

食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究
分担課題 地研ネットワークを利用した食品およびヒトから分離される
サルモネラ、大腸菌、カンピロバクター等の薬剤耐性の動向調査

研究分担者

四宮博人 (愛媛県立衛生環境研究所)

研究協力者

調 恒明 (山口県環境保健センター)
小川恵子、大野祐太、三津橋和也、 (北海道立衛生研究所)
池田徹也、森本 洋
山上剛志、高橋洋平、武差愛美 (青森県環境保健センター)
小林妙子 (宮城県保健環境センター)
倉園貴至 (埼玉県衛生研究所)
小西典子 (東京都健康安全研究センター)
横山栄二 (千葉県衛生研究所)
古川一郎、政岡智佳 (神奈川県衛生研究所)
吉野友章、松本裕子、小泉充正 (横浜市衛生研究所)
柳本恵太 (山梨県衛生環境研究所)
綿引正則、加藤智子 (富山県衛生研究所)
東方美保、永田暁洋、岩崎理美、児玉 佳 (福井県衛生環境研究センター)
柴田伸一郎 (名古屋市衛生研究所)
坂田淳子、梅川奈央、高橋佑介、若林友騎 (大阪健康安全基盤研究所)
福田弘美、東野和直 (堺市衛生研究所)
吉田孝子 (奈良県保健研究センター)
荻田堅一、坂野 桂、秋山由美 (兵庫県立健康科学研究所)
川瀬 遵、小谷麻祐子 (島根県保健環境科学研究所)
狩屋英明、森本晃司、仲 敦史 (岡山県環境保健センター)
清水裕美子、竹原佑美 (広島市衛生研究所)
福田千恵美 (香川県環境保健研究センター)
大羽広宣、村瀬浩太郎、有川衣美 (北九州市保健環境研究所)
鈴木仁人、甲斐明美 (国立感染症研究所)
青野 学、仙波敬子、木村千鶴子、 (愛媛県立衛生環境研究所)
阿部祐樹

研究要旨

薬剤耐性菌を制御するためには、環境—動物—食品—ヒトを包括するワンヘルス・アプローチが重要である。前回の本研究班の調査で、多くの地方衛生研究所（以下、地研）が、食品由来菌の薬剤耐性菌検査を実施していることが明らかにされた。地研ネットワークの協力により、ヒト及び食品由来サルモネラ株、大腸菌株、カンピロバクター株について薬剤耐性状況を調査した。今期（2018年）分離株と合わせ、サルモネラに関しては、2015～2018年に分離されたヒト由来 1425株中の 574株（40.3%）、及び食品由来 433株中の 388株（89.6%）株が、18剤中の 1剤以上に耐性を示した。年次毎の耐性率はほぼ同様であり、現在の日本の状況を反映していると考えられる。多剤耐性状況については、ヒト及び食品由来株ともに 3剤耐性が多く、6から 10剤に耐性を示す高度耐性株も、ヒト由来株中に 25株、食品由来株中に 36

株認められた。2015～2018年分離のサルモネラ株について血清型別の詳細な解析を行ったところ、食品由来株では血清型別の耐性傾向に共通する部分が多いがそれぞれに特徴的な点も認められ、ヒト由来株においては血清型別に特徴的な耐性傾向が認められた。また、ヒト由来株のうち食品からも分離された血清型、*S. Infantis*、*S. Schwarzengrund*、*S. Manhattan* 株ではヒト由来株と食品由来株の耐性傾向に強い類似性があり、食品由来耐性菌とヒト由来耐性菌との関連が強く示唆された。一方、大腸菌については、2015～2018年分離のヒト由来1034株中の375株(36.3%)、及び食品由来32株中の18株(56.3%)が1剤以上に耐性を示した。腸管出血性大腸菌(EHEC)以外の下痢原性大腸菌株の耐性率がEHEC株よりも2倍以上高かったが、多剤耐性状況は両者で類似していた。その他の大腸菌株(非病原性大腸菌を含む)は6剤以上の多剤耐性株が多く、下痢原性大腸菌株よりも高度の多剤耐性傾向を示した。カンピロバクター株については、全国の地研で共通のプロトコル及び判定表を新規に作成し、統一した方法で感受性検査と判定を行った。*C. jejuni*株ではヒト由来株と食品由来株の耐性傾向に強い類似性があり、食品由来耐性菌とヒト由来耐性菌との関連が強く示唆された。食品由来菌の薬剤耐性調査に関して、統一された方法による組織だった全国規模の調査は、本研究班で実施されている。これらのデータは、我が国の「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書」及びWHOのGLASSに提供されている。また、JANISやJVARMなど既存の薬剤耐性データベースと統合し一元化することも本研究班で可能となり、ワンヘルス・アプローチに基づく感染制御に繋がることが期待される。

A. 研究目的

薬剤耐性(AMR)の問題は医療現場に限定されるものではなく、環境—動物—食品—ヒトなどを包括するワンヘルス・アプローチが重要であるという認識が共有され、WHOは「AMRに関するグローバルアクションプラン」を採択し、我が国においても「AMR対策アクションプラン」が策定された。このうち、動物については農林水産省で実施しているJVARM(Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring System)による耐性菌モニタリングシステムがあり、病院内の耐性菌については厚生労働省で行われているJANIS(Japan Nosocomial Infections Surveillance)によるサーベイランスがある。一方、食品由来耐性菌については、これらのシステムではモニタリングされていない。

地方衛生研究所(以下、地研)は、従来から食中毒原因菌等の食品由来細菌の検査を実施してきたが、これに基づき、前回の本研究班において当分担任は、全国の地研において収集されているヒト及び食品由来細菌の薬剤耐性に関する情報収集体制の構築を担当した。全国的調査のために、プロトコル(サルモネラ、大腸菌)、薬剤、器材等を統一して感受性検査を実施し、さらに、ワンヘルス・アプローチのために、地研のデータをJANISやJVARMのデータと統合し一元化する方法論を開発した。

今回の本研究班において、当分担任は全国の地研ネットワークと協力し、ヒト及び食品から分離されたサルモネラや大腸菌の薬剤耐性状況を引き続き調査するとともに、カンピロバクターについても統一されたプロトコルや判定表を作成して感受性検査を実施し、食品由来耐性菌に関する情報収集体制をさらに強固にすることを旨とする。得られたデータは、WHOグローバルアクションプランの一環として展開されている、GLASS(Global Antimicrobial Resistance Surveillance System)に報告する日本のデータベース構築に提供されるとともに、我が国の「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書」に提供され、延いては、ワンヘルス・アプローチに基づく薬剤耐性制御に繋げていく。

B. 研究方法

1. 薬剤耐性調査対象菌株

2018年にヒト(患者)及び食品から分離され、サルモネラ属菌、大腸菌、カンピロバクター・ジェジュニ/コリと判定された菌株を対象とした。ヒト由来株は、感染性胃腸炎や食中毒の患者検体から分離されたものを対象とし、検体情報として、性別、年齢、症状、検体の種類、分離年を可能な範囲で求めた。食品由来株は、分離した食品の種類、分離年月日を求め、食品が食肉の場合は、国産、輸入(国名)、不明の

情報を記載した。

2. 薬剤感受性検査

協力 23 地研においてサルモネラ属菌及び大腸菌と判定された菌株を用い、昨年度研究報告書に記載した方法により感受性試験と判定を実施した。カンピロバクターについては、末尾に添付した「渡邊班地研グループ薬剤感受性検査プロトコル及び判定表」にしたがって、CLSI ディスク拡散法による薬剤感受性検査を実施した。以上の菌株について、検査に用いる感受性ディスク等の試薬、ディスクディスペンサーやノギス等の器具は全ての地研で共通のものを用いた。寒天・血液寒天平板上の感受性ディスクの配置は、阻止円が融合しないように配置した。阻止円径を測定し、結果表に記入した。

