

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 29 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	砂押克彦	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、食品からの ESBL 産生菌の検索を行った。

埼玉県内で 2017 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 176 株で 48 血清型に型別された。薬剤耐性では 71 株（40.3%）が供試した 18 薬剤のいずれかに対して耐性を示した。CTX 耐性は 7 株、フルオロキノロン耐性は 1 株分離された。

ヒト由来腸管出血性大腸菌は 209 株が分離され、薬剤感受性試験では、209 株中 31 株（14.8%）が供試薬剤のいずれかに耐性を示した。

食品の汚染実態調査では、県内の市場で購入した食肉等 100 検体から分離されたサルモネラ 40 株中 33 株（82.5%）が供試した 18 薬剤にいずれかに耐性を示し、ヒト由来株の 40.3%よりも明らかに高い耐性率であった。また、内臓肉から分離された 04:i:- の 1 株がコリスチン（CL）の耐性遺伝子である *mcr-1* を保有していた。CTX 耐性株も 1 株分離され、血清型は *S. Manhattan*、耐性遺伝子は TEM を保有していた。カンピロバクターは 29 株が分離され、豚内臓肉および鶏レバーから EM 耐性株が分離された。

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、食肉等を対象に 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。

2. 食品由来

買い取りによる検体収集を行い、サルモネラ・カンピロバクター・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。

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)、セフトキサキ

シム (CTX; 30 μ g)、シプロフロキサシン (CPFX; 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)、スルフアメトキサゾール・トリメトプリム合剤 (ST; 25 μ g)、イミペネム (IMP; 10 μ g)、アミカシン (AMK; 30 μ g)、メロペネム (MEPM; 10 μ g)、セフォキシチン (CFX; 30 μ g)、セフトジジム (CAZ; 30 μ g)、コリスチン (CL; 10 μ 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 μ g)、ナリジクス酸 (NA; 30 μ g)、シプロフロキサシン (CPFX; 5 μ g)、ノルフロキサシン (NFLX; 5 μ g)、オフロキサシン (OFLX; 5 μ g)、エリスロマイシン (EM; 15 μ 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 2017 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 176 株は 48 血清型に型別され、*S. Schwarzengrund* と *S. Enteritidis* がそれぞれ 17 株と最も多く分離され、次いで *S. Saintpaul* が 16 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 176 株のうち 71 株 (40.3%) が 18 薬剤のいずれかに耐性を示した。由来別では国内有症者由来分離株が 111 株中 46 株 (41.4%) と国内無症者由来分離株 61 株中 21 株 (34.4%)

よりも耐性率が高かった。海外由来分離株を合わせた171株中71株(40.3%)が供試18薬剤のいずれかに耐性であった。血清型では最も多く分離された*S. Schwarzengrund*は17株中14株(82.4%)、*S. Enteritidis*は17株中14株(52.9%)が耐性を示した。一方、16株が分離された*S. Saintpaul*は5株(31.3%)が耐性であった。薬剤別の耐性状況を表2に示した。耐性71株中54株がSM耐性で、次いでTC耐性が48株、ABPC耐性が26株であった。CTXやCFXのセフェム系やCPFXやNFLXのフルオロキノロン系薬剤の耐性株も検出された。一方、供試18薬剤のうち、GM、FOM、IMP、AMK、MEPM、CLの6薬剤に対する耐性菌は検出されなかった。

分離株の区分別耐性パターンを表3に示す。SM・TC耐性が8株と最も多く、次いでSM耐性とSM・TC・ABPC耐性がそれぞれ7株であった。71株中52株が2剤以上の複数薬剤に耐性を示した。また、第3世代セフェム系薬剤であるCTXに対する耐性菌が7株、フルオロキノロン剤耐性株が1株分離された。CTX耐性菌及びフルオロキノロン剤耐性株について表4に示す。8例中7例が有症者からの分離であった。CTX耐性菌は耐性遺伝子CTX-M-15を保有する*S. Blockley*と、CTX-M-2を保有する*S. Heidelberg*及びDHA-1を保有する*S. Anatum*がそれぞれ1株、CTX-M-15を保有する*S. Saintpaul*が4株あった。フルオロキノロン耐性株は、血清型*S. Kentucky*であった。

(2) 腸管出血性大腸菌

埼玉県内で2017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5に示した。分離された209株で最も多く分離された血清型は、O157:H7が123株、次いでO26:H11が59株であった。分離209株の薬剤感受性試験の結果を表6に示す。供試した18薬剤のいずれかに耐性であったのは31株(14.8%)であった。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耐性で7株、次いでSM・TC耐性が5株であった。

