

食品由来大腸菌におけるフルオロキノロン系薬剤耐性菌 および基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ産生菌の動向

Fluoroquinolone-resistance and extended-spectrum β -lactamases productivity of
Escherichia coli isolated from various foods

まつ した しげる じん まち こ いそがい すえ こ もり もと けい こ もり た こう じ
松 下 秀¹⁾ 神 真知子¹⁾ 磯 貝 スエ子¹⁾ 森 本 敬 子¹⁾ 森 田 耕 司²⁾
Shigeru MATSUSHITA Machiko JIN Sueko ISOGAI Keiko MORIMOTO Koji MORITA

要 旨

食品における薬剤耐性菌の動向を探る目的で、市販の各種食品から検出された大腸菌について、その出現状況を検討している。

フルオロキノロン系薬剤 (FQ) 耐性菌は 1999 年に初めて検出、以降増加傾向で推移している。検出された耐性菌 25 株のうち、22 菌株は鶏肉由来、3 菌株は豚肉由来であった。キノロン耐性決定領域における遺伝子変異を調べた結果、全菌株とも *gyrA* の 83 位と 87 位の両部位および *parC* の 80 位に変異が確認された。

基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌は 2002 年までは認められず、2003 年に初めて検出、以降 2005～2006 年の検出率は 6.4%、2007～2008 年は 5.1%と急増している。引き続き動向を監視する必要がある。検出された ESBL 産生菌 18 株は全て鶏肉由来であった。CTX に対する MIC は 2～128 $\mu\text{g/ml}$ に分布、ESBL 型は 17 菌株が CTX-M-9 グループ、1 菌株は CTX-M-1 グループであった。

はじめに

従来有効であった薬剤に耐性を獲得した細菌の出現・増加が、感染症の治療や予防を困難にしている。この薬剤耐性菌の主要誕生場所としては、ヒト医療現場の他、各種抗菌剤が多目的使用されている畜産や養鶏の場があげられる。そこで出現した耐性菌は、食品を介してヒトに伝播すると考えられている。

これまで著者らは、サルモネラ属菌や赤痢菌など腸管系病原菌の薬剤耐性について検討し、その状況を明らかにしてきた^{1～10)}。わが国ではこのような病原菌に限らず、いわゆる日和見感染菌に関しても、治療に直結することもあり、薬剤耐性の現状はよく把握されている^{11～15)}。さらに近年では家畜衛生分野においても、ヒトの感染症に関連する細菌の調査がなされてきている^{16～21)}。しかしヒトへの媒体とされる食品における耐性菌の状況は明らかでない。そこで著者らは、流通食品における薬剤耐性菌の動向を探る目的で、市販の各種食品から検出された大腸菌 (腸管病原性大腸菌を除く一般の *Escherichia coli*) について耐性試験等を実施している。なお周知のように、大腸菌の起源はヒトや動物の腸管で、食品衛生分野では糞便汚染および腸管系病原菌の指標菌とされている。さらに本菌は、敗血症・菌血症や術後の院内感染症など、重篤な日和見感染症の起原菌としても重要な位置を占めている。

これまでの成績で、食品由来大腸菌においても、近年大きな問題となっているニューキノロン剤と呼ばれるフルオロキノロン系薬剤 (FQ) 耐性菌、および基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ (Extended-Spectrum Beta-Lactamases ; ESBL) 産生菌が出現・増加してきていることが明らかになった。食品衛生的観点のみならず、臨床分野においても参考にして頂きたい、得られた知見を紹介する。

I. 各種食品からの大腸菌検出状況

著者らは、市販の惣菜類や和洋菓子などの調理済み食品、魚介類 (刺身等の調理品を含む)、食肉類、

1) 東京都健康安全研究センター 多摩支所
〒190-0023 東京都立川市柴崎町 3-16-25
2) 杏林大学保健学部
〒192-8508 東京都八王子市宮下町 476

1) Tama Branch Institute, Tokyo Metropolitan Institute of Public Health
(3-16-25, Shibasaki-cho Tachikawa-city Tokyo)
2) School of Health Sciences, Kyorin University
(Miyashita-cho 476, Hachioji-city Tokyo)

野菜類（サラダ等の調理品を含む）などの加工用食品材料、調理場のまな板等の拭き取り材料について細菌学的試験を実施している。これらの食品は東京都多摩地域で収去あるいは購入されたものである。1995～2008年の14年間に、大腸菌汚染の有無について試験した各種食品別成績を表1にまとめた。この間全体で10,780件試験し、大腸菌は637件(5.9%)から検出された。検出頻度を見ると、食肉類（鶏肉、牛肉、豚肉が主体）が格段高く43.6%、液卵11.4%、豆腐5.0%、野菜類4.8%、魚介類2.8%、拭き取り2.7%、惣菜類2.1%、冷凍食品1.5%、乳製品1.0%、調理パン0.5%、和洋菓子0.3%であった。食肉類からの検出率が高いのは、加熱調理前の生肉であり、製造工程において汚染を避けることに難があるからと考えている。

なお参考までに付け加えるが、国は食品の安全性を確保するために、食品の成分規格として「食品、添加物等の規格基準」と「乳および乳製品の成分規格等に関する省令」を設定している。さらに東京都の場合であるが、指導基準として「食品・器具等の細菌検査成績の不適基準」および「乳水産食品指導基準」を設定し、また適切な食品衛生指導を行うために「一斉収去検査成績に基づく措置基準」を定めている。ここに示した食品のうち上記の基準で大腸菌が検出されてはならないものは、惣菜類、和洋菓子、魚介類（すし種、刺身）、豆腐、乳製品（アイスクリーム）、冷凍食品の一部、調理パンである。記載のようにこれら食品からの検出率は低く、また近年低下傾向にある²²⁾。