3. 結果の報告・集計と解析

サルモネラ株及び大腸菌株については、検体情報と菌株情報（血清型）を記載した。大腸菌株はさらに病原因子やマーカー遺伝子の有無から、下痢原性大腸菌分類（腸管出血性大腸菌 EHEC、腸管毒素原性大腸菌 ETEC、腸管侵入性大腸菌 EIEC、腸管病原性大腸菌 EPEC、腸管凝集付着性大腸菌 EAaggEC、他の下痢原性大腸菌）に分類した。カンピロバクター株については検体情報と菌株情報（*C. jejuni*、*C. coli*）を記載した。以上の菌株について、感受性ディスク阻止円径と SIR 判定結果を感受性検査結果表に記載し、研究分担者である愛媛県立衛生環境研究所に送付し、集計・解析を行った。なお、コリスチンについては、CLSI ディスク拡散法の SIR 判定表がないため、阻止円径のみを記載した。

4. サルモネラ株の血清型別薬剤耐性解析

2015～2018 年分離のサルモネラ株を対象に、血清型別に各種抗菌剤に対する耐性率を解析し、血清型間で比較した。

倫理面への配慮

本研究課題は、分担者を研究代表者、協力地研担当者を研究協力者として、愛媛県立衛生環境研究所倫理審査委員会でも審査され、承認された。本審査にしたがい、全ての分離株及び調査情報は個人を特定できる情報を含まない状態で収集し、本研究に用いた。

C. 研究結果

1. ヒト及び食品から分離されたサルモネラ

株の内訳と血清型

2018 年に収集されたサルモネラ株は、ヒト由来 240 株、食品由来株 82 株、総計 322 株で、それぞれの内訳と耐性率を表 1 及び表 2 に示す（株数は 2019 年 3 月 2 日までの集計で、暫定的なものである）。1 剤以上に耐性を示した菌株の割合（耐性率）は、ヒト由来株 35.8%、食品由来株 89.0%で、前回の本研究班で 2015 年～2017 年に収集された菌株の結果と同様であった。2015 年～2017 年に収集されたサルモネラ株と合わせた、ヒト由来 1425 株、食品由来株 433 株について、H 抗原を含めた血清型別の割合を図 1 に示す。ヒト由来株は非常に多様で 60 種以上の血清型を含んでいたが、食品由来株では 20 種類以下であった。これらのうち、ヒト由来株の上位 10 血清型及び食品由来株の上位 5 血清型を図 1 に示す。図中の「その他」についても大部分は型別されている。

2. ヒト及び食品から分離されたサルモネラ株の薬剤耐性状況

2015 年～2018 年に収集されたヒト由来株 1425 株及び食品由来株 433 株の 18 剤に対する耐性率を年次別に示す（表 3、4）。ヒト由来株、食品由来株ともに、TC、SM に対する耐性率が最も高く、ABPC、KM、NA、ST がそれらに続く耐性率であったが、KM は食品由来株で耐性率が高い傾向が見られた。基質特異性拡張型 β ラクターマーゼ (ESBL) 産生菌及び AmpC 型 β ラクターマーゼ (AmpC) 産生菌との関連が示唆される CTX、CAZ、CFX 耐性も数%認められ、食品由来株でやや高い傾向であった。一方、アミノグリコシド系薬 GM、AMK、キノロン系薬 CFX、NFLX、ホスホマイシン系薬 FOM、カルバペネム系薬 IPM、MEPM に対する耐性率は低いか、0%であった。全体として、年次別に顕著な違いは認められなかった。

3. ヒト及び食品から分離されたサルモネラ株の血清型別の耐性率の比較

2015 年～2018 年に収集されたサルモネラ株について血清型別の詳細な解析を行った。食品由来株（433 株）において、*S. Infantis*、*S. Schwarzengrund*、*S. Manhattan* は、これらで全体の約 8 割を占め、国産鶏肉から検出される主要な血清型と考えられる。*S. Infantis* 及び *S. Schwarzengrund* 株の各種抗菌剤に対する耐性率を年次別に示す（表 5、6）。また、2015 年～2018 年に収集された *S. Infantis*、*S. Schwarzengrund*、*S. Manhattan* の計 344 株

の耐性率を図 2 に示す。これらの菌株には共通する点が多いが、それぞれの血清型に特徴的な点も認められた。すなわち、*S. Schwarzengrund* では CTX、CAZ、CFX 耐性が低く、*S. Manhattan* では KM 耐性が認められず、ST 耐性も低かった。

一方、ヒト由来株 (1425 株) の上位 5 位を占める、*S. Infantis*、*S. Enteritidis*、*S. Thompson*、*S. 4:i:-*、*S. Saintpaul* の計 627 株の各種抗菌剤に対する耐性率を年次別に示す (表 7、8、9、10、11)。それぞれの血清型で多少の年次間の増減は認められるが、全体的傾向として血清型別の耐性率に興味深い特徴が認められたので、上記 5 種の血清型に *S. Schwarzengrund* を加えた 6 種の血清型株について相互に比較した (図 3)。*S. 4:i:-* は国産鶏肉からの検出率は低いがヒトでは主要な血清型の一つで、ABPC、SM、TC に対する耐性率が最も高く、国産鶏肉由来株の主な血清型である *S. Infantis* と *S. Schwarzengrund* では ABPC 耐性率は低いが SM、TC 耐性率は高かった。一方、鶏肉よりも鶏卵から分離される *S. Enteritidis* では SM、TC 耐性率は低く、本調査において食品からは分離されなかった *S. Saintpaul* 及び *S. Thompson* においても SM、TC 耐性率は低かった (図 3)。

次に、ヒト由来株と食品由来株の両方で認められ、かつ食品由来株の主要な血清型である *S. Infantis*、*S. Schwarzengrund*、*S. Manhattan* について、ヒト由来株と食品由来株の各種抗菌剤に対する耐性率を比較すると (表 12、図 4)、両血清型ともヒト由来株と耐性傾向が非常に類似しており、*S. Schwarzengrund* と *S. Manhattan* では耐性率そのものもヒト由来株と近似であった (図 4)。

4. ヒト及び食品から分離された大腸菌株の薬剤耐性状況

2015~2018 年分離のヒト由来大腸菌 1034 株のうち、18 剤の 1 剤以上に耐性を示した株は 375 株で、耐性率は 36.3%であった (表 13)。大腸菌株の分類別耐性率は、EHEC27.6%、EHEC 以外の下痢原性大腸菌 73.5%、その他 69.0%であり、EHEC 以外の下痢原性大腸菌株の耐性率が EHEC 株よりも 2 倍以上高かった。一方、食品 (牛肉、鶏肉など) 由来株 32 株のうち、18 株が 1 剤以上に耐性で、耐性率は 56.3%であった。分類別耐性率は、EHEC33.3%、EHEC 以外の下痢原性大腸菌 69.2%であった。

5. ヒト及び食品から分離された大腸菌株の多剤耐性状況及び各種抗菌剤に対する耐性率について

ヒト由来株のうち、18 剤の 1 剤以上に耐性を示した EHEC 以外の下痢原性大腸菌株の頻度は EHEC 株より 2 倍以上高かったが (表 13)、多剤耐性傾向については両者間で大きな差がなく、一方、非病原性大腸菌を含むその他の大腸菌株では下痢原性大腸菌と比べて 7 剤~12 剤の多剤耐性株の頻度が高かった (図 5)。各種抗菌剤に対する耐性率では、ABPC、ST、CTX、NA 及びキノロン系薬 CPF、NFLX に対して、EHEC 以外の下痢原性大腸菌株が EHEC 株よりも耐性率が高く、その他の大腸菌株は CTX、CAZ、CFX、キノロン系薬及びカルバペネム系薬 MEPM 等に耐性を示し、高度の耐性傾向であった (図 6)。

ESBL 産生菌及び AmpC 産生菌との関連が示唆される CTX、CAZ、CFX に耐性の株が、ヒト由来株中に 49 株が見いだされた。図 7 に示すように、下痢原性大腸菌株の大部分はこれら 3 剤のうち 1 剤に耐性を示し、その他の大腸菌株の多くは 2~3 剤に耐性を示した。