(3) 食品からの分離

2017年6月から12月にかけて、埼玉県内の市場等で食肉等100検体を購入し、サルモネラ、カンピロバクター、腸管出血性大腸菌の検査を行った。その結果、牛肉・豚肉などの食肉からはいずれの菌種も分離されなかった。豚タン・鶏レバー等の内臓肉から、サルモネラは内臓肉60検体中30検体、カンピロバクターは16検体から分離された。鶏肉からは、サルモネラが内臓肉20検体中8検体、カンピロバクターは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7)。サルモネラの分離状況を表8に示す。内臓肉と鶏肉の両方から分離された血清型は*S. Schwarzengrund*、*S. Infantis*、*S. Manhattan*の3血清型であった。薬剤感受性では、分離された40株中33株(82.5%)が供試した18薬剤にいずれかに耐性を示し、ヒト由来株の40.3%よりも明らかに高い耐性率であった。また、内臓肉から分離されたO4:i:-の1株がコリスチン(CL)の耐性遺伝子である*mcr-1*を保有していた。CTX耐性株も1株分離され、血清型は*S. Manhattan*、耐

性遺伝子はTEMを保有していた。カンピロバクターは、鶏肉や内臓肉 80 検体中 25 検体 29 株が分離され、豚内臓肉および鶏レバーから EM 耐性株が分離された（表 9）。

食品のESBL産生大腸菌の検索では、鶏肉 20 検体中 2 検体から 2 株、内臓肉 60 検体中 15 検体から 24 株が分離された（表 10）。保有耐性遺伝子は、CTX-M-9group、CTX-M-1group および TEM のいずれか、あるいは複数で保有していた。また、ディスク法でCTXのみならずフルオロキノロン剤に耐性を示す株も分離された。

(4) 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 29 検体中 1 検体から 2 株分離されたが、サルモネラは分離されなかった。薬剤感受性では分離されたカンピロバクターは供試 6 薬剤のいずれにも感受性であった（表 11）。

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。サルモネラでは、2016年に引き続きヒト由来株からCTX耐性菌やフルオロキノロン耐性菌が分離され、食品からもCTX耐性菌が分離され、血清型からもその共通性が示唆された。また、コリスチン耐性遺伝子 (*mcr-1*) の検出を検討したところ、内臓肉から分離された 04:i:- の 1 株が

mcr-1 を保有していた。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剤耐性株の分離が続いており、*mcr-1* を保有するサルモネラも分離されたことから、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 (2017)

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	6	7(1)		13(1)
	S.Schwarzengrund	5(4)	12(10)		17(14)
	S.Saintpaul	11(4)	5(1)		16(5)
	S.Reading	1	1(1)		2(1)
	S.Chester	3(1)	2		5(1)
	S.Sandiego	3(1)			3(1)
	S.Agona	3(3)	1(1)		4(4)
	S.Typhimurium	1(1)			1(1)
	S.Brandenburg	1(1)			1(1)
	S.Heidelberg	1(1)			1(1)
	O4:i:-	8(8)	2(2)		10(10)
	O4:b:-	1			1
O7	S.Isangi	1			1
	S.Braenderup	1	1		2
	S.Montevideo		1		1
	S.Thompson	3	2		5
	S.Potsdam	1			1
	S.Virchow	1	2		3
	S.Infantis	9(4)	1		10(4)
	S.Bareilly	1			1
	S.Mbandaka		1		1
	S.Tennessee	3	1		4
O8	S.Nagoya	3	3		6
	S.Muenchen	1	3(1)		4(1)
	S.Manhattan	3(3)	1(1)		4(4)
	S.Newport	3	1		4
	S.Kentucky	2(1)			2(1)
	S.Blockley	1(1)			1(1)
	S.Litchfield	2(1)	2		4(1)
	S.Corvallis	2	1		3
	S.Albany		2(1)		2(1)
	S.Hadar		1(1)		1(1)
	O8:b:-		1		1
	O8:d:-	1(1)			1(1)
O8:-:-	1	1		2	
O9	S.Typhi			4(4)	4(4)
	S.Enteritidis	17(9)			17(9)
	S.Panama	2			2
	S.Javiana		1		1
O3,10	S.Anatum	2(1)	2(1)		4(2)
	S.Weltevreden	1	1		2
O13	S.Havana		1		1
	O13:m,t:-	1			1
OUT	OUT:b:en,x	2			2
	OUT:i:1,2		1		1
	OUT:r:1,7	1			1
	OUT:-:1,7	1(1)			1(1)
計	111(46)	61(21)	4(4)	176(71)	