大腸菌の試験・同定は、常法のごとく検査材料をEC培地あるいはBGLB培地で増菌培養後、ガス産生性のものを本菌選択分離培地に塗布し、大腸菌が

疑われる集落についてその生化学的性状を確認する手順で行っている。大腸菌と確認された場合、検体1件より1菌株をドルセットの卵培地に保存、その菌株を薬剤耐性試験等に用いている。なお、同一検体より性状の異なる大腸菌が認められた場合は、確率的により本菌の性状に近いもの、例えばリジン脱炭酸陽性と陰性の場合、陽性菌を選択している。

Ⅱ. 薬剤耐性菌出現状況

1. 薬剤別耐性菌出現状況

薬剤耐性試験はClinical and Laboratory Standards Institute (CLSI ; 旧 NCCLS) 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TM ; BD）を用いて実施している。供試薬剤は、クロラムフェニコール（CP）、テトラサイクリン（TC）、ストレプトマイシン（SM）、カナマイシン（KM）、アンピシリン（ABPC）、スルファメトキサゾール・トリメトプリム合剤（ST）、ナリジクス酸（NA）、ホスホマイシン（FOM）、ノルフロキサシン（NFLX）、セフトキシム（CTX）、セフトジジム（CAZ）およびイミペネム（IPM）の12種である。CP、TC、SM、KM、ABPC、ST、NAおよびFOMについては判定基準で「R」とされたものを耐性とし、NFLX、CTX、CAZおよびIPMについては「R」および「I」と判定されたものを耐性とした。

これらの薬剤について637菌株について耐性試験を実施した結果、251菌株（39.4%）が単剤あるいは多剤耐性菌であった。表2に供試薬剤別耐性菌出現

表2 食品由来大腸菌における薬剤別耐性菌出現状況

| 薬剤 | 耐性率 (%) | | |
|------|--------------------|--------------------|--------------------|
| | 1995-98 (n=172) | 1999-04 (n=189) | 2005-08 (n=276) |
| CP | 1.2 | 11.6 | 7.2 |
| TC | 12.8 | 46.0 | 35.5 |
| SM | 6.4 | 29.7 | 21.0 |
| KM | 1.7 | 13.8 | 11.6 |
| ABPC | 2.3 | 27.0 | 27.9 |
| ST | 1.7 | 14.8 | 14.1 |
| NA | 0.6 | 14.3 | 14.5 |
| FOM | 0.0 | 0.0 | 2.5 |
| NFLX | 0.0 | 4.2 | 6.2 |
| CTX | 0.0 | 1.1 | 5.8 |
| CAZ | 0.0 | 0.5 | 4.0 |
| IPM | 0.0 | 0.0 | 0.0 |

表1 各種食品からの大腸菌検出状況（1995～2008年）

| 食品 | 試験件数 | 検出件数 | 検出率 (%) |
|------|--------|------|---------|
| 惣菜類 | 4,625 | 95 | 2.1 |
| 和洋菓子 | 1,181 | 3 | 0.3 |
| 魚介類 | 1,142 | 32 | 2.8 |
| 拭き取り | 1,079 | 29 | 2.7 |
| 食肉類 | 971 | 423 | 43.6 |
| 豆腐 | 476 | 24 | 5.0 |
| 乳製品 | 401 | 4 | 1.0 |
| 冷凍食品 | 397 | 6 | 1.5 |
| 野菜類 | 250 | 12 | 4.8 |
| 調理パン | 188 | 1 | 0.5 |
| 液卵 | 70 | 8 | 11.4 |
| 計 | 10,780 | 637 | 5.9 |

状況を、耐性率が低かった1998年以前と、上昇した1999年以降を、2004年までと最近の2005～2008年に分けて示した。なお、全期間における耐性率は、高い順にTC (32.5%)、ABPC (20.7%)、SM (19.6%)、ST (11.0%)、NA (10.7%)、KM (9.6%)、CP (6.9%)、NFLX (3.9%)、CTX (2.8%)、CAZ (1.9%)、FOM (1.1%)、IPM (0%)であった。

キノロン剤NA耐性菌は1998年より検出され、それ以降急増している。ニューキノロン剤FQの代表として用いているNFLX耐性菌は1999年に出現し、以降増加傾向で推移している(詳細はⅢの項)。ESBL産生菌検出用としてはCTXおよびCAZを用いているが、両薬剤に対する耐性菌は2003年に出現、その後急増している(詳細はⅣの項)。なお、CAZ耐性菌は全てCTXにも耐性であり、CAZ単独の耐性菌は認められなかった。メタロβラクタマーゼ産生菌検出のために導入したIPMには全菌株感受性であった。なお最近4年間(2005～2008年)に検出された276菌株では129株(46.7%)が耐性菌で、薬剤別耐性率は高い順にTC (35.5%)、ABPC (27.9%)、SM (21.0%)、NA (14.5%)、ST (14.1%)、KM (11.6%)、CP (7.2%)、NFLX (6.2%)、CTX (5.8%)、CAZ (4.0%)、FOM (2.5%)、IPM (0%)であった。