外国産食品及び国産食品から分離された大腸菌株の各種抗菌剤に対する耐性率を比較すると (図 8)、GM、AMK、CTX、キノロン系薬 CPF、NFLX 等に対して、外国産食品由来株の耐性率が国産食品由来株よりも高く、国産、外国産間で異なる傾向が見られた。

6. ヒト及び食品から分離されたカンピロバクター株の薬剤耐性状況

カンピロバクター株については、全国の地研で共通のプロトコル及び判定表を、朝倉、小西研究分担者と共同で作成し、統一した方法で感受性検査と判定を行った (本稿末尾資料)。分離株数が多い *C. jejuni* 株ではヒト由来株と食品由来株の耐性傾向に強い類似性があり、食品由来耐性菌とヒト由来耐性菌との関連が強く示唆された (図 9)。*C. coli* は菌株数が多くないが、ヒト由来株、食品由来株とも、EM 及び CPF に対する耐性率が *C. jejuni* 株よりも明らかに高かった (データは示していない)。

D. 考察

前回の本研究班での調査に引き続き、全国 23 地研の協力を得て、ヒト (有症者、大部分は便検体) 及び食品 (大部分は国産鶏肉) から、2018 年に分離されたサルモネラ株の薬剤耐性状況を調査した。ヒト由来株 (240 株) は 35.8%、

食品由来株（82株）は89.0%が、1剤以上の抗菌剤に耐性を示した。2015～2018年の年次毎の耐性率はほぼ同様で、現在の日本における状況を反映していると考えられる。ヒト由来サルモネラ株の血清型は非常に多様で多くの型が含まれていたが、食品由来株は5種類の型が85%を占め、ある程度限定された血清型が養鶏場等で定着している可能性が示唆された。

多剤耐性状況については、ヒト由来株では1剤と3剤耐性、食品由来株では2剤、3剤耐性が多かった。6剤～10剤に耐性を示す高度耐性株も、ヒト由来株中に25株、食品由来株中36株認められた。高度の多剤耐性株ではプラスミドのゲノム解析やその伝達リスクについて調査する必要がある。

2015～2018年に分離されたサルモネラ株を対象に血清型別の耐性率パターンを解析すると、食品由来（主として国産鶏肉）株として主要な *S. Infantis*、*S. Schwarzengrund*、*S. Manhattan* では、各種抗菌剤に対する耐性率に共通する部分が多いが、血清型に特徴的な点も認められた。例えば、*S. Manhattan* ではKM耐性が全く認められなかった。このような違いは養鶏場等での使用抗菌剤の種類を反映しているのかもしれない。一方、ヒト由来株においては、血清型別の耐性率に特徴的な点が認められた。それぞれの血清型において、ヒトの感染に至るまでの生息環境における抗菌剤への暴露の違いを反映しているのかもしれない。鶏肉から分離される *S. Infantis* 及び *S. Schwarzengrund* は耐性率が高い傾向であった。今回の調査で鶏肉から分離されないか、分離が少ない血清型である、*S. Enteritidis*、*S. Thompson*、*S. 4:i:-*、*S. Saintpaul* では、*S. 4:i:-*を除いて各種抗菌剤に対する耐性率があまり高くない傾向であったが、*S. 4:i:-*はABPC、SM、TCに対して耐性率が高く、抗菌剤を投与される食用鶏以外の保菌動物の存在が示唆される。

食品由来耐性菌とヒト由来耐性菌の両方で認められる *S. Infantis*、*S. Schwarzengrund*、*S. Manhattan* では、ヒト由来株と食品由来株の耐性傾向に強い類似性があり、食品由来株がヒトサルモネラ症の感染源になっていることが示唆される。*S. Schwarzengrund* と *S. Manhattan* では耐性率そのものも近似であり、より直接的に感染源になっている可能性が高い。*S. Infantis* ではヒト由来株の耐性率は食品由来株の4割程度で、鶏肉だけでなく、複数の感染経路があるのかもしれない。今回の結果は、

いくつかの血清型について感染経路を具体的に推測させるもので、今後の研究と相まって、ワンヘルス・アプローチに基づく感染制御に繋がることが期待される。

ヒト及び食品由来大腸菌株においても興味ある知見が得られた。EHEC、EHEC以外の下痢原性大腸菌株、その他の大腸菌株の間で、抗菌剤に対する耐性率が相当に異なることが明らかにされた。生息環境の違いによって、抗菌剤に対する選択圧や薬剤耐性遺伝子の伝達頻度が異なることが可能性として示唆される。また、外国産食品由来株の耐性状況が国産食品由来株と異なることが示唆され、今後検体数を増やして調査する必要がある。

カンピロバクターについても、今回新たに感受性検査プロトコルと判定基準を決定し、全ての協力地衛研が統一された方法で検査を実施した。*C. jejuni* 株ではヒト由来株と食品由来株の耐性傾向に強い類似性があり、食品由来耐性菌とヒト由来耐性菌との関連が強く示唆された。また、*C. coli* は菌株数が多くないが、ヒト由来株、食品由来株とも、EM及びCPFXに対する耐性率が *C. jejuni* 株よりも明らかに高かった。

JANIS 及び JVARМ には食品由来薬剤耐性菌の情報は含まれないことから、環境-動物-食品-ヒトを包括するワンヘルス・アプローチにおいて、地研における食品由来菌の耐性データは重要である。また、ヒト便検体由来サルモネラ株の耐性データについても地研での集積が大きいと言われている。JANIS 及び JVARМ は、それぞれ病院及び動物由来耐性菌データベースであるが、本研究班で開発された相互変換ソフトウェアによって、地研での薬剤耐性菌のデータをこれらと合わせ一元化することが可能となった。今後、三者のデータをナショナルサーベイランスとして充実させ、ワンヘルス・アプローチに基づく薬剤耐性制御に繋げていくためには、地研による食品由来耐性菌のモニターを継続して実施していくネットワーク整備が必要である。

E. 結論

全国23地研の協力を得て、2015～2018年に分離されたヒト及び食品由来のサルモネラ株と大腸菌株、及び2018年分離のカンピロバクター株について薬剤耐性状況を調査し、集計された耐性データを解析した。食品由来菌の薬剤耐性調査に関して、統一された方法による組織だった全国規模の調査は、本研究班で実施され

ている。地研における薬剤耐性データを JANIS や JVARM など既存の薬剤耐性データベースと統合し一元化することも本研究班で可能となり、環境—動物—食品—ヒトを包括するワンヘルス・アプローチに基づく感染制御に繋がることが期待される。

F. 健康危険情報

(総括研究報告書にまとめて記載)

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 四宮博人：食品由来細菌の薬剤耐性モニタリング—特にサルモネラ属菌について、シンポジウム「薬剤耐性ワンヘルスアプローチ」第 71 回日本細菌学会中国・四国支部総会、2018.10.6-7、松山
- 2) Semba Keiko, Yuki Abe, Sachiyo Sonobe, Manabu Aono, Komei Shirabe, Akei Kai, Keigo Shibayama, Makoto Onishi, Haruo Watanabe and Hiroto Shinomiya: Monitoring of antimicrobial resistance in *Salmonella* spp. of food origin from 2015–2017 in Japan. 第 92 回日本細菌学会総会、2019.4.23-25、札幌 (予定)
- 3) Yuki Abe, Tsuyoshi Sekizuka, Sachiyo Sonobe, Keiko Semba, Manabu Aono, Makoto Kuroda and Hiroto Shinomiya: A megaplasmid carrying multidrug-resistance genes in *Salmonella* *Infantis* isolated from patients and broiler meat. 第 92 回日本細菌学会総会、2019.4.23-25、札幌 (予定)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

渡邊班地衛研グループ薬剤耐性菌検査プロトコル (*Campylobacter jejuni/coli*)

