

6. 群馬県で流通している水産食品における薬剤耐性菌の実態調査

○高橋 裕子（群馬県衛生環境研究所）

堀越 絢乃（旧所属 群馬県衛生環境研究所 現所属 桐生保健福祉事務所）

【研究目的】

近年、基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ（ESBL）産生菌やカルバペネム耐性腸内細菌目細菌（CRE）等の薬剤耐性菌が世界中で増加し、問題となっている。ヒトへの感染経路として、環境から食品を介した伝播が指摘されており、本研究では群馬県内で流通する水産食品に焦点をあて、薬剤耐性菌汚染状況を把握することを目的とする。

【研究の必要性】

ESBL 産生菌や CRE は多剤耐性を示すことも多く、従来治療に効果があった抗菌薬が効かなくなり、治療が困難になることもある。薬剤耐性菌の対策において、蔓延を抑制することが重要であるが、これらの耐性遺伝子はプラスミド上に存在することで菌種を超えて拡散することから、その拡大が危惧されている。2015 年の世界保健機関総会において薬剤耐性（AMR）に関するグローバル・アクションプランが採択され、我が国でも 2016 年に初めて AMR アクションプランが公表されて、対策が推進されている¹⁾。薬剤耐性菌の感染経路として、環境中から食品を介してヒトに伝播する危険性が指摘されており、AMR アクションプランでは、ヒト、動物、食品、環境を含めたワンヘルス・アプローチによる薬剤耐性菌対策が掲げられている。家畜や愛玩動物については、動物由来薬剤耐性菌モニタリング（JVARM）により継続的な動向調査が実施されているが、食品に対する薬剤耐性菌のモニタリング体制は、未だ構築されていない。近年、食肉、特に鶏肉からは薬剤耐性菌が高頻度で検出されることが報告されているが²⁾、そのほかの食品に関する情報は少なく、調査が必要とされている。

【研究計画】

本研究では、食品の中でも水産食品に着目する。群馬県内で流通しているエビ、イカ、切り身魚等の水産食品を収集し、ESBL 産生菌やカルバペネマーゼ産生菌の分離を試みる。

また、群馬県は「にじます」の養殖収穫量が日本第9位であり、県内で養殖が盛んに行われている水産食品として、にじますについても調査を行う。検体はストマッキング処理をした後、抗菌薬を添加した培地で増菌・分離培養し、発育したコロニーについて菌種の同定を行う。さらにディスク法による薬剤感受性試験と、PCR法およびシーケンス解析による耐性遺伝子の検出を行う。

【実施内容・結果】

群馬県内の小売店において販売されているエビ22検体（ブラックタイガー9検体、バナメイエビ8検体、アカエビ3検体、ホワイトエビ1検体、イリアンタイガー1検体）、イカ3検体（ヤリイカ1検体、モンゴウイカ1検体、アカイカ1検体）、魚切り身7検体（キス2検体、メカジキ2検体、パンガシウス2検体、タラ1検体）、シーフードミックス3検体、アジ1検体、イワシ1検体、ニジマス1検体を入手した。また、県内2カ所の養鱒場からニジマス2検体を入手し、供試した。

検体25gに緩衝ペプトン水、もしくはアルカリペプトン水225ml加え、ストマッキング処理をした後、37℃で1晩培養した。増菌液をクロモアガー mSuper CARBA/C3GR 分画培地（関東化学）、およびセフトキシム（CTX）を添加したクロモアガービブリオ、クロモアガーECC培地（関東化学）に塗抹して37℃で1晩培養し、発育したコロニーの菌種同定を行った。同定された菌株は、KBディスク（栄研化学）を用いてCLSI法に基づいた薬剤感受性試験を実施し、ESBLまたはカルバペネマーゼの産生が疑われる菌株については、DDST法によるESBL産生性確認試験、およびmCIM法によるカルバペネマーゼの産生性確認試験を行った。陽性となった菌株はDNAを抽出し、マルチプレックスPCRによるESBL遺伝子（CTX-M-1 group、CTX-M-9 group、CTX-M-8/25 group、CTX-M-2 group）と、カルバペネマーゼ遺伝子（KPC、IMP、NDM、VIM、OXA-48、GES）の検索を行い³⁾、ダイレクトシーケンス解析により詳細な遺伝子型を決定した⁴⁾。

供試した41検体のうち、31検体は分離培地に何らかのコロニーが発育した。解析の結果、3検体から3株のESBL産生菌と1株のカルバペネマーゼ産生菌が分離された（表1）。ESBL産生菌3株は、いずれも第3世代セフェム系抗菌薬であるCTXに耐性を示しており、セファマイシン系やニューキノロン系に耐性を示した株もみられ、多剤耐性の傾向がみられた。3株はそれぞれCTX-M-27、CTX-M-55、CTX-M-15型ESBL遺伝子を保有していた。カルバペネマーゼ産生菌は、カルバペネム系であるメロペネム（MEPM）で中間の感受性を示しており、NDM-1型カルバペネマーゼ遺伝子を保有していた。