2. 薬剤耐性菌の動向

薬剤耐性菌出現の年次推移を図1に示した。供試12種薬剤いずれかに単剤あるいは多剤耐性であった耐性菌出現率は、1995～1996年は試験46菌株中5株(10.9%)、1997～1998年126菌株中19株(15.1%)、1999～2000年91菌株中40株(44.0%)、2001～2002年43菌株中23株(53.5%)、2003～2004年55菌株中34株(61.8%)と年々上昇してきたが、2005～2006年は140菌株中63株(45.0%)、

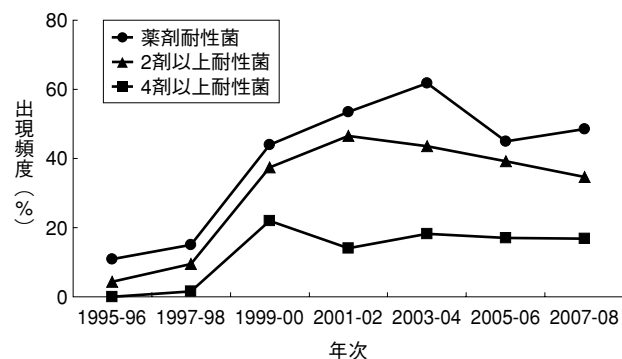


図1 食品由来大腸菌における薬剤耐性菌出現状況

2007～2008年136菌株中66株(48.5%)とやや低下した。なお、耐性菌の大半は2剤以上の多剤耐性菌で、4剤以上の多剤耐性菌も1999年以降毎年相当数検出されている。これら耐性菌の耐性パターンは60種類以上の多岐にわたっており、TC単剤、TC/SM、TC/SM/KM、TC/SM/KM/ABPC、CP/TC/SM/ABPC/STなどが多かった。

3. 由来食品別薬剤耐性菌出現状況

由来食品別に見た薬剤耐性菌の出現状況を表3に示した。試験菌株が20株以上の食品由来菌株について見ると、大腸菌検出率が格段高かった調理用生食肉類由来が423菌株中224株(53.0%)と非常に高く、他の食品では拭き取り29菌株中4株(13.8%)、惣菜類95菌株中13株(13.7%)、魚介類32菌株中3株(9.4%)、豆腐24菌株中1株(4.2%)と低耐性率であった。

食肉類由来菌株において耐性菌が高率に検出されている事より、この耐性菌出現状況を食肉の種類別に見てみた。表4に示したように、鶏肉由来では179菌株中147株(82.1%)、牛肉由来では126菌株中27株(21.4%)、豚肉由来では69菌株中32株(46.4%)、その他(合い挽肉、馬肉など)由来49菌株中18株(36.7%)が耐性菌で、特に鶏肉由来菌株において耐

表3 由来食品別大腸菌における薬剤耐性菌出現状況(1995～2008年)

| 由来食品 | 試験菌株数 | 耐性菌株数 | 耐性率 (%) |
|------|-------|-------|---------|
| 食肉類 | 423 | 224 | 53.0 |
| 惣菜類 | 95 | 13 | 13.7 |
| 魚介類 | 32 | 3 | 9.4 |
| 拭き取り | 29 | 4 | 13.8 |
| 豆腐 | 24 | 1 | 4.2 |
| 野菜類 | 12 | 3 | 25.0 |
| 液卵 | 8 | 1 | 12.5 |
| 冷凍食品 | 6 | 0 | 0.0 |
| 乳製品 | 4 | 0 | 0.0 |
| 和洋菓子 | 3 | 2 | 66.7 |
| 調理パン | 1 | 0 | 0.0 |
| 計 | 637 | 251 | 39.4 |

表4 食肉種別大腸菌における薬剤耐性菌出現状況(1995～2008年)

| 食肉種 | 試験菌株数 | 耐性菌株数 | 耐性率 (%) |
|-----|-------|-------|---------|
| 鶏肉 | 179 | 147 | 82.1 |
| 牛肉 | 126 | 27 | 21.4 |
| 豚肉 | 69 | 32 | 46.4 |
| その他 | 49 | 18 | 36.7 |
| 計 | 423 | 224 | 53.0 |

性率が高かった。なお、試験した鶏肉は全て国内（全国各地）で飼育された鶏からの加工生肉（むね肉、もも肉等）である。

Ⅲ. フルオロキノロン系薬剤耐性菌

1. FQ 耐性菌の MIC 分布と出現動向

ニューキノロン剤と呼ばれる FQ と本剤の基となった NA（オールドキノロン剤と呼ばれる）は交差耐性を示すことより、NFLX および NA 両者に耐性であった 25 菌株、NA に耐性で NFLX には感受性であった 43 菌株の両薬剤に対する最小発育阻止濃度（MIC）を E-test で測定した。加えて NFLX と同様 FQ であるオフロキサシン（OFLX）、シプロフロキサシン（CPFX）、レボフロキサシン（LVFX）およびスパルフロキサシン（SPFX）についても実施した。対照として NA 感受性の 30 株を用いた。結果は表 5 に示したが、これまで著者らがサルモネラ属菌や毒素原性大腸菌で報告した^{3, 6)} ように、NFLX/NA 耐性菌はいずれも他の FQ にも高度耐性（薬剤により若干異なるが MIC3.0 ～ > 32 µg/ml に分布）であった。NA のみ耐性菌は、対照とした NA 感受性菌