1. 検査項目

薬剤感受性試験

2. 検体の種類・適用範囲

ヒトおよび食品由来 *Campylobacter jejuni/coli* と判定された菌株

3. 検査法

CLSI 法に準拠したディスク拡散法

4. 実施場所・作業環境

BSL2 かつ管理区域内

5. 検査に使用する試薬及び器具・器材等

1) 試薬・培地等

- ① 薬剤感受性用寒天平板培地：5%羊（馬）脱線維血液加 Mueller-Hinton agar
- ② 菌液調整用：滅菌生理食塩水
- ③ 薬剤ディスク：BD センシディスク
エリスロマイシン（EM）、テトラサイクリン（TC）、セファロチン（CET）
シプロフロキサシン（CPFX）、ナリジクス酸（NA）、アンピシリン（ABPC）
- ④ 薬剤感受性試験用標準菌株
Staphylococcus aureus ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922

2) 器具・器材等

- ① 白金線，白金耳
- ② センシ・ディスク・ディスペンサー
- ③ ノギス
- ④ 滅菌綿棒
- ⑤ 滅菌ピンセット
- ⑥ ふ卵器：通常のふ卵器の場合は、市販の微好気用ガスキットを利用する。または、微好気培養のできるふ卵器を用いる。
- ⑦ McFarland No.0.5 標準比濁系

6. 操作上の注意について

1) 菌株について

前日に供試菌株を非選択分離培地に分離培養し、1種類の菌であることを確認した上で使用する。

2) 試薬について

室温に戻してから使用すること。

7. 測定（操作）方法

1) 接種菌液の調整

非選択培地に分離した菌株（36～37℃・48時間，または42℃・24時間培養菌）を滅菌生理食塩水に懸濁し，McFarland 0.5に調整する。

2) 接種・培養

- ① 調整菌液に滅菌綿棒を浸し，余液を試験管壁で取り除く。ただし，*Campylobacter*属菌は乾燥に弱いので，固く絞り過ぎないこと。
- ② 5%羊（馬）脱線維血液加 Mueller-Hinton agar に塗抹する。平板を約60°ずつ回転させた位置から，3回塗抹する。綿棒に菌液をつけるのは最初に行った1回でよい。
- ③ ディスクディスペンサーを用いてディスクを置く（ディスク配置図参照）。42℃・24時間，微好気培養する。

注意：①から③の操作は，出来るだけ迅速に行う。菌を塗抹した寒天平板培地を長時間大気中に置かないようにする。

3) 測定

培養後，シャーレの蓋を取って，表から観察し，ディスク周囲に形成された阻止円直径を測定する。

カンピロバクター薬剤耐性判定表 (H30 渡邊班地衛研グループ)

感受性ディスク名	CLSI* または参考値**			標準株***	
	耐性(R) (\leq mm)	中間(I) (mm)	感受性 (S) (\geq mm)	<i>S. aureus</i> ATCC259 23	<i>E.coli</i> ATCC259 22
エリスロマイシン(EM)*	12	13-15	16	22-30	-
テトラサイクリン(TC)*	22	23-25	26	24-30	-
セファロチン(CET)**	阻止円なし (6 mm)	-	-	29-37	-
シプロフロキサシン(CPFX)*	20	21-23	24	22-30	-
ナリジクス酸(NA)**	13	14-18	19	-	22-28
アンピシリン(ABPC)**	13	14-16	17	27-35	-

・判定については感受性ディスク添付文書を参照のこと

* CLSI M45 3rd. ed, 2016

**CET 以外:T. Luangtongkum *et al.* J.Clin.Microbiol. 45(2): 590-4, 2007; CET: 本研究班

****S. aureus* ATCC25923: CLSI M45 3rd. ed, 2016; *E. coli* ATCC25922: CLSI M100-S23.

 ムーラーヒントン寒天培地(血液添加なし)を用い、36~37°C、16~18 時間、好気培養

表 1. ヒト及び食品由来サルモネラ株の薬剤耐性状況
(2018 年分離株 n=322)

(2019/3/2 時点)

由来		菌株数	耐性菌株数#	耐性率
ヒト由来		240	86	35.8%
食品由来	国産鶏肉	76	67	88.2%
	外国産鶏肉	3	3	100.0%
	その他・不明	3	3	100.0%
	合計	82	73	89.0%

#18 抗菌剤中 1 剤以上に耐性(R)を示した菌株

表 2. ヒト(患者)由来サルモネラ株の検体別内訳と耐性率
(2018 年分離株 n=240)

(2019/3/2 時点)

検体名	菌株数	耐性菌株数	耐性率
糞便・直採便・直腸拭い液	175	66	37.7%
血液	1	0	0.0%
尿・カテーテル尿	3	1	33.3%
菌株	5	1	20.0%
開放膿	1	1	100.0%
右下腿骨組織	1	1	100.0%
不明	54	16	29.6%
合計	240	86	35.8%

図1. ヒト及び食品由来サルモネラ株の血清型 (2015-2018)

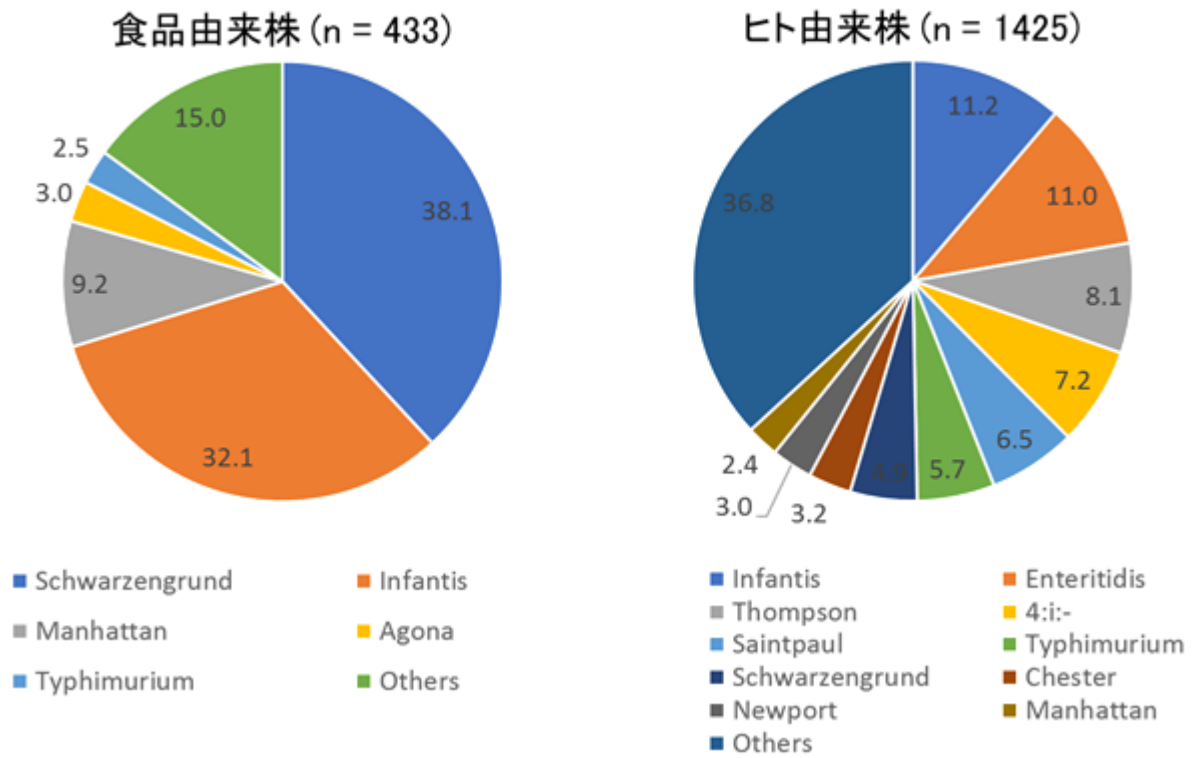


表 3. ヒト由来 non-typhoidal *Salmonella* spp の耐性率(2015-2018 年)

