

食肉を汚染する抗菌薬耐性菌

Meat contamination with antibiotic resistant bacteria

えとう ま き いし い よし かず
江 藤 麻 希 : 石 井 良 和
Maki ETO Yoshikazu ISHII

はじめに

メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) や多剤耐性緑膿菌、基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ (Extended-spectrum β -lactamase : ESBL) 産生腸内細菌科細菌などの薬剤耐性菌は病院内で院内感染の原因微生物として注目されている。しかし、耐性菌は病院内に限らず、時として健常人に感染症を発症する場合もある。例えば、最近米国で話題となっている市中感染型 (Community acquired : CA) MRSA は、健常人に対しても致死的な感染症を惹起する場合があると報告されている¹⁾。本邦でも富田らが CA-MRSA 感染症について報告している²⁾。また、スペインや英国では、ESBL 産生大腸菌が健常人に対して尿路感染症を発症しているとの報告がなされている。そして、この ESBL 産生大腸菌は特定の血清型を示し、さらに特定な遺伝子型であることも明らかになっている³⁻⁵⁾。

本稿では、欧米で食品汚染とヒトの感染症との関連性が指摘されている、グリコペプチド系薬耐性腸球菌、フルオロキノロン系薬耐性カンピロバクター属菌および ESBL 産生大腸菌に関して概説する。さらに、これらの耐性菌の臨床材料からの検出状況と食品の汚染状況に関して、私見を交えて述べてみたい。

I. 抗菌性物質使用と耐性菌 検出状況との関連性

医療従事者は臨床用抗菌薬に関する知識は有しているが、農畜水産物の生産に際して用いられる抗菌性物質に対してはあまり注意を払っていない。図 1

に示すごとく、臨床用および農畜水産物用として使用される抗菌性物質の使用量は大きく異なっており、農畜水産物への使用量は臨床用抗菌薬使用量のおよそ 3 倍量である⁶⁾。すなわち、耐性菌出現の原因がすべて臨床での抗菌性物質使用によってもたらされるのではなく、農畜産物の生産現場での使用にも一因があると考えられる。

一方、抗菌性物質にさらされる可能性が全くないと考えられる環境からも抗菌薬耐性因子を保有する菌や特定の抗菌薬に耐性を示す菌が分離されている。例えば、北大西洋にある Sargasso 海から採取された海水を対象にメタゲノム解析を実施したところ、カルバペネム系薬分解酵素をコードする遺伝子が検出され⁷⁾、南極からメタロ β ラクタマーゼ産生 *Shewanella* 属菌⁸⁾ や黒潮の南側からセフェム系薬耐性緑膿菌⁹⁾、湖沼からカルバペネム系薬耐性緑膿菌あるいは OXA-型のカルバペネム系薬分解酵素産生 *Shewanella* 属菌¹⁰⁾ などが分離されている。さらに、D'Costa らは土壌から分離された菌株を検討したところ、分離されたすべての菌株が上市されたばかりのダプトマイシンに対して耐性を示したと報告している¹¹⁾。これらの報告から、われわれは、環境中に

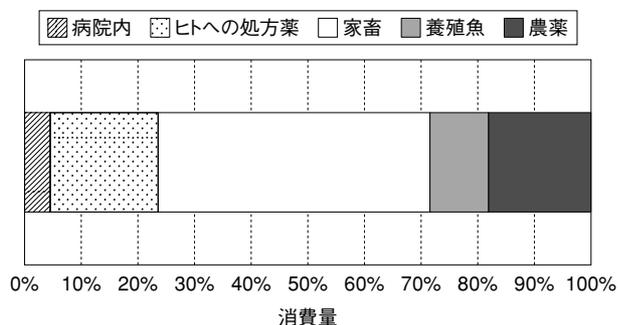


図 1 抗菌薬が使用される場所および消費量の内訳

東邦大学医学部
微生物・感染症学講座
〒143-8540 東京都大田区大森西 5-21-16

Department of Microbiology and Infectious Diseases, School of Medicine,
Toho University Faculty of Medicine
(5-21-16 Ohmori-nishi, Ota-ku, Tokyo)