(): 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（2017）

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	KM	SM	TC	SXT	CP	CTX	NA	CPFX	NFLX	CFX	CAZ
4	Stanley	13	1					1							
4	Schwarzengrund	17	14		11	11	11	5		1	2				
7	Infantis	10	4		1	4	4	1			2				
8	Muenchen	4	1			1	1								
8	Manhattan	4	4			4	3								
8	Kentucky	2	1	1			1				1	1	1		
8	Blockley	1	1	1	1	1	1		1	1					1
8	Litchfield	4	1			1									
8	Albany	2	1	1		1					1				
8	Hadar	1	1		1		1								
8	O8:d-	1	1			1	1								
9	Typhi	4	4	1		1		1	1		1				
9	Enteritidis	17	9	1		6	1				4				
3,10	Anatum	4	2	2		2	2	2	2		2			2	1
UT	OUT:-:1,7	1	1				1		1						
計		128	71	7	14	54	48	10	5	2	13	1	1	2	2

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 (2017)

	国内		海外	計
	有症者	無症者		
供試菌株数	111	61	4	176
耐性株数	46	21	4	71
(%)	41.4%	34.4%	100.0%	40.3%
薬剤耐性パターン				
CP	1			1
SM	7			7
TC	1			1
KM	1	1		2
NA	3		3	6
SXT	1	1		2
SM・TC	5	3		8
SM・ABPC	1	1		2
TC・KM		1		1
NA・SXT	1			1
SM・TC・KM	3	4		7
SM・TC・ABPC	4	2		6
SM・TC・NA	1			1
SM・ABPC・NA		1		1
SM・TC・SXT		1		1
CP・TC・ABPC・NA	1			1
SM・TC・ABPC・NA	3			3
SM・TC・KM・SXT	1	3		4
SM・TC・NA・SXT	1			1
CP・SM・ABPC・NA・SXT			1	1
SM・TC・KM・NA・SXT		1		1
SM・TC・ABPC・NA・CTX	1			1
SM・TC・ABPC・NA・SXT	3			3
TC・ABPC・NA・CPFX・NFLX	1			1
CP・SM・TC・KM・ABPC・SXT	1			1
CP・SM・TC・KM・ABPC・CTX・CAZ	1			1
CP・SM・TC・ABPC・NA・CTX・SXT	3	1		4
CP・SM・TC・ABPC・NA・SXT・CFX		1		1
CP・SM・TC・ABPC・NA・CTX・SXT・CFX・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: セフトキシム, 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, SXT: ST合剤, CAZ: セフトジジム, CFX: セフォキシチン

表4 フルオロキノロン耐性およびCTX耐性 *Salmonella* 分離例 (2017)

No.	OH血清型	血清型名	区分	耐性パターン	備考
1	O8:k:1,5	Blockley	有症者	CP・SM・TC・KM・ABPC・CTX・CAZ	<i>bla</i> CTX-M-15
2	O4:r:1,2	Heidelberg	有症者	SM・TC・ABPC・NA・CTX	<i>bla</i> CTX-M-2
3	O8:i:z ₆	Kentucky	有症者	TC・ABPC・NA・CPFX・NFLX	
4	O4:eh:1,2	Saintpaul	有症者	CP・SM・TC・ABPC・NA・CTX・SXT	<i>bla</i> CTX-M-65
5	O4:eh:1,2	Saintpaul	有症者	CP・SM・TC・ABPC・NA・CTX・SXT	<i>bla</i> CTX-M-65
6	O4:eh:1,2	Saintpaul	有症者	CP・SM・TC・ABPC・NA・CTX・SXT	<i>bla</i> CTX-M-65
7	O3,10:eh:1,6	Anatum	有症者	CP・SM・TC・ABPC・NA・CTX・SXT・CFX・CAZ	<i>bla</i> DHA-1
8	O4:eh:1,2	Saintpaul	無症者	CP・SM・TC・ABPC・NA・CTX・SXT	<i>bla</i> CTX-M-65

表5 腸管出血性大腸菌の血清型と毒素型 (2017)

血清型	毒素型			計
	VT1	VT2	VT1&2	
O157:H7		87	36	123
O157:H-		3	4	7
O26:H11	59			59
O26:H-	2			2
O111:H-	1		3	4
O84:H-	1			1
O91:H-	2	1		3
O93H7		1		1
O100:H-		1		1
O121:H19		5		5
O145:H-	1			1
O146H10	1			1
OUT:H-		1		1
	67	99	43	209

