTX-M-15	19	I1, FIB, F	7
		N, FIB, F	3
		I1, F	2
		FIB, F	3
		I1	3
		P	1
CTX-M-2 および CTX-M-9	1	FIB, F	1

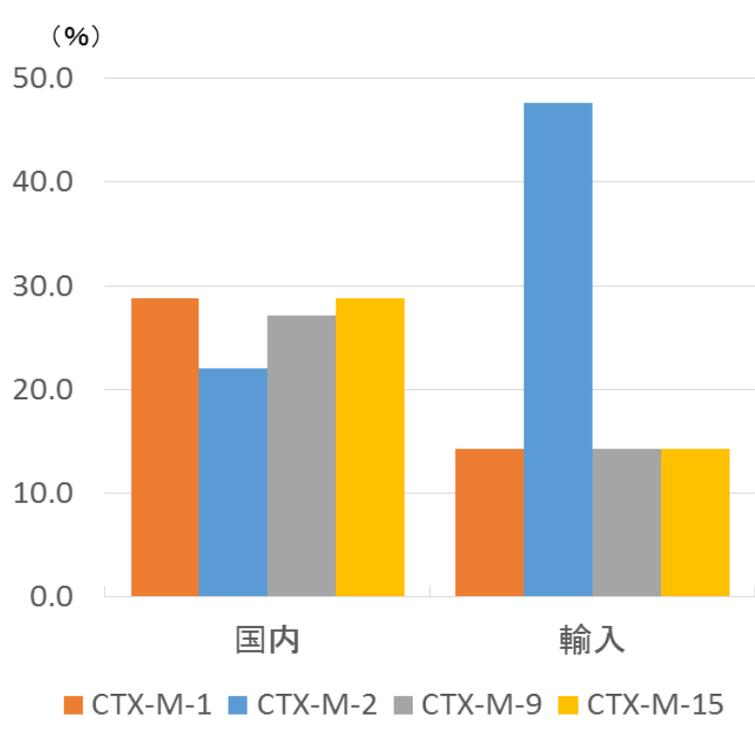


図 1 . 国産鶏肉と輸入鶏肉別の ESBL 産生遺伝子型別

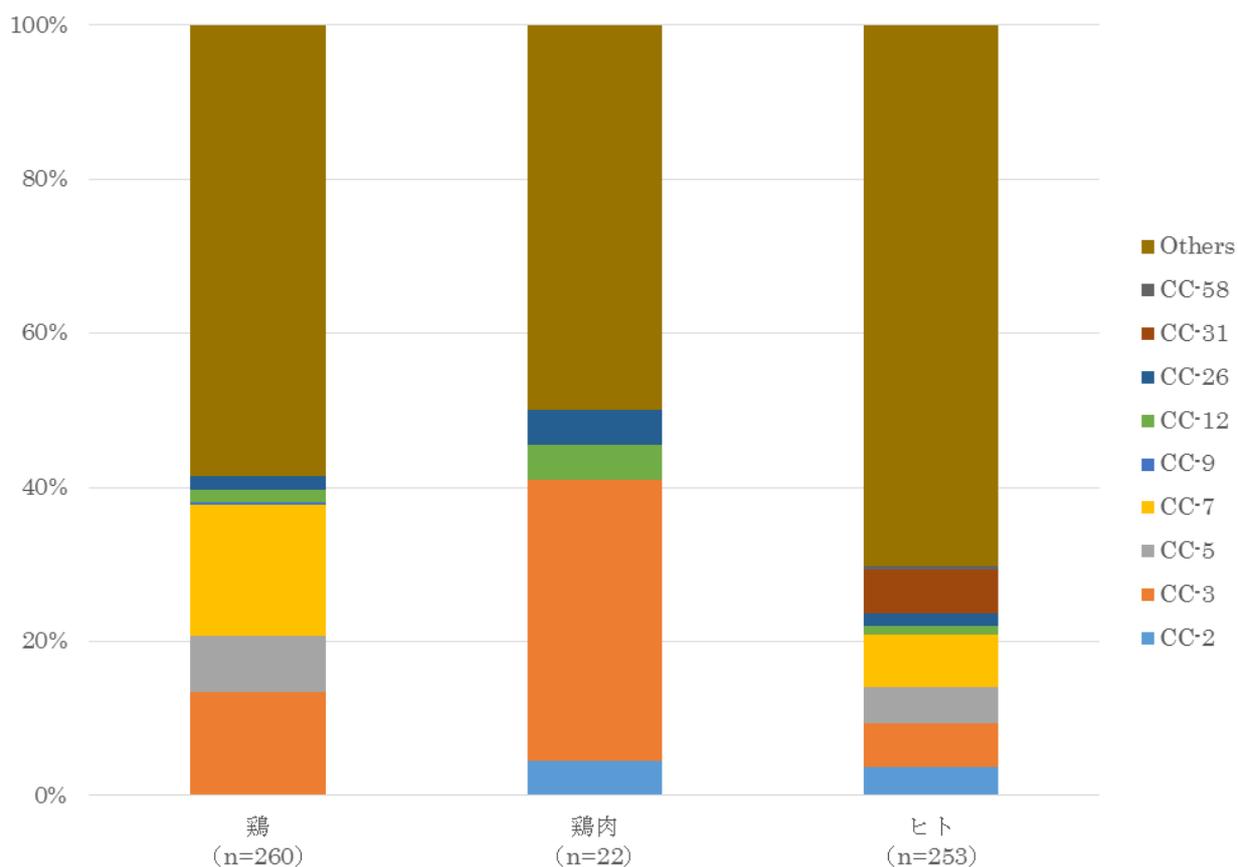


図 2 . 由来別 Incl1 プラスミドの pMLST 型別の比較