	2015 (n=388)	2016 (n=361)	2017 (n=436)	2018 (n=240)	2015-2018 (n=1425)
ABPC	17.3	17.7	15.4	15.0	16.4
GM	0.3	0.6	0.7	0.8	0.6
KM	5.9	11.6	7.6	8.8	8.4
SM	27.3	29.9	27.3	23.8	27.4
TC	32.5	29.1	28.0	21.3	28.4
ST	4.4	6.6	8.9	7.1	6.8
CP	2.3	6.4	5.0	5.4	4.7
CTX	0.3	2.8	3.0	2.9	2.2
CAZ	0.3	2.5	1.6	1.7	1.5
CFX	0.0	1.4	0.5	0.4	0.6
FOM	0.0	0.3	0.5	0.4	0.3
NA	7.0	8.0	9.4	6.7	7.9
CPFX	0.3	0.8	1.6	0.4	0.8
NFLX	0.3	0.8	0.5	0.0	0.4
AMK	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
IPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1 剤以上耐性数	165	151	172	86	574
1 剤以上耐性率	42.5	41.8	39.4	35.4	40.3

表 4. 食品由来 non-typhoidal *Salmonella* spp の耐性率(2015-2018 年)

	2015 (n=156)	2016 (n=110)	2017 (n=85)	2018 (n=82)	2015-2018 (n=433)
ABPC	17.9	13.6	11.8	7.3	13.6
GM	0.0	0.9	1.2	0.0	0.5
KM	47.4	47.3	44.7	46.3	46.7
SM	82.7	70.9	68.2	78.0	76.0
TC	85.9	76.4	72.9	76.8	79.2
ST	19.9	16.4	11.8	34.1	20.1
CP	7.1	10.0	2.4	7.3	6.9
CTX	5.1	5.5	8.2	3.7	5.5
CAZ	4.5	6.4	8.2	3.7	5.5
CFX	2.6	3.6	7.1	2.4	3.7
FOM	0.0	0.9	1.2	0.0	0.5
NA	18.6	18.2	14.1	14.6	16.9
CPFX	0.0	0.9	1.2	0.0	0.5
NFLX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
AMK	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
IPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1 剤以上耐性数	143	96	76	73	388
1 剤以上耐性率	91.7	87.3	89.4	89.0	89.6

表 5. 食品由来 *S. Infantis* の耐性率 (2015-2018 年)

	2015 (n=65)	2016 (n=33)	2017 (n=19)	2018 (n=22)	2015-2018 (n=139)
ABPC	10.8	12.1	5.3	9.1	10.1
GM	0.0	3.0	0.0	0.0	0.7
KM	46.2	42.4	15.8	27.3	38.1
SM	81.5	72.7	68.4	86.4	78.4
TC	89.2	81.8	68.4	81.8	83.5
ST	18.5	30.3	0.0	40.9	22.3
CP	3.1	3.0	0.0	0.0	2.2
CTX	4.6	6.1	5.3	4.5	5.0
CAZ	3.1	9.1	5.3	4.5	5.0
CFX	4.6	9.1	5.3	9.1	6.5
FOM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NA	3.1	9.1	0.0	4.5	4.3
CPFX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NFLX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
AMK	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
IPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

表 6. 食品由来 *S. Schwarzengrund* の耐性率(2015-2018 年)

	2015 (n=47)	2016 (n=37)	2017 (n=44)	2018 (n=37)	2015-2018 (n=165)
ABPC	17.0	5.4	0.0	5.4	7.3
GM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
KM	85.1	86.5	77.3	78.4	81.8
SM	93.6	78.4	81.8	78.4	83.6
TC	95.7	83.8	79.5	86.5	86.7
ST	36.2	16.2	22.7	51.4	31.5
CP	19.1	10.8	4.5	8.1	10.9
CTX	0.0	0.0	2.3	0.0	0.6
CAZ	0.0	0.0	2.3	0.0	0.6
CFX	0.0	0.0	2.3	0.0	0.6
FOM	0.0	0.0	2.3	0.0	0.6
NA	25.5	18.9	6.8	18.9	17.6
CPFX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NFLX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
AMK	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
IPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

図2. 主要な食品由来サルモネラ株の血清型別薬剤耐性率
(2015～2018年分離の合計 n = 344)

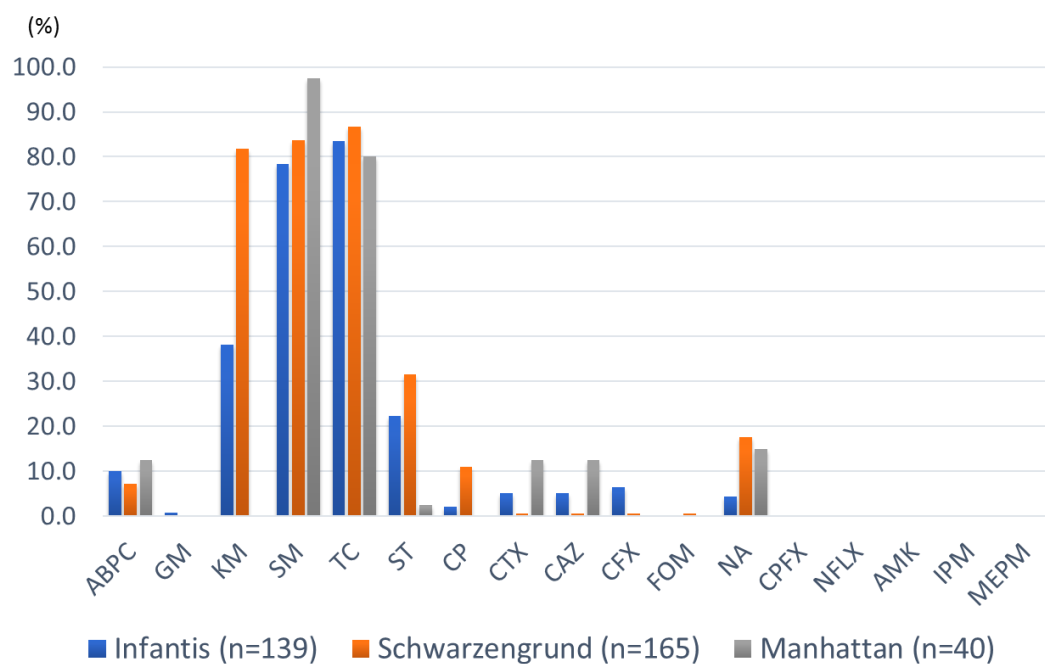


表 7. ヒト由来 *S. Infantis* の耐性率(2015-2018 年)

	2015 (n=34)	2016 (n=48)	2017 (n=62)	2018 (n=16)	2015-2018 (n=160)
ABPC	0.0	2.1	0.0	12.5	1.9
GM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
KM	20.6	14.6	9.7	25.0	15.0
SM	29.4	33.3	22.6	50.0	30.0
TC	47.1	33.3	25.8	56.3	35.6
ST	14.7	14.6	6.5	18.8	11.9
CP	0.0	0.0	0.0	12.5	1.3
CTX	0.0	2.1	0.0	6.3	1.3
CAZ	0.0	2.1	0.0	0.0	0.6
CFX	0.0	2.1	0.0	0.0	0.6
FOM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NA	8.8	4.2	6.5	0.0	5.6
CPFX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NFLX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
AMK	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
IPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

表 8. ヒト由来 *S. Enteritidis* の耐性率(2015-2018 年)

	2015 (n=39)	2016 (n=40)	2017 (n=47)	2018 (n=31)	2015-2018 (n=157)
ABPC	5.1	17.5	4.3	9.7	8.9
GM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
KM	2.6	2.5	0.0	0.0	1.3
SM	12.8	12.5	12.8	19.4	14.0
TC	10.3	2.5	4.3	12.9	7.0
ST	5.1	0.0	0.0	0.0	1.3
CP	2.6	0.0	0.0	0.0	0.6
CTX	0.0	2.5	0.0	0.0	0.6
CAZ	0.0	2.5	0.0	0.0	0.6
CFX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
FOM	0.0	0.0	0.0	3.2	0.6
NA	10.3	25.0	12.8	32.3	19.1
CPF	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NFLX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
AMK	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
IPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

