

38. ESBL 等産生薬剤耐性サルモネラの食品汚染実態の把握と出現防止のための研究

○重村 洋明 (福岡県保健環境研究所)
世良 暢之 (福岡県保健環境研究所)
村上 光一 (国立感染症研究所)

【1. 研究目的】

近年、AmpC β-ラクタマーゼ (AmpC) や基質特異性拡張型 β-ラクタマーゼ (ESBL) を産生し、第三、四世代セファロスポリン等の広域スペクトラムセファロスポリン (ESC) に耐性を示すサルモネラの出現が世界中で報告され、公衆衛生上問題視されている。我々は福岡県でも鶏肉・鶏肉製品等 (鶏肉等) に由来する ESC 耐性サルモネラが 2005 年以降増加し、2010 年には分離株の 27.9% を占めたことを報告した¹⁾。本研究は、2011 年以降の ESC 耐性サルモネラの増減及び耐性遺伝子の変遷等の解明を目的とした。

【2. 研究計画】

研究方法

- ① 検体: 2011 年～2015 年に福岡県で流通していた鶏肉等の食品から分離されたサルモネラを試験に供試する。
- ② ESC 耐性サルモネラの検索: Kirby-Bauer 法による各種薬剤への感受性試験を行い、ESC 耐性サルモネラを検索する。
- ③ 薬剤耐性遺伝子等の遺伝子型別: ②で得られた ESC 耐性サルモネラの DNA を抽出し、PCR 及びシーケンス解析を行い、ESC 耐性に関する耐性遺伝子 (*bla_{CMY}*、*bla_{TEM}*、*bla_{CTX-M}*、*bla_{SHV}* 等) の遺伝子型を決定する。また、Pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) を用いて分離菌株の PFGE 型別を行う。
- ④ 過去の福岡県に関する報告との比較: Noda *et al.* による過去の報告¹⁾ (2010 年以前) と比較、検討する。

【3. 実施内容・結果】

① 鶏肉等から分離されたサルモネラの分離件数と血清型

2011 年から 2015 年までに福岡県内で流通している鶏肉等 181 検体中 98 検体 (54%) からサルモネラが計 107 株分離された (1 検体につき 1 分離株を検査対象としたが、複数のサルモネラ血清型が、同一検体から分離された場合は、複数の菌株を検査対象とした)。サルモネラの血清型の内訳は、*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Schwarzengrund (39%、42 株/107 株)、*S. infantis* (38%、41 株/107 株)、*S. Manhattan*

(17%、18株/107株)、*S. Albany* (1%、1株/107株)、*S. Corvallis* (1%、1株/107株)、*S. Heidelberg* (1%、1株/107株) 及び O 血清型別不能 (3%、3株/107株) であった。このうち、保存状態 (-80°C) から復帰しなかった *S. Manhattan* 1株を除いた 106株を下記の②及び③の試験に供試した。

② 薬剤感受性試験

セフポドキシム、セフォタキシム、セフトラジジム、セフィキシム、セフェピム (以上、ESC)、セフォキシチン、セフメタゾール、セフォテタン (以上、セファマイシン系)、モクサラクタム (オキサセフェム系)、イミペネム、メロペネム及びパニペネム (以上、カルバペネム系) の 12 薬剤に対する薬剤感受性試験を行った。さらに、それらの薬剤に耐性を示した株について、ボロン酸及びクラブラン酸を用いて、AmpC 及び ESBL 産生性確認試験を行った。

1 薬剤以上に耐性を示したものは 25 株 (24%、25 株/106 株) だった。耐性を示した薬剤はセフポドキシム (100%、25 株/25 株)、セフォタキシム (48%、12 株/25 株)、セフトラジジム (20%、5 株/25 株)、セフィキシム (76%、19 株/25 株) 及びセフォキシチン (68%、17 株/25 株) であった。また、耐性株のうち、AmpC 産生株が 17 株、ESBL 産生株が 8 株であった。

③ 薬剤耐性遺伝子等の遺伝子型別

上記の②に示した耐性株 25 株の薬剤耐性遺伝子について、PCR で探索した後、その遺伝子のシーケンス解析を実施した。AmpC 産生株はいずれも *bla_{CMY-2}* を保有しており、ESBL 産生株は *bla_{TEM-52}* (6 株)、*bla_{CTX-M-2}* (1 株)、*bla_{SHV-12}* (1 株) を保有していた。さらに、それら耐性株及び感性株 6 株 (*S. Schwarzengrund* (2 株)、*S. Infantis* (2 株)、*S. Manhattan* (2 株)) について、PFGE 型別を行った。その結果、22 の PFGE 型に分類されたが、いずれの耐性株においても感性株と同じ PFGE 型を示すものは認められなかった。