（MIC 0.008 ～ 0.125）よりはかなり高い MIC 分布（MIC 0.064 ～ 2.0）であったが、各 FQ に対して耐性とは判定されず、いわゆる低感受性（低度耐性）であった。

FQ 耐性菌および低感受性菌出現の年次推移を図 2 に示した。FQ 耐性菌は 1999 年に初めて出現し、1999 ～ 2000 年の出現頻度は 4.4% であった。以降 2001 ～ 2002 年 2.3%、2003 ～ 2004 年 5.5%、2005 ～ 2006 年 5.0%、2007 ～ 2008 年 7.4% と増加傾向で推移してきている。一方、FQ 低感受性菌は 1998 年に初めて検出され 1997 ～ 1998 年の頻度は 0.8% であった。以降 1999 ～ 2000 年 8.8%、2001 ～ 2002 年 16.3% と急増、2003 ～ 2004 年は 7.3% と低下したが、2005 ～ 2006 年 7.9%、2007 ～ 2008 年 8.8% と増加傾向にある。

なお、FQ 耐性菌を上回る FQ 低感受性菌が検出されることは、FQ 耐性菌出現増加の危険性がさらに高まっていることを示すものであり、その動向については引き続き監視が必要である。

2. FQ 耐性菌の概要

検出された FQ 耐性菌 25 株の概要を表 6 に示した。それらの 22 菌株は鶏肉由来で、残りの 3 菌株

表 5 NFLX および NA 耐性大腸菌のフルオロキノロン系薬剤に対する最小発育阻止濃度（MIC）分布

| 薬剤 | MIC (µg/ml) | | |
|------|------------------|--------------|---------------|
| | NFLX/NA 耐性菌 25 株 | NA 耐性菌 43 株 | NA 感受性菌 30 株 |
| NA | > 256 | 48 ～ > 256 | 1.56 ～ 3.12 |
| NFLX | 8.0 ～ > 32 | 0.19 ～ 2.0 | 0.032 ～ 0.125 |
| OFLX | 8.0 ～ > 32 | 0.19 ～ 2.0 | 0.032 ～ 0.125 |
| CPFX | 3.0 ～ > 32 | 0.064 ～ 0.5 | 0.008 ～ 0.032 |
| LVFX | 3.0 ～ 24 | 0.125 ～ 1.0 | 0.016 ～ 0.032 |
| SPFX | 4.0 ～ > 32 | 0.094 ～ 0.75 | 0.008 ～ 0.032 |

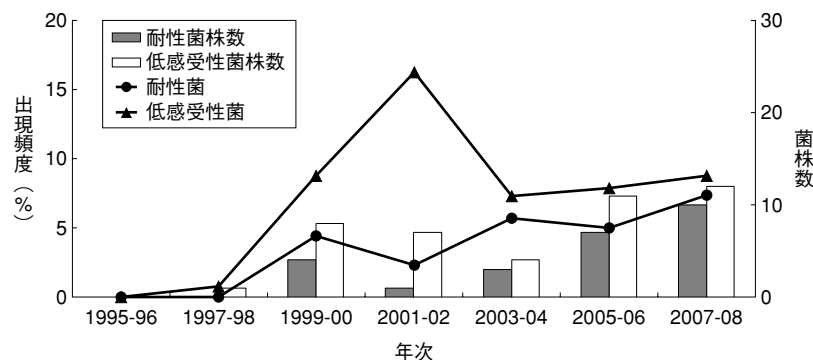


図 2 食品由来大腸菌におけるフルオロキノロン系薬剤耐性および低感受性菌の出現状況

表6 食品由来フルオロキノロン系薬剤耐性大腸菌

| 菌株 | 分離年 | 由来 | 耐性パターン |
|----|------|----|----------------------------------|
| A | 1999 | 鶏肉 | CP/TC/ABPC/NA/NFLX |
| B | 1999 | 鶏肉 | TC/SM/KM/ABPC/NA/NFLX |
| C | 1999 | 鶏肉 | TC/ABPC/ST/NA/NFLX |
| D | 1999 | 鶏肉 | TC/SM/ABPC/NA/NFLX |
| E | 2002 | 鶏肉 | TC/SM/ABPC/ST/NA/NFLX |
| F | 2003 | 鶏肉 | TC/SM/ABPC/ST/NA/NFLX |
| G | 2003 | 鶏肉 | CP/TC/SM/ABPC/ST/NA/NFLX/CTX/CAZ |
| H | 2004 | 豚肉 | CP/TC/SM/ABPC/ST/NA/NFLX |
| I | 2005 | 鶏肉 | TC/SM/ABPC/ST/NA/NFLX |
| J | 2005 | 鶏肉 | SM/NA/NFLX |
| K | 2005 | 鶏肉 | CP/TC/SM/KM/ABPC/ST/NA/NFLX |
| L | 2006 | 鶏肉 | TC/ABPC/NA/NFLX |
| M | 2006 | 豚肉 | CP/TC/SM/KM/ABPC/ST/NA/NFLX |
| N | 2006 | 豚肉 | CP/TC/SM/KM/ABPC/ST/NA/NFLX |
| O | 2006 | 鶏肉 | TC/SM/ABPC/ST/NA/NFLX |
| P | 2007 | 鶏肉 | TC/KM/ABPC/ST/NA/NFLX |
| Q | 2007 | 鶏肉 | SM/ABPC/ST/NA/NFLX |
| R | 2007 | 鶏肉 | TC/KM/NA/NFLX |
| S | 2007 | 鶏肉 | TC/SM/NA/NFLX |
| T | 2008 | 鶏肉 | TC/SM/ABPC/ST/NA/NFLX/CTX/CAZ |
| U | 2008 | 鶏肉 | NA/NFLX |
| V | 2008 | 鶏肉 | CP/TC/SM/ABPC/ST/NA/NFLX |
| W | 2008 | 鶏肉 | TC/SM/ABPC/ST/NA/FOM/NFLX/CTX |
| X | 2008 | 鶏肉 | TC/ABPC/NA/NFLX/CTX/CAZ |
| Y | 2008 | 鶏肉 | CP/TC/SM/KM/ABPC/ST/NA/NFLX |