表 9. ヒト由来 *S. Thompson* の耐性率(2015-2018 年)

	2015 (n=28)	2016 (n=28)	2017 (n=42)	2018 (n=20)	2015-2018 (n=107)
ABPC	0.0	10.7	14.3	0.0	2.8
GM	0.0	0.0	2.4	0.0	0.0
KM	7.1	0.0	4.8	0.0	1.9
SM	7.1	7.1	11.9	0.0	4.7
TC	3.6	7.1	21.4	0.0	4.7
ST	0.0	7.1	16.7	0.0	1.9
CP	0.0	7.1	14.3	0.0	1.9
CTX	0.0	10.7	11.9	0.0	2.8
CAZ	0.0	7.1	2.4	0.0	1.9
CFX	0.0	7.1	0.0	0.0	1.9
FOM	0.0	0.0	2.4	0.0	0.0
NA	0.0	0.0	19.0	5.0	0.9
CPF	0.0	7.1	9.5	0.0	1.9
NFLX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
AMK	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
IPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

表 10. ヒト由来 S. 4:i:-の耐性率(2015-2018 年)

	2015 (n=42)	2016 (n=9)	2017 (n=39)	2018 (n=13)	2015-2018 (n=103)
ABPC	83.3	77.8	79.5	76.9	80.6
GM	2.4	0.0	2.6	0.0	1.9
KM	4.8	0.0	2.6	0.0	2.9
SM	83.3	88.9	82.1	84.6	83.5
TC	81.0	66.7	76.9	84.6	78.6
ST	0.0	0.0	7.7	7.7	3.9
CP	0.0	0.0	7.7	15.4	4.9
CTX	0.0	0.0	2.6	0.0	1.0
CAZ	0.0	0.0	2.6	0.0	1.0
CFX	0.0	0.0	2.6	0.0	1.0
FOM	0.0	11.1	0.0	0.0	1.0
NA	0.0	0.0	5.1	0.0	1.9
CPF	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NFLX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
AMK	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
IPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

表 11. ヒト由来 S. Saintpaul の耐性率(2015-2018 年)

	2015 (n=27)	2016 (n=26)	2017 (n=42)	2018 (n=5)	2015-2018 (n=100)
ABPC	7.4	7.7	14.3	20.0	11.0
GM	0.0	0.0	2.4	0.0	1.0
KM	0.0	3.8	4.8	0.0	3.0
SM	3.7	3.8	11.9	0.0	7.0
TC	40.7	15.4	21.4	20.0	25.0
ST	0.0	11.5	16.7	20.0	11.0
CP	3.7	0.0	14.3	0.0	7.0
CTX	0.0	0.0	11.9	0.0	5.0
CAZ	0.0	0.0	2.4	0.0	1.0
CFX	0.0	3.8	0.0	0.0	1.0
FOM	0.0	0.0	2.4	0.0	1.0
NA	7.4	3.8	19.0	0.0	11.0
CPF	3.7	0.0	9.5	0.0	5.0
NFLX	3.7	0.0	0.0	0.0	1.0
AMK	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
IPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

図3. 主要なヒト由来サルモネラ株の血清型別薬剤耐性率
(2015～2018年分離株 n = 699)

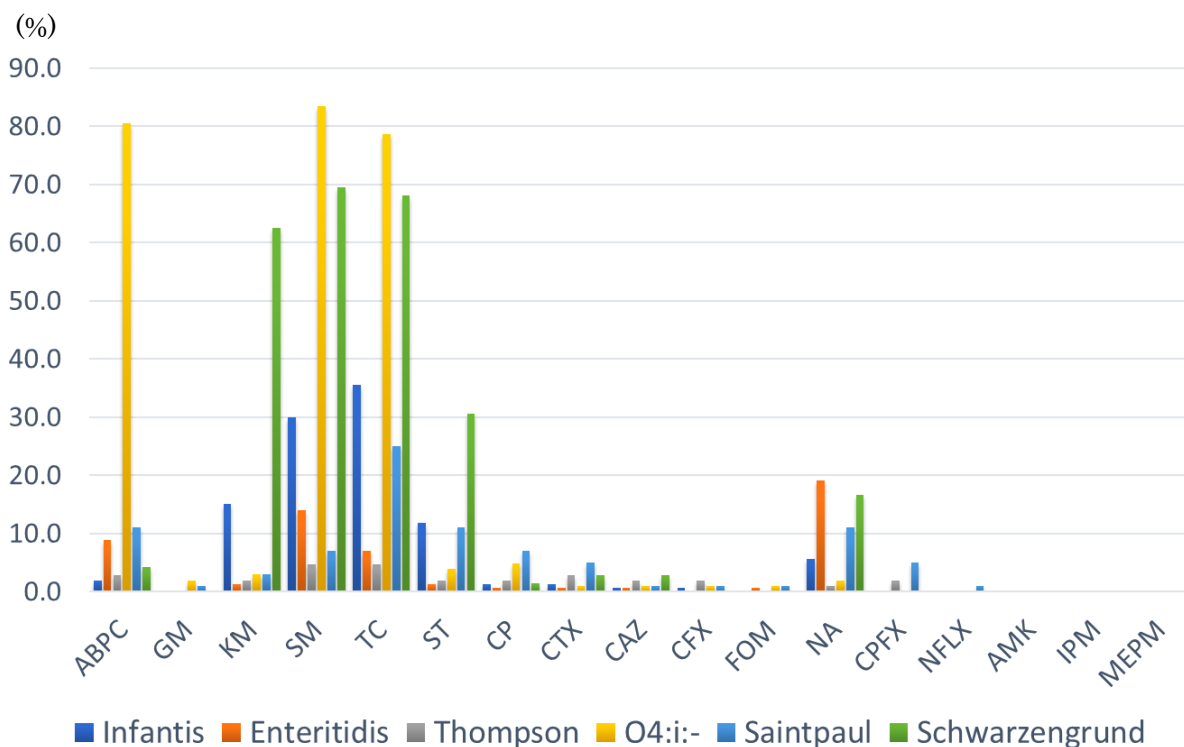


表12. ヒト及び食品から検出される*S. Infantis*、*S. Schwarzengrund*、*S. Manhattan*の耐性率(2015-2018年)

	Infantis		Schwarzengrund		Manhattan	
	ヒト(n=160)	食品(n=139)	ヒト(n=72)	食品(n=165)	ヒト(n=44)	食品(n=40)
ABPC	1.9	10.1	4.2	7.3	2.3	12.5
GM	0.0	0.7	0.0	0.0	0.0	0.0
KM	15.0	38.1	62.5	81.8	0.0	0.0
SM	30.0	78.4	69.4	83.6	90.9	97.5
TC	35.6	83.5	68.1	86.7	86.4	80.0
ST	11.9	22.3	30.6	31.5	2.3	2.5
CP	1.3	2.2	1.4	10.9	0.0	0.0
CTX	1.3	5.0	2.8	0.6	0.0	12.5
CAZ	0.6	5.0	2.8	0.6	0.0	12.5
CFX	0.6	6.5	0.0	0.6	0.0	0.0
FOM	0.0	0.0	0.0	0.6	0.0	0.0
NA	5.6	4.3	16.7	17.6	9.1	15.0
CPFEX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NFLX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
AMK	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
IPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

図4. ヒト及び食品由来サルモネラ株の血清型別薬剤耐性率
(2015～2018年) (表12のグラフ)