は薬剤耐性因子をコードする遺伝子がプールされており、それを抗菌性物質の使用が選択・増幅して人体に影響することもあると考えている。

われわれの身の回りにいる愛玩動物や家畜の糞便から分離される耐性菌や食肉を汚染する耐性菌も報告されている¹²⁾。Kojimaらはbroiler(肉用鶏)の便から基質特異性拡張型βラクタマーゼ(Extended-spectrum β-lactamase: ESBL)産生菌が分離されたと述べている¹³⁾。一方、その分離頻度はlayer(卵用鶏)や豚、牛の便から分離されるESBL産生菌のものより高かったと述べている。Broilerとlayerに使用される抗菌性物質を比較すると、broilerに使用される抗菌性物質が多いために、ESBL産生菌の検出頻度が高いのではないかと考えられる。しかし、オキシミノセファロスポリン系薬は鶏および家禽類に対する適応がなく、使用されることがない。ESBL産生株を選択すると考えられている抗菌薬は、第三世代や第四世代セフェム系薬に含まれるオキシミノセファロスポリン系薬であると考えられている。しかし、それらに暴露されていないはずの鶏由来ESBL産生菌とセフェム系薬の間に抗菌薬選択に対する直接の因果関係はないと考えている。さらに、豚や牛においては感染症治療にセフェム系薬が承認され、使用されているにもかかわらず、鶏からのESBL産生株の検出頻度が高いことも、その出現や選択にセフェム系薬が直接関与していないことを支持すると考える。現在まで、抗菌性物質の種類とESBL産生株の選択を関連付ける科学的データは得られていない。

II. 諸外国において家畜や食肉を汚染する耐性菌

1. グリコペプチド系薬耐性腸球菌

バンコマイシンは1956年にイーライリリー社で開発されたグリコペプチド系薬で、グラム陽性菌感染症の治療薬として50年以上にわたり用いられてきた。バンコマイシン耐性腸球菌(Vancomycin Resistant Enterococci: VRE)は、1988年に英国で初めて見つかった。その1年後の1989年にはフランスおよび米国で報告されている¹⁴⁾。

動物の発育促進物質として使用されていたアボパ

ルシンは、グリコペプチド系薬に属する抗生物質で、ヨーロッパやアジア諸国を中心に鶏の飼料添加物として使用されていた¹⁵⁾。1995年デンマークで飼育されている家畜におけるVREの検出頻度は73%に上っていた。それを受けて、1996年にアボパルシンの使用を禁止したところ、2000年にはVREの検出頻度は6%に減少している。オランダおよびドイツの研究者らは、家畜からのVREの検出頻度が減少するとヒトからの検出頻度も減少したと報告している¹⁶⁾。

米国の集中治療室で治療を受けている患者から分離される腸球菌のうちの13.9%がVREである。米国ではこれまでアボパルシンの家畜への使用を認めていないので、これらのVREがヨーロッパのように家畜由来であるとは考えられない。米国の場合は、臨床使用されるバンコマイシンの量が極めて多いことがVRE蔓延の一因であると推察されており、ヨーロッパにおけるVREの拡散様式とは異なっている。

本邦では、VREによる感染症の発生件数は年間50件前後と、諸外国と比較すると極めて低い(<http://idsc.nih.gov/jp/disease/vre/vre04.html>)。さらに、本邦におけるバンコマイシンの使用量は、米国の1/8～1/6程度である。

本邦でもアボパルシンが鶏の飼料添加物として1985年に承認され、1996年まで使用されてきた。日本ではタイ産鶏肉からVREが検出されて話題になった。タイでは、1998年7月までアボパルシンが家畜の発育促進物質として使用されていた。現在、日本の輸入鶏肉のほぼ90%はブラジル産である。ブラジルではアボパルシンは使われていたが、1998年10月にその使用が禁止されている。以上の理由から、家畜におけるVREの検出率が低く維持されること、バンコマイシンの適正使用、ならびに医療従事者がVREへの関心を持ち続けられれば、本邦においてVREの検出頻度が上昇する可能性は高くないと考えられる。

2. キノロン系薬

キノロン系抗菌薬耐性菌のうち、家畜や食肉を汚染し問題となる菌種はカンピロバクター属菌である。米国では毎年140万人のカンピロバクター属菌が原因と思われる食中毒が発生していると見積もられ、