供試薬剤；CP, TC, SM, KM, ABPC, ST, NA, FOM, NFLX, CTX, CAZ, IPM

(菌株 H、M および N) は豚肉由来であった。なお、FQ 低感受性菌 43 株の由来は、鶏肉 (38 菌株)、豚肉 (3 菌株)、牛肉 (1 菌株) および馬肉 (1 菌株) であった。養鶏環境と FQ 耐性カンピロバクター属菌との関連性については良く知られている^{16-18, 20)}が、大腸菌においても同様の傾向にあることが示された。耐性パターンを見るとキノロン剤のみ (NA/NFLX) は 1 菌株 (菌株 U) で、残りの菌株は

他系統の薬剤を含む多剤耐性であった。

キノロン耐性機序としては標的酵素、すなわち DNA 複製初期に負の超螺旋構造を構築する DNA ジャイレース、および後期に二量体 DNA の分離に関与するトポイソメラーゼ IV の変異により、薬剤の抗菌作用を回避する機構があげられる。大腸菌では、DNA ジャイレースサブユニット A をコードする遺伝子 *gyrA* の 83 位のセリンや 87 位のアスパラギン酸に変異が起これると耐性化する。さらに、トポイソメラーゼ IV のサブユニット A をコードする遺伝子 *parC* の 78 位のグリシン、80 位のセリン、84 位のグルタミン酸の変異によっても耐性化することが明らかにされており、これら 2 種類の標的酵素の変異の組み合わせにより、耐性化の度合いが決定される。今回検出された FQ 耐性菌および低感受性菌について、キノロン耐性決定領域 (Quinolone Resistance Determining Regions ; QRDR) と呼ばれるこれらの部位の変異の有無について検討した成績を表 7 にまとめた。FQ 耐性菌はいずれも *gyrA* の 83 位と 87 位の両部位および *parC* の 80 位に変異 (コドンの変異が異なる 3 パターンあり) が認められた。一方、FQ 低感受性菌では *gyrA* の 83 位のみの変異が 42 菌株に、残りの 1 菌株では *gyrA* の 83 位と *parC* の 80 位に変異が認められた。これまで認識されているように、高度耐性化するには *gyrA* の 83 位と 87 位の両部位に加えて、*parC* 部位の変異が必要であることが確認された。

表7 食品由来フルオロキノロン系薬剤耐性および低感受性大腸菌における耐性関連遺伝子の変異

| 菌株 | <i>gyrA</i> | | | | | | | <i>parC</i> | | | | | | |
|--------------------|---------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|---------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | GyrA アミノ酸ポジション/コドン/(アミノ酸) | | | | | | | ParC アミノ酸ポジション/コドン/(アミノ酸) | | | | | | |
| | 82 | 83 | 84 | 85 | 86 | 87 | 88 | 78 | 79 | 80 | 81 | 82 | 83 | 84 |
| FQ 感受性菌 K-12 HB101 | GAC (Asp) | TCG (Ser) | GCG (Ala) | GTC (Val) | TAT (Tyr) | GAC (Asp) | ACG (Tyr) | GGC (Gly) | GAT (Asp) | AGC (Ser) | GCC (Ala) | TGT (Cys) | TAT (Tyr) | GAA (Glu) |
| FQ 耐性菌 23 菌株 | --- | -T- (Leu) | --- | --- | --- | A- (Asn) | --- | --- | --- | -T- (Ile) | --- | --- | --- | --- |
| FQ 耐性菌 1 菌株 | --- | -T- (Leu) | --- | --- | --- | A- (Asn) | --- | --- | --- | -TT (Ile) | --- | --- | --- | --- |
| FQ 耐性菌 1 菌株 | --- | GT- (Val) | --- | --- | --- | -G- (Gly) | --- | --- | --- | -T- (Ile) | --- | --- | --- | --- |
| FQ 低感受性菌 42 菌株 | --- | -T- (Leu) | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| FQ 低感受性菌 1 菌株 | --- | -T- (Leu) | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | -T- (Ile) | --- | --- | --- | --- |