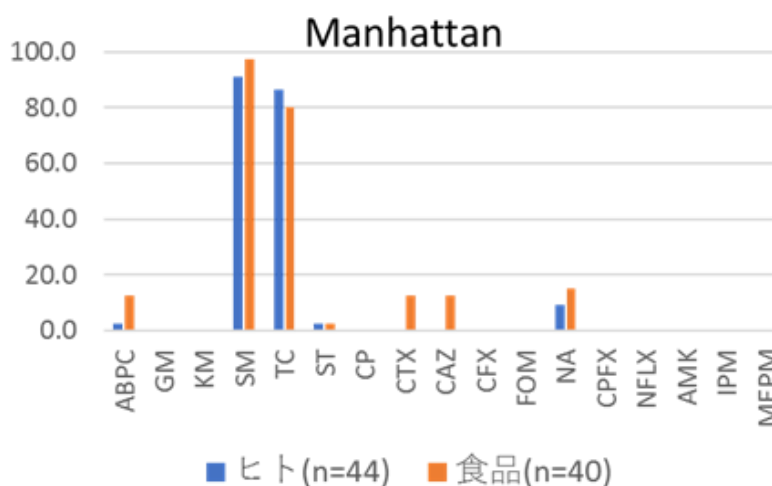
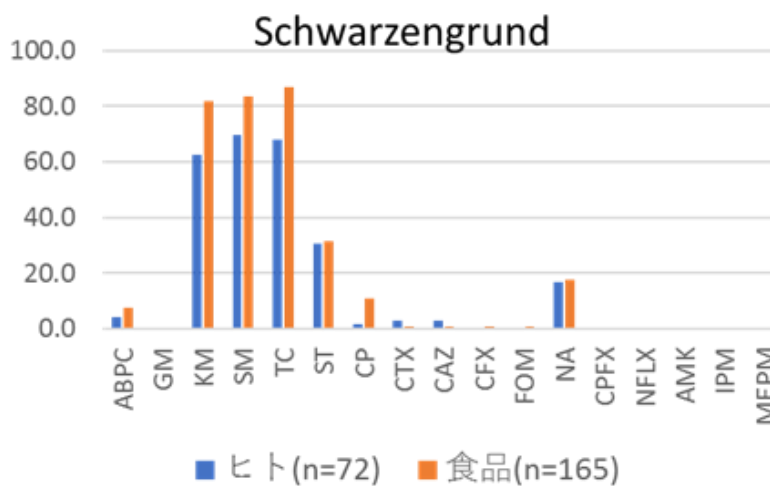
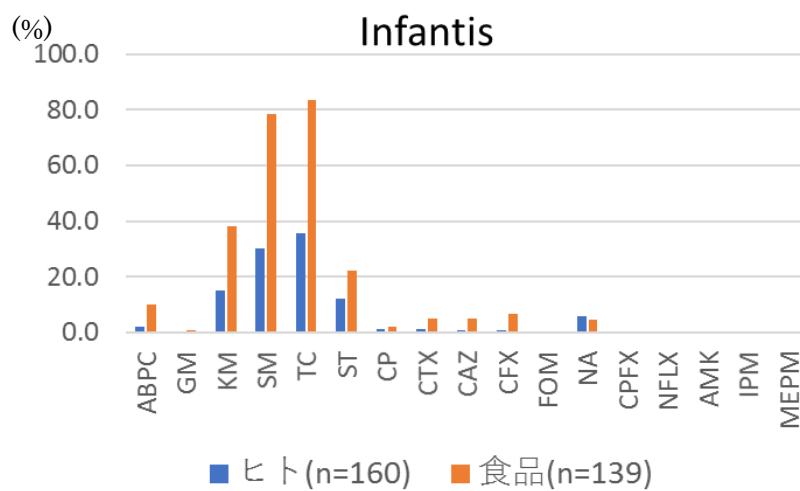


表13. ヒト及び食品由来大腸菌株の薬剤耐性状況
(2015～2018年分離株 n = 1086)

ヒト由来株 (n = 1034)

	分類	株数	耐性数	耐性率
2015	EHEC	130	39	30.0
	下痢原性	23	20	87.0
	その他	12	6	50.0
	計	165	65	39.4
2016	EHEC	115	34	29.6
	下痢原性	32	24	75.0
	その他	24	15	62.5
	計	171	73	42.7
2017	EHEC	191	68	35.6
	下痢原性	26	18	69.2
	その他	28	23	82.1
	計	245	109	44.5
2018	EHEC	394	88	22.3
	下痢原性	36	24	66.7
	その他	23	16	69.6
	計	453	128	28.3
合計	EHEC	830	229	27.6
	下痢原性	117	86	73.5
	その他	87	60	69.0
	計	1034	375	36.3

食品由来株 (n = 52)

	分類	株数	耐性数	耐性率
2015	EHEC	4	1	25.0
	下痢原性	2	2	100.0
	その他	0	0	-
	計	6	3	50.0
2016	EHEC	5	2	40.0
	下痢原性	2	2	100.0
	その他	0	0	-
	計	7	4	57.1
2017	EHEC	0	0	-
	下痢原性	8	4	50.0
	その他	20	13	65.0
	計	28	17	60.7
2018	EHEC	0	0	-
	下痢原性	1	1	100.0
	その他	10	6	60.0
	計	11	7	63.6
合計	EHEC	9	3	33.3
	下痢原性	13	9	69.2
	その他	30	19	63.3
	計	52	31	59.6

#下痢原性EC：EPEC, EIEC, EPEC, EAggEC, 他の下痢原性EC（上記5つに該当せずastA保有）

*その他：非病原大腸菌及び病原因子未検査株

図5. ヒト由来大腸菌株の多剤耐性状況
(2015～2018年分離株)

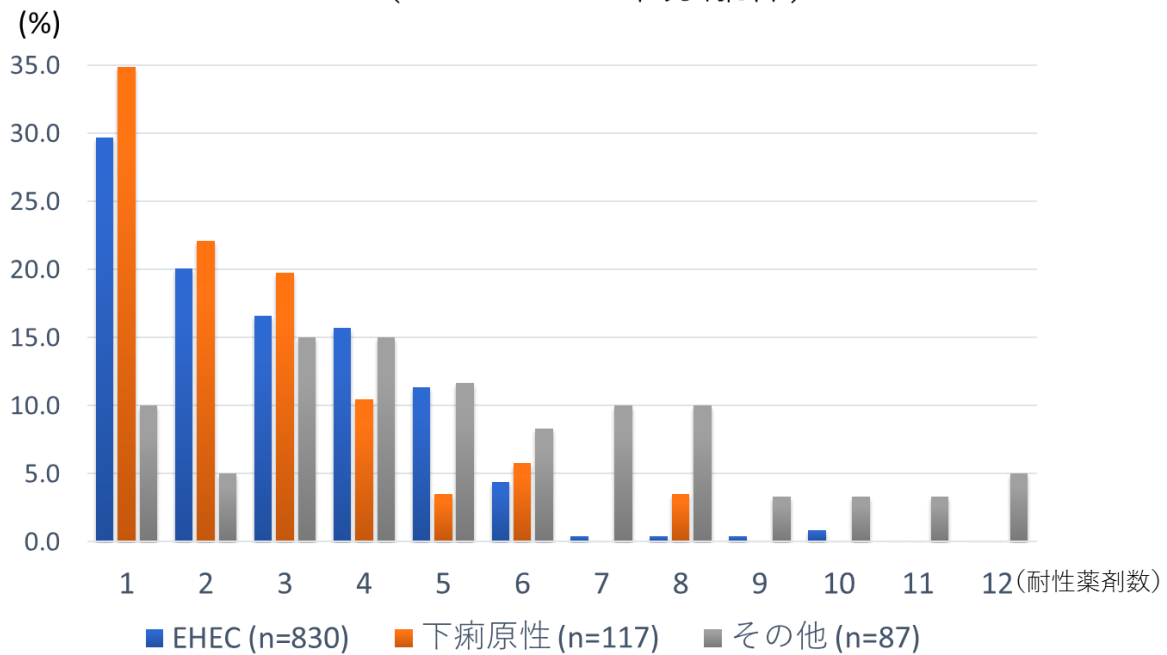


図6. ヒト由来大腸菌株の各種薬剤耐性率
(2015～2018年分離株)