④ 鶏肉等由来 ESC 耐性サルモネラの分離率

過去の我々の報告¹⁾と比較するため、ESC 耐性サルモネラの分離率を算出した。2011 年～2015 年の ESC 耐性サルモネラの分離率は、それぞれ 46% (10 株/22 株)、29% (7 株/24 株)、18% (4 株/22 株)、11% (2 株/19 株) 及び 11% (2 株/19 株) であった (図 1)。なお、2011 年から 2013 年までの ESC 耐性株の分離率の減少は、*bla_{CMY-2}* を保有する AmpC 産生株の分離率の減少に由来していた。

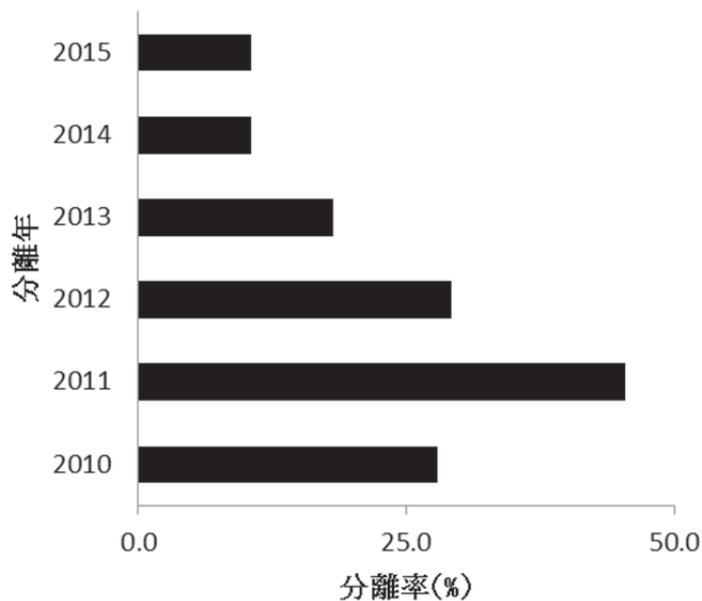


図1 広域スペクトラムセファロスポリン耐性サルモネラの分離率の変遷
2010年のデータは我々の過去の報告¹⁾を引用した。

【4. 考察と今後の課題】

過去に我々は、鶏肉等からのESC耐性サルモネラの分離率が2010年までに27.9%まで増加したことを報告した¹⁾。このことを踏まえると本研究により、ESC耐性サルモネラは2011年まで増加し、2012年以降に減少したことが明らかとなった。

これまでに、国内の養鶏産業においてワクチン時のESC使用が肉用鶏におけるESC耐性大腸菌の分離率増加と関連があったことが示唆されている²⁾。本研究で鶏肉等からのESC耐性サルモネラの分離率が2011年まで増加していたが、このことも前述と同様にESCの使用と関連があったことが予想される。今後、この関連性を明らかにするため詳細な調査を行っていく必要がある。

また、ESC耐性サルモネラが人へ伝播する危険性についていえば、鶏肉等からのESC耐性サルモネラの分離率は2012年以降に減少したことから、その危険性は低下したと考えられた。しかしながら、鶏肉等でのESC耐性サルモネラの汚染は続いているため、引き続きモニタリングを実施し、その危険性を把握するとともに、その低減策等を講じていく必要があるといえる。

【5. 参考文献】

- 1) Noda *et al.*, Increase in resistance to extended-spectrum cephalosporins in *Salmonella* isolated from retail chicken products in Japan. PLoS One. 2015 Feb 2;10(2):e0116927. doi: 10.1371/journal.pone.0116927. eCollection 2015.

- 2) Hiki *et al.*, Decreased resistance to broad-spectrum cephalosporin in *Escherichia coli* from healthy broilers at farms in Japan after voluntary withdrawal of ceftiofur. *Foodborne Pathog Dis.* 2015 Jul;12(7):639-43. doi: 10.1089/fpd.2015.1960.

【6. 経費使途明細】

使 途	金 額
消耗品費 (試薬：サルモネラ血清 06、サルモネラ血清 Hz24 他)	113,986 円
旅費 (H29. 8. 16~17 国立感染症研究所)	31,450 円
謝金 (8,085 円×16 日分)	129,360 円
その他 (英文校正代)	25,216 円
合 計	300,012 円
大同生命厚生事業団助成金 (利息含む)	300,012 円