IV. ESBL 産生菌

1. ESBL 産生菌の出現動向

1980年代になると、CTXなどの第3世代セフェム系薬剤やモノバクタム系薬剤にまで耐性を示す腸内細菌が、院内感染の起因菌として検出されるようになった。これらの耐性菌は、それまで知られていた基質特異性の狭い β ラクタマーゼのアミノ酸1～数カ所が置換した変異型の β ラクタマーゼを産生、その基質特異性を拡張したものであった。これらの変異型 β ラクタマーゼは、プロトタイプより加水分解される基質である β ラクタム剤の範囲が拡張されたことより、基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ(ESBL)と呼ばれる。このESBLはTEM型、SHV型、CTX-M型などに大別される。わが国で検出頻度が高いのはCTX-M型ESBLで、1990年代から亜型が次々出現し、それらによる院内感染が増加している²³⁾。CTX-M型ESBLはCTXに耐性を示し、TEM型やSHV型ESBLはCAZに耐性を示すことより、著者らはCTXとCAZの両薬剤をESBL産生菌の検索に用いている。なお、ESBLに関する詳細は本誌に掲載された石井の論文¹²⁾を参照されたい。

CTXあるいはCTXおよびCAZの両剤に耐性を示したのは18菌株で、後述のごとくいずれもCTX-M型ESBL産生菌であった。ESBL産生菌出現状況の年次推移を図3に示した。本菌は2002年までは全く検出されなかったが、2003年に初めて出現、2003～2004年の検出頻度は3.6%であった。以降2005～2006年6.4%、2007～2008年5.1%と急増しており、今後の動向に注意が必要である。

2. ESBL 産生菌の概要

検出されたESBL産生菌の概要を表8に示した。これらの由来は18菌株全て鶏肉であった。鶏肉からの大腸菌検出率が高いこと、検出菌株の薬剤耐性菌出現頻度が高いことは前述したが、ESBL産生菌全てが鶏肉由来とは想像していなかった。なお最近の学会において、この知見を裏付けるように、鶏肉や鶏糞便からの本菌検出が報告されている^{24, 25)}。CTXに対するMICは(E-testで測定)2～128 μ g/mlに分布していた。耐性パターンを見ると、CTXあるいはCTX/CAZにABPCのみが加わったものが6菌株(菌株a、d、e、g、hおよびm)認められ、残りの12菌株は他系統の薬剤を含む多剤耐性であった。なお、FQ(NFLX耐性)耐性を含む耐性株が4菌株(菌株G、T、WおよびX)FQ低感受性(NA耐性)を含む耐性株が3菌株(菌株c、kおよびn)認められるのが特徴的であった。ESBL型は17菌株がCTX-M-9グループ、1菌株(菌株c)はCTX-M-1グループに属するもので、わが国でヒトからのESBL産生大腸菌においてよく認められる型であった。

従来CTX-M型ESBLは名前のごとくCTXを高率に加水分解するが、CAZはほとんど分解しないとされ、これがCTX-M型ESBLの本来の基質特異性だと理解されてきた。しかしCAZを分解できないCTX-M-14型ESBLの1アミノ酸が置換したCTX-M-19型ESBLには、CAZに対して比較的強い分解活性が認められる。また同様のバリエーションCTX-M-27型ESBLがCAZ耐性大腸菌から検出されている。今回検出したCTX-M-9グループESBL産生菌17株中11菌株はCTXとCAZ両者に耐性で、残りの菌株も耐性とは判定されなかったものの、そのディス

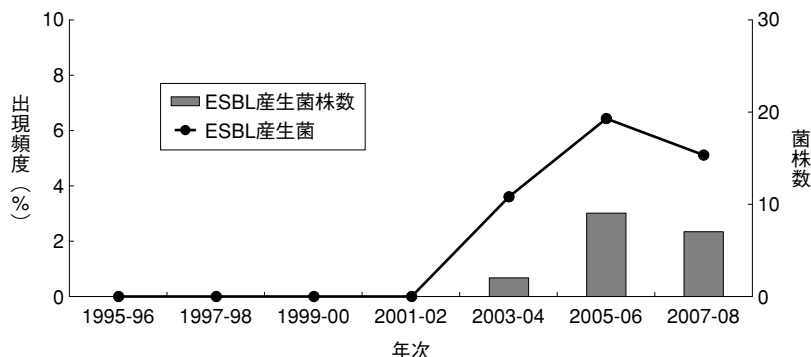


図3 食品由来大腸菌における基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ(ESBL)産生菌出現状況

表 8 食品由来基質特異性拡張型 β ラクターマーゼ (ESBL) 産生大腸菌

| 菌株 | 分離年 | 由来 | CTX MIC ($\mu\text{g/ml}$) | 耐性パターン | ESBL |
|----|------|----|---------------------------------|----------------------------------|---------------|
| G | 2003 | 鶏肉 | 64 | CP/TC/SM/ABPC/ST/NA/NFLX/CTX/CAZ | CTX-M-9 group |
| a | 2004 | 鶏肉 | 96 | ABPC/CTX | CTX-M-9 group |
| b | 2005 | 鶏肉 | 128 | TC/ABPC/CTX | CTX-M-9 group |
| c | 2005 | 鶏肉 | 96 | TC/SM/KM/ABPC/ST/NA/CTX | CTX-M-1 group |
| d | 2005 | 鶏肉 | 32 | ABPC/CTX/CAZ | CTX-M-9 group |
| e | 2005 | 鶏肉 | 32 | ABPC/CTX/CAZ | CTX-M-9 group |
| f | 2006 | 鶏肉 | 32 | CP/TC/SM/ABPC/CTX/CAZ | CTX-M-9 group |
| g | 2006 | 鶏肉 | 3 | ABPC/CTX/CAZ | CTX-M-9 group |
| h | 2006 | 鶏肉 | 4 | ABPC/CTX/CAZ | CTX-M-9 group |
| i | 2006 | 鶏肉 | 64 | TC/KM/ABPC/CTX | CTX-M-9 group |
| j | 2006 | 鶏肉 | 32 | TC/SM/ABPC/ST/CTX/CAZ | CTX-M-9 group |
| k | 2007 | 鶏肉 | 32 | TC/ABPC/ST/NA/CTX/CAZ | CTX-M-9 group |
| T | 2008 | 鶏肉 | 2 | TC/SM/ABPC/ST/NA/NFLX/CTX/CAZ | CTX-M-9 group |
| l | 2008 | 鶏肉 | 2 | SM/ABPC/ST/CTX | CTX-M-9 group |
| m | 2008 | 鶏肉 | 4 | ABPC/CTX/CAZ | CTX-M-9 group |
| W | 2008 | 鶏肉 | 32 | TC/SM/ABPC/ST/NA/FOM/NFLX/CTX | CTX-M-9 group |
| X | 2008 | 鶏肉 | 8 | TC/ABPC/NA/NFLX/CTX/CAZ | CTX-M-9 group |
| n | 2008 | 鶏肉 | 4 | TC/SM/KM/ABPC/NA/CTX | CTX-M-9 group |