そのうち 13,000 人が入院している¹⁷⁾。死者は毎年 100 人に上ると報告されている。米国におけるヒトのカンピロバクター感染症は、*Campylobacter jejuni* と *Campylobacter coli* がそれぞれ 95% および 5% を占めており、圧倒的に *C. jejuni* の分離頻度が高い。本邦において 2005 年に発生したカンピロバクター属菌による食中毒は、653 件、患者数は 3,487 人であり、死亡はいなかった。本邦のカンピロバクター属菌による食中毒は、米国のデータと比較すると圧倒的に少ないのが特徴である。1997～2001 年に米国で市販されている鶏肉を調査したところ、その 44% にカンピロバクター属菌が混入しており、そのうちの 10% がフルオロキノロン系薬に対して耐性を示していたと報告された。これを受けたアメリカ食品医薬品局 (Food and Drug Administration : FDA) は 2000 年にフルオロキノロンの家禽類への使用禁止の検討を開始し、2005 年にはエンロフロキサシンの家禽類への使用を禁止した。2007 年に Nelson らが家禽類へのフルオロキノロン系薬使用禁止が耐性菌の蔓延抑制に奏功したと、勝利宣言している¹⁷⁾。本邦でも Igimi らは、市販鶏肉の約 70% にカンピロバクター属菌が混入しており、鶏肉由来株のうちの約 45% がフルオロキノロン系薬耐性菌に耐性を示すと述べている¹⁸⁾。本邦でも早急な対応が必要であると考えている。

多くの細菌性食中毒の発生頻度は減少傾向にある中、カンピロバクター属菌によるものが横這いあるいは若干の増加傾向にある理由は、その細菌学的特長と決して無関係ではない。カンピロバクター属菌は微好気性 (酸素濃度 5～10%) 菌であるために大気中 (21%) では徐々に死滅する。また、他の一般的なグラム陰性菌と同様に乾燥に弱い。しかし、4℃程度の冷蔵保存条件によりカンピロバクター属菌は菌量があまり減少せず、菌量を維持したまま調理場に持ち込まれる。すなわち、近年の新鮮な食材を提供するための流通システムや食材保管システムの改善が、カンピロバクター属菌による食中毒を減少させる方向につながっていないことに注意を払うべきである。

3. βラクタム系薬

家畜における ESBL 産生大腸菌やサルモネラ属菌の保菌状況に関する検討は世界各国で実施されてい

る。これまでに ESBL 産生大腸菌やサルモネラ属菌株が分離された動物は、産卵鶏と食肉鶏を含む家禽や豚、家兎、牛などである¹⁹⁾。このうち、特に ESBL 産生株の検出の報告が多い動物は家禽であり、特に肉用鶏からの分離頻度が高い。さらに食肉鶏から検出される ESBL は、CTX-M-型や TEM-型、SHV-型など、ヒトからも検出されている酵素産生株が多く認められる。また、CMY-2 などクラス C に属するプラスミド性 βラクタマーゼを産生する大腸菌なども家畜から検出されている。本邦でも Kojima らが、1999～2002 年に、全国 1,443 農場 (牛：453 農場、豚：417 農場、産卵鶏：219 農場、肉用鶏：354 農場) から収集された合計 2,747 株の大腸菌を対象としてセファゾリン耐性大腸菌の耐性因子に関する解析を実施している。その結果、18 株 (2.7%) のセファゾリン耐性大腸菌が肉用鶏を飼育している 12 農場 (3.4%) から分離された¹³⁾。そのうち、4 農場から分離された 6 株 (0.9%) はセフトオフル、セフポドキシム、セフォタキシム、セフェピムなどにも耐性を示したのに対して、セフォキシチンには感性を示した。以上の結果から、これらの菌株が ESBL を産生していることを疑って確認試験を実施した結果、これらの ESBL は CTX-M-2 あるいは CTX-M-18 であることを特定した。

一方、12 株のセファゾリン耐性株は、セフォキシチンの感受性が低下し、セフェピムに対する感受性が維持されていた。そこで、クラス C に属する βラクタマーゼ産生株であることを疑い、PCR 法でプラスミド性のクラス C に属する βラクタマーゼの遺伝子の増幅を試みている。その結果、8 株 (1.2%) から CMY-2 のグループに属する βラクタマーゼ遺伝子が検出され、DNA 塩基配列決定の結果、CMY-2 であることが確認された。残り 4 株のセファゾリン耐性株を含む 8 株の大腸菌はその染色体上に存在するクラス C に属する βラクタマーゼのプロモータ領域に突然変異が認められている。その結果、本来ほとんど発現されていない大腸菌の染色体性 βラクタマーゼが大量に産生されている可能性を指摘している。しかし、肉用鶏に対してセフェム系薬は適応がなく、なぜ使用されていない抗菌薬に対して耐性を獲得した菌株を保菌しているのかは不明である。