表6 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 (2017)

	O157H7	O157H-	O26H11	O26H-	O111H-	O91H-	O121H19	O145H-	OUTH-	その他*	計
供試菌株数	123	7	59	2	4	3	1	1	1	4	209
耐性株数	13	3	5	1	4	2	1	1	1	0	31
(%)	10.6%	42.9%	8.5%	50.0%	100.0%	66.7%	100.0%	100.0%	100.0%	0.0%	14.8%
薬剤耐性パターン											
SM	2	3				1			1		7
TC						1					1
KM	1										1
ABPC			2								2
SM・TC	4							1			5
SM・ABPC	3			1							4
CP・SM・TC	1										1
CP・SM・TC・ABPC	1										1
SM・TC・ABPC・SXT	1										1
SM・TC・KM・ABPC								1			1
SM・TC・KM・ABPC・SXT			3								3
CP・SM・TC・KM・SXT					1						1
CP・SM・TC・KM・ABPC・SXT					3						3

*O84H-(1),O93H7(1),O100H-(1),O146H10(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

表 7 食品からの食中毒菌分離状況 (2017)

検体の種類	検体数	サルモネラ	カンピロバクター
食肉*	20	0	0
内臓肉**	60	30	16
鶏肉	20	8	9
計	100	38	25

表 8 食品からのサルモネラ分離状況 (2017)

検体	検査数	陽性数(株数)	血清型(耐性薬剤)
食肉	20	0	
内臓肉	60	30 (32)	S.Schwarzengrund(SM,TC,KM,SXT) (3) S.Derby(-) (2) S.Derby(SM) (1) S.Derby(SM,TC,ABPC) (1) S.Stanley(-) (1) S.Saintpaul(-) (1) S.Bredeney(-) (1) S.Brandenburg(CP,SM,TC,KM,ABPC,SXT) (1) O4: i :- (TC) (2) O4: i :- (ABPC,CL) (1) O4: i :- (SM,TC) (2) O4: i :- (SM,TC,ABPC) (3) O4: i :- (CP,SM,TC,KM,ABPC,SXT) (1) S.Bradford(SM,TC,KM) (1) S.Infantis(SM,TC) (2) S.Infantis(SM,TC,KM) (1) S.Infantis(SM,TC,KM,SXT) (1) S.Manhattan(SM) (1) S.Manhattan(SM,TC,NA) (2) S.Manhattan(SM,TC,ABPC,CTX,CAZ) (1) S.Rissen(SM,TC,ABPC) (1) S.Anatum(-) (2)
鶏肉	20	8 (8)	S.Schwarzengrund(SM,TC,KM,SXT) (2) S.Infantis(KM) (1) S.Infantis(SM,TC,KM,SXT) (1) S.Infantis(SM,TC,SXT) (2) S.Manhattan(SM,TC,ABPC,CTX) (1) S.Manhattan(SM) (1)

内臓肉：豚タン、豚カシラ、鶏レバー、砂肝

表9 食品からのカンピロバクター分離状況 (2017)

検体	検体数	陽性検体数	種(検出数)	耐性パターン(検出株数)
食肉	20	0		
豚内臓肉	40	4	<i>C. jejuni</i> (1) <i>C. coli</i> (3)	感受性(1) TC・EM(1) TC(1) 感受性(1)
鶏肉	20	9	<i>C. jejuni</i> (9) <i>C. coli</i> (1)	NA・CPFX・NFLX・OFLX(5) 感受性(4) NA・CPFX・NFLX・OFLX(1)
鶏レバー 砂肝	20	12	<i>C. jejuni</i> (15)	NA・CPFX・NFLX・OFLX・EM(1) TC・NA・CPFX・NFLX・OFLX(3) NA・CPFX・NFLX・OFLX(4) TC(1) 感受性(6)

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ESBL産生大腸菌分離状況 (2017)

検体	検査数	陽性数	保有耐性遺伝子 (株数)
食肉	20	0	
内臓肉	60	15	TEM(6) CTX-M-1group(8) CTX-M-9group(3) TEM,CTX-M-1group(5) TEM,CTX-M-9group(2)
鶏肉	20	2	TEM(2)

表 11 鶏と体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 (2017)

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	29	0	0	
カンピロバクター	29	1	2	感受性(2)

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*