供試薬剤；CP, TC, SM, KM, ABPC, ST, NA, FOM, NFLX, CTX, CAZ, IPM

ク阻止円は感受性菌株より小さい結果であった。既知の CTX-M 型か、新しいバリエーションか、あるいは他の耐性遺伝子との複合作用によるものか、解析を進めている。

おわりに

英国において昨 2007 年 11 月、「調査の結果、年間数百人規模で患者の命を奪っているであろう ESBL 産生大腸菌 (*Super E.coli* と呼んでいる) が 32 カ所のファームから検出された。肉やミルクを介してヒトに広まっているのでは」といった内容の、人々の不安を煽る報道があった。

わが国で市販されている各種食品由来大腸菌について薬剤耐性状況を検討してきているが、ここに紹介したように ESBL 産生大腸菌は 2003 年から出現、以後急増しており、その由来は全て鶏肉であった。国内では養鶏でセフェム系薬剤は使用されていないと思うが、飼育環境に第 3 世代セフェム系薬剤耐性菌汚染源の存在が推測される。早急な保菌実態の調査、防止対策が望まれる。市販の鶏肉から高頻度に検出されることは、本菌が広く市中に拡散している可能性もある。院内感染の原因菌としてのみならず、市中から院内への持ち込みも視野に入れておく必要がある。また、治療等に関しても大きな影響をおよぼすものと思われる。腸管出血性大腸菌や赤痢菌など強病原菌においても ESBL 産生菌の出現が報告されており^{26, 27)}、今後ともその動向には厳重な監視が

必要である。

著者(松下)は 2000 年に感染性心内膜炎と診断され入院した。幸いにも、起因菌は薬剤感受性の *Streptococcus oralis* で、九死に一生を得、抗菌剤による化学療法の驚異を自身で体験した。薬剤耐性菌の排除は大変困難であるが、臨床と基礎の分野が互いに協力し、その現状を把握、感染防止に努めることが重要だと考える。

謝辞：本論文の掲載をご快諾頂いた東京大学医学研究所岩本愛吉教授をはじめ編集委員の先生方に感謝の意を表します。

文 献

- 1) 松下 秀, 小西典子, 有松真保, 甲斐明美, 山田澄夫, 諸角聖, 泉谷秀昌, 寺島 淳, 渡辺治雄：散発事例由来 *Salmonella* serovar Typhimurium の薬剤耐性と definitive type 104 の出現状況. 感染症学雑誌 **73** : 1087-1094, 1999.
- 2) 松下 秀, 小西典子, 有松真保, 甲斐明美, 山田澄夫, 諸角聖, 工藤泰雄：散発事例からの *Salmonella* serovar Hadar の検出状況と薬剤耐性. 感染症学雑誌 **73** : 1210-1216, 1999.
- 3) 松下 秀, 小西典子, 有松真保, 甲斐明美, 山田澄夫, 諸角聖, 森田耕司, 金森政人, 工藤泰雄：散発事例由来サルモネラにおけるナリジクス酸耐性株の出現状況. 感染症学雑誌 **74** : 345-352, 2000.
- 4) 松下 秀, 有松真保, 高橋正樹, 横山敬子, 小西典子, 柳川義勢, 山田澄夫, 諸角 聖：東京において最近 5 年間 (1995 ~ 1999 年) に分離された輸入及び国内事例由来赤痢菌の菌種・血清型と薬剤耐性. 感染症学雑誌 **74** : 834-840,