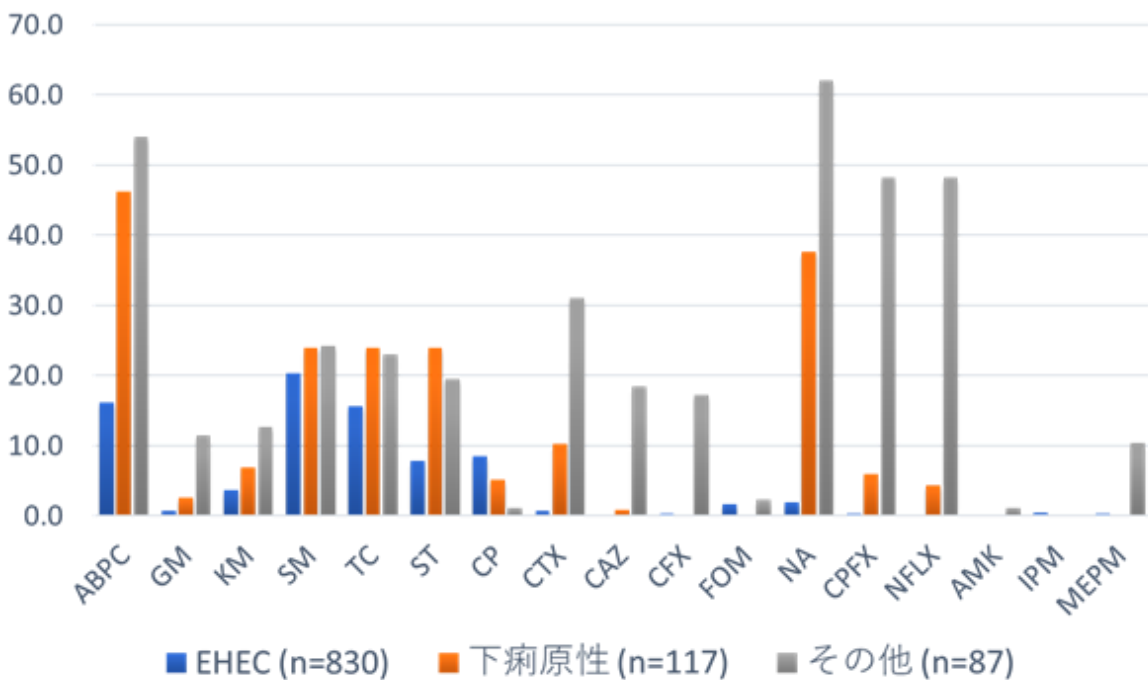


図7. セフェム系薬(CTX, CAZ, CFX)に耐性を示したヒト由来大腸菌株 (2015～2018年分離株)

セフェム薬耐性株の割合
 EHEC = 9/830 (1.1%)
 下痢原性 = 12/117 (10.3%)
 その他 = 28/87 (32.2%)
 全体 = 49/1034 (4.7%)

分離年	分類	耐性薬剤数	CTX	CAZ	CFX
2016	EHEC	3	R	I	S
2017	EHEC	3	R	S	S
2017	EHEC	10	S	S	R
2017	EHEC	9	S	S	R
2017	EHEC	10	S	S	R
2018	EHEC	2	R	I	S
2018	EHEC	2	R	I	I
2018	EHEC	2	R	I	S
2018	EHEC	2	R	S	S
2015	下痢原性	4	R	S	S
2015	下痢原性	2	R	S	S
2015	下痢原性	4	R	S	S
2016	下痢原性	4	R	S	S
2016	下痢原性	2	R	S	S
2016	下痢原性	6	R	S	S
2016	下痢原性	2	R	I	S
2016	下痢原性	4	R	R	S
2016	下痢原性	3	R	S	S
2017	下痢原性	4	R	S	S
2018	下痢原性	3	R	I	S
2018	下痢原性	5	R	S	S
2015	その他	8	R	R	R
2015	その他	10	R	R	R
2016	その他	2	R	S	S
2016	その他	6	R	R	S
2016	その他	6	R	R	S
2017	その他	5	R	S	S
2017	その他	8	R	R	R
2017	その他	11	R	R	R
2017	その他	11	R	R	R
2017	その他	10	R	R	R
2017	その他	12	R	R	R
2017	その他	9	R	I	R
2017	その他	12	R	R	R
2017	その他	7	R	R	R
2017	その他	8	R	R	R
2017	その他	5	R	S	I
2017	その他	6	R	R	S
2017	その他	5	R	S	S
2017	その他	9	R	R	S
2017	その他	3	I	I	R
2017	その他	12	R	R	I
2018	その他	12	R	S	R
2018	その他	8	R	R	R
2018	その他	5	R	S	S
2018	その他	7	R	S	S
2018	その他	5	R	S	S
2018	その他	6	R	S	R
2018	その他	8	R	I	S

図8. 国産食品及び外国産食品由来大腸菌株の各種抗菌剤に対する耐性率（2015～2018年分離株）

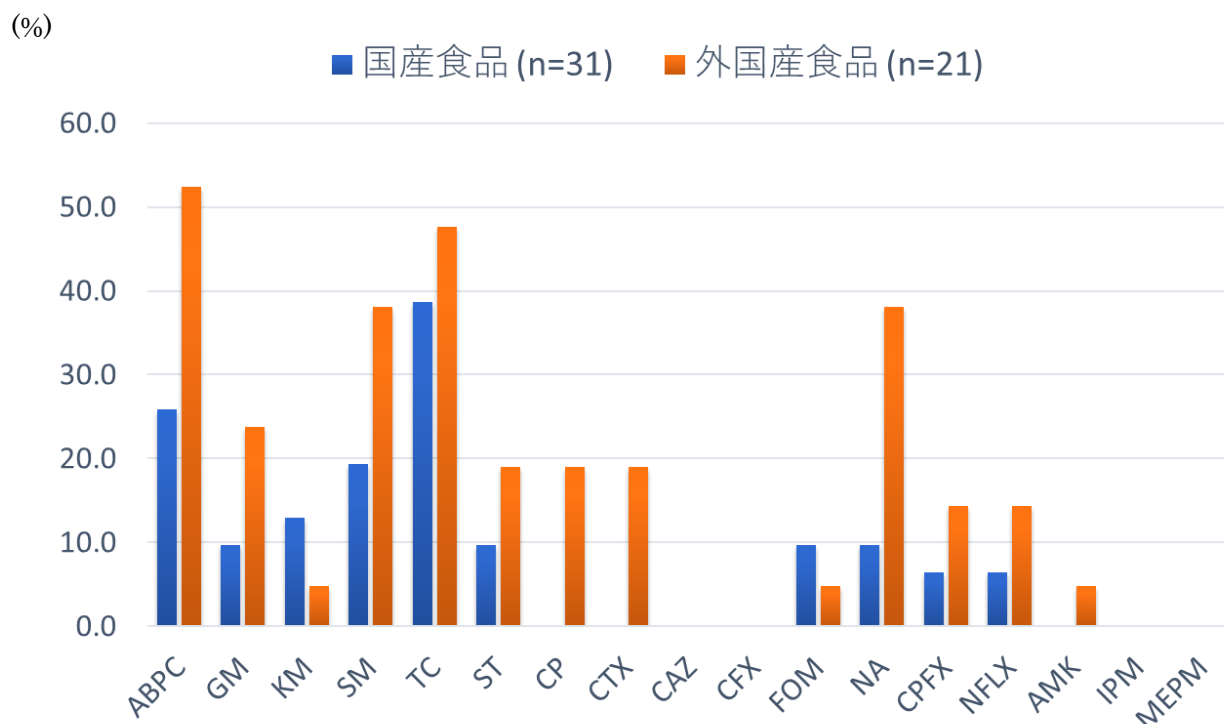


図9. ヒト及び食品由来 *C.jejuni* 株の薬剤耐性率（2018年分離株）