表 1 分離された ESBL 産生菌およびカルバペネ

No.	1	2	3	4	
分離源	キス (ベトナム産)	ブラックタイガー (ベトナム産)	ブラックタイガー (ベトナム産)	ブラックタイガー (ベトナム産)	
菌種名	<i>Enterobacter cloacae/hormachei</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	
β -Lactamase	ESBL	ESBL	ESBL	Carbapenemase	
遺伝子型	CTX-M-9 group CTX-M-27	CTX-M-1 group CTX-M-55	CTX-M-1 group CTX-M-15	NDM group NDM-1	
薬剤感受性	ABPC	R	R	R	R
	PIPC	R	R	R	I
	GEZ	R	R	R	R
	CTX	R	R	R	R
	CAZ	I	S	I	R
	CFPM	SDD	SDD	SDD	SDD
	CMZ	R	S	S	R
	AZT	S	S	I	S
	IPM	S	S	S	S
	MEPM	S	S	S	I
	GM	S	S	S	S
	AMK	S	S	S	S
	LVFX	S	R	S	S
	CPFX	I	R	I	I
	TC	S	S	S	S
	CP	S	S	S	S
FOM	S	S	S	S	
ST	S	S	S	S	

S : 感受性, I : 中間, SDD : 用量依存的感性, R : 耐性.

【考察と今後の課題】

本研究で供試した検体からは、耐性遺伝子が検出された *E. coli* や *Enterobacter* 属、*Citrobacter* 属をはじめ、*Klebsiella* 属、*Vibrio* 属、*Stenotrophomonas* 属等、様々な菌種

が分離された。検出された ESBL 遺伝子は、いずれも国内の臨床材料からの検出頻度が高い遺伝子型であった⁵⁾。一方、検出されたカルバペネマーゼ遺伝子は NDM-1 型であった。インド周辺で分離される遺伝子型であり、「海外型カルバペネマーゼ」と通称されていたが、近年は国内でも検出される例があり、本結果から輸入食品を介して国内に持ち込まれる可能性も示唆された。

本研究により、群馬県内の小売店で販売されている水産食品からも、ESBL 産生菌およびカルバペネマーゼ産生菌が検出されることが分かった。検出された検体はすべて加熱用の食品であったが、その調理過程で調理器具等を介し、ヒトに感染するリスクがある。今回検出された菌はいずれも病原性は低いものであったが、保有する耐性遺伝子が病原菌に伝播することで、重篤な難治性の感染症を引き起こす可能性も考えられる。また、耐性遺伝子が検出された検体は、いずれもベトナム産の食品であった。ベトナムは市中健常人の ESBL 産生菌保有率が極めて高く、医療や畜産業において抗生物質が過剰に使用されることによる環境汚染の可能性が指摘されている⁶⁾。養殖魚やエビから薬剤耐性菌が検出される報告^{6,7)}もあり、本結果からも、水産食品が薬剤耐性菌に汚染されている可能性が示唆された。日本はこのような東南アジア諸国から水産食品を多く輸入している状況であり、群馬県内でも広く流通しているため、その動向を注視していく必要があると考えられる。

先述のとおり、国内で流通している水産食品の薬剤耐性菌汚染状況についての報告は未だ少なく、調査研究が必要とされている状況である。今後も調査を継続してデータを蓄積し、その実態を把握することで、薬剤耐性菌の拡大防止に寄与していきたい。

【参考文献】

1. 外務省. 国際保健のための G7 伊勢志摩ビジョン, G7 伊勢志摩首脳宣言附属文書. 2016.
2. 森田幸ほか. 食用鶏腸管内容物と市販鶏肉における ESBL 産生 *E. coli* の検出状況と汚染経路の検討. 医学検査. 63(3):294-299:2014.
3. 国立感染症研究所. 病原体検出マニュアル 薬剤耐性菌. 2024.
4. 八柳潤ほか. 秋田県内の医療機関における CTX-M 基質拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) 遺伝子保有株の分離状況. 秋田県健康環境センター年報. 6:40-45:2012.
5. 除村萌ほか. 神奈川県内中小規模医療施設から分離された CTX-M 型 β -lactamase 産生 *Escherichia coli* の疫学調査. 日本臨床微生物学会雑誌. 29(1):21-27:2018.
6. Nguyen Thi Ngoc Hon *et al.* Spread of Antibiotic and Antimicrobial Susceptibility of ESBL-Producing *Escherichia coli* Isolated from Wild and Cultured Fish in the

Mekong Delta, Vietnam. Fish Pathology. 51(Special-Issue); S75-S82:2016.

7. 中山達哉ほか. 輸入水産食品におけるプラスミド伝播が推定されるセフェム系およびカルバペネム系プラスミド性薬剤耐性菌の汚染状況. 日本食品微生物学会雑誌. 38(2);67-77:2021.

【経費使途明細】

使 途	金 額
検体	30,914 円
菌株分離・同定用培地	106,480 円
遺伝子解析用試薬	84,821 円
薬剤感受性試験用試薬	21,868 円
検体処理用具 (ハサミ・包丁・まな板等)	56,500 円
合 計	300,583 円
大同生命厚生事業団助成金	300,000 円