上述のごとく、肉用鶏は CTX-M-型に属する ESBL や CMY-2 などのプラスミド性のクラス C に属する

β ラクタマーゼ産生大腸菌を保菌している。したがって、食用肉がCTX-M型やCMY型 β ラクタマーゼ産生株によって汚染される可能性はあると考えられる。Warrenらは2006年に英国内で食用鶏肉を購入し、そこからESBL産生大腸菌の分離を試みている。その結果、129検体中17検体(13.2%)から、CTX-M-1、CTX-M-2、CTX-M-8およびCTX-M-14などCTX-M型に属するESBL産生大腸菌が分離されている²⁰⁾。Hasmanらは2001～2002年にオランダの家禽肉から分離されたサルモネラ属菌7株すべてからTEM-52が検出されたと述べている²¹⁾。TEM-52産生サルモネラ属菌は家禽肉のみならず、家禽およびヒトからも検出されている。しかし、いくつか血清型が異なる菌株が含まれていたと述べている。本邦では、Matsumotoらは2004年に中国から輸入された鶏肉から分離された*Salmonella enterica* Serovar Enteritidisがセフトキシムに耐性を示しており、この菌株からCTX-M-14をコードする遺伝子が検出されたと述べている²²⁾。

Bertrandらは1999～2003年の間、ヒトの臨床検体から分離される同菌種の頻度に変化はないものの、ベルギーで飼育されている家禽および家禽肉から検出される割合は急激に増加していると指摘している²³⁾。さらに、2000～2003年の間、ベルギーおよびフランスの家禽、家禽肉およびヒトから分離されたCTX-M-2産生*Salmonella enterica* Serovar Virchowについてパルスフィールドゲル電気泳動法で検討したところ、17株中15株のバンドパターンが一致し、同一起源の株であると考えられたと述べている。さらに、それら15株の中には家禽、家禽肉およびヒト由来株が含まれており、ヒトから分離されたCTX-M-2産生*S. enterica* Serovar Virchowは、食品を介して取り込まれた可能性を指摘している。われわれも国産鶏肉からCTX-M型 β ラクタマーゼを産生する大腸菌を分離しており、今後臨床材料から分離された大腸菌と血清型や遺伝子型などを食肉の流通・加工過程を含めて比較し、耐性菌の拡散過程を確認したいと考えている。

おわりに

これまで薬剤耐性菌は抗菌薬の選択圧の存在の下、出現・拡散すると考えられてきた。しかし、ペニシリ

ンの臨床応用が開始される以前に β ラクタマーゼ産生大腸菌に関する報告があるように、抗菌薬の開発・使用とは無関係に耐性菌が存在する。その自然界に生息する耐性菌をヒト、家畜、環境などに使用される抗菌物質が選択していることは明らかである。これまでは院内感染対策の一環として病院内の耐性菌サーベイランスが注目されている。しかし、今後は食品や家畜、環境から検出される耐性菌にも注目し、総合的な院内感染対策が必要になると考えている。