- 2000.
- 5) 松下 秀, 河村真保, 高橋正樹, 横山敬子, 小西典子, 柳川義勢, 甲斐明美, 山田澄夫, 諸角 聖, 工藤泰雄: 東京において最近5年間(1995~1999年)に分離された国内及び輸入事例由来サルモネラの血清型と薬剤耐性. 感染症学雑誌 **75**: 116-123, 2001.
 - 6) 松下 秀, 河村真保, 高橋正樹, 横山敬子, 小西典子, 畠山薫, 甲斐明美, 諸角 聖, 森田耕司, 渡辺 登, 金森政人, 工藤泰雄: 海外旅行者下痢症例由来毒素原性大腸菌におけるフルオロキノロン系薬剤低感受性菌の出現状況. 感染症学雑誌 **75**: 785-791, 2001.
 - 7) 松下 秀: 細菌性赤痢. 総合臨牀 **52** (増刊号): 569-575, 2003.
 - 8) 松下 秀, 河村真保, 小西典子, 甲斐明美, 加藤 玲, 尾形和恵, 伊藤忠彦, 矢野一好, 森田耕司, 渡辺 登, 金森政人, 工藤泰雄: 我が国で分離された *Vibrio cholerae* O1 及び nonO1 における薬剤耐性菌の出現状況. 感染症学雑誌 **77**: 195-202, 2003.
 - 9) 松下 秀: 毒素原性大腸菌におけるフルオロキノロン系薬剤低感受性菌の出現. 臨床検査 **47**: 501-504, 2003.
 - 10) 松下 秀, 河村真保: 細菌性赤痢. 新感染症学(下)日本臨牀 **65** (増刊号): 74-77, 2007.
 - 11) 松本哲哉: 基礎・臨床の両面からみた耐性菌の現状と対策1「多剤耐性緑膿菌(MDRP)」。モダンメディア **53**: 74-79, 2007.
 - 12) 石井良和: 基礎・臨床の両面からみた耐性菌の現状と対策2「基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ(ESBL)産生菌」。モダンメディア **53**: 98-104, 2007.
 - 13) 渡邊 浩, 大石和徳: 基礎・臨床の両面からみた耐性菌の現状と対策3「ペニシリン耐性肺炎球菌」。モダンメディア **53**: 122-126, 2007.
 - 14) 谷本弘一, 池 康嘉: 基礎・臨床の両面からみた耐性菌の現状と対策4「バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)」。モダンメディア **53**: 140-147, 2007.
 - 15) 平松和史: 基礎・臨床の両面からみた耐性菌の現状と対策5「インフルエンザ菌」。モダンメディア **53**: 186-189, 2007.
 - 16) 川森文彦, 久島昇平, 有田世乃, 増田高志, 秋山眞人, 重茂克彦, 品川邦汎: ヒト, 家畜および食肉から分離されたカンピロバクターの薬剤感受性. 日本食品微生物学会雑誌 **21**: 131-137, 2004.
 - 17) 渡辺治雄: 食中毒由来細菌の薬剤耐性. 食品衛生研究 **56**: 17-24, 2006.
 - 18) 高橋敏雄, 浅井鉄夫, 小島明美, 原田和記, 石原加奈子, 守岡綾子, 木島まゆみ, 田村 豊: 家畜衛生分野における耐性菌の現状と今後の対応. 感染症学雑誌 **80**: 185-195, 2006.
 - 19) 藤尾公輔, 清水 晃, 松村浩介, 河野潤一, 北川 浩, 五十君静信: 市販食肉, 健康人, 豚および鶏から分離された黄色ブドウ球菌の薬剤耐性. 日本食品微生物学会雑誌 **24**: 100-106, 2007.
 - 20) 柿本将平, 福山正文, 古畑勝則, 大仲賢二, 吉浪 誠, 谷川力, 原 元宣, 原田誠三郎, 斎藤志保子, 森 敏彦, 武藤哲典, 宮井美津夫, 渡邊忠男: ヒト下痢便および鶏肉, 鶏糞便から分離した *Campylobacter jejuni* 株の薬剤感受性試験およびキノロン耐性株に対する遺伝子変異に関する検討. 感染症学雑誌 **81**: 363-369, 2007.
 - 21) 北爪春恵, 松本裕子, 石黒裕紀子, 山田三紀子, 武藤哲典, 泉谷秀昌: 市販鶏肉から分離された *Salmonella* Enteritidis の疫学解析. 日本食品微生物学会雑誌 **25**: 36-41, 2008.
 - 22) 神 真知子, 森本敬子, 高橋由美, 服部絹代, 松下 秀, 吉田靖子: 各種市販食品の細菌検査成績(1993年度~2002年度). 東京都健康安全研究センター研究年報 **55**: 139-144, 2004.
 - 23) 金森政人, 遠藤英子: 院内感染起因腸内細菌に拡散・伝播する CTX-M 型 ESBL 遺伝子. 杏林医学会雑誌 **35**: 205-214, 2004.
 - 24) 廣井みどり, 川森文彦, 神田 隆, 杉山寛治, 大橋典男: 家畜糞便および食肉から分離した基質拡張型 β ラクタマーゼ産生大腸菌の解析. 日本細菌学雑誌 **63** (第81回日本細菌学会総会抄録): 107, 2008.
 - 25) 石畝 史, 村岡道夫, 柴田尚宏, 荒川宜親: ヒトおよび鶏肉由来の基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ産生大腸菌の薬剤感受性および β ラクタマーゼ遺伝子型解析. 感染症学雑誌 **82** (第82回日本感染症学会総会学術講演抄録): 317, 2008.
 - 26) 近 真里奈, 倉園貴至, 大島まり子, 山口正則, 森田耕司, 渡辺 登, 金森政人, 松下 秀: 下痢症患者から分離された cefotaxime 耐性志賀毒素産生性大腸菌 O26 : H11 について. 感染症学雑誌 **79**: 161-168, 2005.
 - 27) 下迫純子, 山内昌弘, 横田正春, 中村 武, 大中隆史, 田中智之, 藤井史敏, 松本恵美子, 柴田仙子, 福田雅一: 保育施設における ESBL 産生性細菌性赤痢の集団発生事例一堺市. 病原微生物検出情報 **28**: 45-46, 2007.