文 献

- 1) Bradley SF. *Staphylococcus aureus* pneumonia : emergence of MRSA in the community. *Semin Respir Crit Care Med* **26** : 643-649, 2005.
- 2) 富田雄介, 河野 修, 一安秀範, et al. 市中感染型メチシリン耐性黄色ブドウ球菌による壊死性肺炎の2例. *日本呼吸器学会雑誌* **46** : 395-403, 2008.
- 3) Blanco M, Alonso MP, Nicolas-Chanoine MH, et al.: Molecular epidemiology of *Escherichia coli* producing extended-spectrum β -lactamases in Lugo (Spain) : dissemination of clone O25b : producing CTX-M-15. *J Antimicrob Chemother* **63** : 1135-1141, 2009.
- 4) Lau SH, Kaufmann ME, Livermore DM, et al.: UK epidemic *Escherichia coli* strains A-E, with CTX-M-15 β -lactamase, all belong to the international O25 : H4-ST131 clone. *J Antimicrob Chemother* **62** : 1241-1244, 2008.
- 5) Pomba C, da Fonseca JD, Baptista BC, Correia JD and Martinez-Martinez L. Detection of the pandemic O25-ST131 human virulent *Escherichia coli* CTX-M-15-producing clone harboring the *qnrB2* and *aac(6)-Ib-cr* genes in a dog. *Antimicrob Agents Chemother* **53** : 327-328, 2009.
- 6) 小若順一. 食べ物の生産現場で使用される抗生物質. In : シンポジウム 耐性菌問題を考える. 東京, 2003.
- 7) Venter JC, Remington K, Heidelberg JF, et al.: Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. *Science* **304** : 66-74, 2004.
- 8) Poirel L, Heritier C and Nordmann P. Genetic and biochemical characterization of the chromosome-encoded class B β -lactamases from *Shewanella livingstonensis* (SLB-1) and *Shewanella frigidimarina* (SFB-1). *J Antimicrob Chemother* **55** : 680-685, 2005.
- 9) Khan NH, Ishii Y, Kimata-Kino N, et al.: Isolation of *Pseudomonas aeruginosa* from open ocean and comparison with freshwater, clinical, and animal isolates. *Microb Ecol* **53** : 173-186, 2007.
- 10) Poirel L, Heritier C and Nordmann P. Chromosome-encoded ambler class D β -lactamase of *Shewanella oneidensis* as a progenitor of carbapenem-hydrolyzing oxacillinase. *Antimicrob Agents Chemother* **48** : 348-351, 2004.

- 11) D'Costa VM, McGrann KM, Hughes DW and Wright GD. Sampling the antibiotic resistome. *Science* **311** : 374-377, 2006.
- 12) Li XZ, Mehrotra M, Ghimire S and Adewoye L. β -Lactam resistance and β -lactamases in bacteria of animal origin. *Vet Microbiol* **121** : 197-214, 2007.
- 13) Kojima A, Ishii Y, Ishihara K, et al.: Extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* strains isolated from farm animals from 1999 to 2002 : report from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program. *Antimicrob Agents Chemother* **49** : 3533-3537, 2005.
- 14) Woodford N, Johnson AP, Morrison D and Speller DC. Current perspectives on glycopeptide resistance. *Clin Microbiol Rev* **8** : 585-615, 1995.
- 15) Castanon JI. History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. *Poult Sci* **86** : 2466-2471, 2007.
- 16) Werner G, Coque TM, Hammerum AM, et al.: Emergence and spread of vancomycin resistance among enterococci in Europe. *Euro Surveill* **13**, 2008.
- 17) Nelson JM, Chiller TM, Powers JH and Angulo FJ. Fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* species and the withdrawal of fluoroquinolones from use in poultry : a public health success story. *Clin Infect Dis* **44** : 977-980, 2007.
- 18) Igimi S, Okada Y, Ishiwa A, et al.: Antimicrobial resistance of *Campylobacter* : prevalence and trends in Japan. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess* **25** : 1080-1083, 2008.
- 19) Carattoli A. Animal reservoirs for extended spectrum β -lactamase producers. *Clin Microbiol Infect* **14** Suppl 1 : 117-123, 2008.
- 20) Warren RE, Ensor VM, O'Neill P, et al.: Imported chicken meat as a potential source of quinolone-resistant *Escherichia coli* producing extended-spectrum β -lactamases in the UK. *J Antimicrob Chemother* **61** : 504-508, 2008.
- 21) Hasman H, Mevius D, Veldman K, Olesen I and Aarestrup FM. beta-Lactamases among extended-spectrum β -lactamase (ESBL) -resistant *Salmonella* from poultry, poultry products and human patients in The Netherlands. *J Antimicrob Chemother* **56** : 115-121, 2005.
- 22) Matsumoto Y, Kitazume H, Yamada M, et al.: CTX-M-14 type β -lactamase producing *Salmonella enterica* serovar Enteritidis isolated from imported chicken meat. *Jpn J Infect Dis* **60** : 236-238, 2007.
- 23) Bertrand S, Weill FX, Cloeckaert A, et al.: Clonal emergence of extended-spectrum β -lactamase (CTX-M-2) -producing *Salmonella enterica* serovar Virchow isolates with reduced susceptibilities to ciprofloxacin among poultry and humans in Belgium and France (2000 to 2003) . *J Clin Microbiol* **44** : 2897-2903, 2006.