

食の安全・安心にかかわる最近の話題 4

食肉に混入する薬剤耐性菌の現状

The present situation for contaminated drug resistant bacteria of the meats

いし い よし かず
石井良和
Yoshikazu ISHII

はじめに

感染症の治療薬開発が進まない状況にある今日、抗菌薬耐性は国際的な問題として認識されている。世界保健機関は、耐性菌の問題を 21 世紀に取り組むべき最優先課題の一つと位置づけている。耐性菌が出現・拡散する原因として、ウイルス感染などの細菌以外の原因微生物による感染症に対する不要な抗菌薬投与や、抗菌薬の不適切使用が関係していると指摘されている。さらに、家畜に対する抗菌薬の使用とヒトから分離される耐性菌との関連性が議論され続けている。

1960 年代の多剤耐性サルモネラ属菌による感染症の問題に対して、Swann が家畜の成長促進物質としての抗菌薬使用が一因である可能性を 1969 年

に指摘した。その中で、ヒトの感染症治療に用いられる抗菌薬を動物の成長促進薬としての使用が禁止されるべきであると結論付けた。初めはイギリスで、その後他のヨーロッパ諸国とカナダでこの勧告が実行に移された。しかし、その後もヒトの感染症治療に使用されていない抗菌薬は、米国やヨーロッパ、日本でも家畜の成長促進薬として使用され続けた。バシトラシン、アポパルシンおよびタイロシンのような狭域スペクトルの抗菌薬は、広域スペクトルのものと比較して腸内細菌叢への影響が小さいことを理由に汎用された。しかし、ヒトの感染症治療に用いられている抗菌薬と類似の化学構造を有する化合物が家畜の成長促進薬として使用されて耐性菌が出現した場合、それらの作用点が同一であることから、食品あるいは食材を介してヒトに健康被害をもたらす可能性が否定できない(表 1)。本稿では、ヒト

表 1 動物からヒトへ、耐性菌伝達について記載された論文の一例

報告年	菌種	宿主動物/肉	患者および症状	抗菌薬耐性	文献
1976	<i>E. coli</i>	鶏(米国)	農場労働者およびその家族	tetracycline	(1)
1984	<i>Salmonella</i> Newport	牛、ひき肉	下痢患者	ampicillin, carbenicillin, tetracycline	(2)
1986	<i>E. coli</i>	病豚(ドイツ)	養豚業者およびその家族、市民、尿路感染症患者	streptothricin	(3)
1991	<i>E. coli</i> および <i>Salmonella enterica</i> serovar Typhimurium	病牛(ベルギー)	入院患者	apramycin, gentamicin	(4)
2000	<i>Enterococcus faecium</i>	豚および鶏(デンマーク)	下痢(入院患者)	vancomycin	(5)
2006	MRSA ST398	豚(オランダ)	養豚業者	methicillin	(6)
2004	<i>S. aureus</i> , <i>Streptococcus</i> spp, Enterobacteriaceae	豚(フランス)	養豚業者	erythromycin, penicillin, nalidixic acid, chloramphenicol, tetracycline, streptomycin, cotrimoxazole	(7)
2007	<i>E. coli</i>	鶏(米国)	養鶏業者	gentamicin	(8)
2007	<i>E. coli</i>	屠殺後の鶏(スペイン)	敗血症(入院患者)	ciprofloxacin	(9)
2009	<i>E. coli</i>	豚および鶏(中国)	農場労働者	apramycin	(10)
2010	MRSA ST398	仔牛(オランダ)	養豚業者	MDR	(11)

から分離される抗菌薬耐性菌と食肉に混入している耐性菌との関連性が議論されている耐性菌について概説する。

I. メチシリン耐性黄色ブドウ球菌

ブドウ球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : MRSA) の β ラクタム系薬耐性は、 β -ラクタム系薬に対して親和性が低いペニシリン結合タンパク質 2a (PBP2a) をコードする遺伝子である *mecA* を保有することによって獲得される。PBP2a の β ラクタム系薬に対する親和性が低いため、その影響を受けず、PBP の主要な機能であるトランスペプチダーゼ活性を失うことがない。その結果、MRSA は β ラクタム系薬の存在下においても細胞壁の合成を続け、増殖することが可能となる。

これまで MRSA は 7 種類の起源株から派生した院内感染の原因微生物として認識されていた。しかし、最近ではさまざまな起源株から出現した MRSA による皮膚軟部組織感染症や壊死性肺炎などが健常人に発症し、その動向が注目されている。さらに、家畜、特に豚に由来する multilocus sequencetyping (MLST) という手法による型別法で、Sequencetype (ST) 398 に分類される MRSA がオランダで発見された⁶⁾。その後、この ST398 という MRSA は世界中に拡散した。特に中国では ST398 を起源とする MRSA は主要クローンである¹²⁾。

当初 *mecA*_{LG251} と命名され、現在では *mecC* と呼ばれている *mecA* 遺伝子のホモログを産生する MRSA は、2007 年、イングランド南西部の農場で採材された原乳から分離された。その後、*mecC* 陽性の MRSA は、家畜のみならず野生動物を含む他の動物種にも拡散し、デンマーク、フランス、オランダ、アイルランド、ドイツ、ベルギー、英国などの国々から報告されている。*mecC* は、従来の *mecA* と 70% の相同性を有しているが、*mecA* 検出用のプライマーでは検出できなかった¹³⁾。これまで *mecC* 陽性の MRSA が食肉に混入したとの報告はないが、(1) ヒトにおける感染がすでに確認されていること、(2) 複数の国々に拡散していること、(3) 複数の動物種の野生動物や家畜から分離されていることなどを考慮すると食肉を介しての感染が発生する可能性があり、今後注視しなければならない耐性菌の一つになると考えられる。

II. バンコマイシン耐性腸球菌

入院患者がバンコマイシン耐性腸球菌 (vancomycin resistant enterococci : VRE) を保菌あるいは感染症の発症は、フランス、イギリス、ベルギー、オランダなどの欧州諸国から報告されている。VRE は、免疫不全宿主における重篤な感染症の原因菌となる。米国では、同一起源の VRE による入院患者の罹患率は高く、VRE による院内アウトブレイク事例が報告されている。米国で VRE の分離頻度が高いことは、病院内におけるバンコマイシン使用量との関連性が指摘されている。対照的に、欧州諸国では散発的な VRE のアウトブレイク事例が報告されているが、VRE 株を保菌する健常人に関する報告が多いことが特徴である。多くの欧州諸国では、アボパルシンというバンコマイシンと同系統の抗菌薬が、家畜の成長促進薬として使用されていた。1995 年にアボパルシンの使用が禁止されて以降、動物からの VRE の分離率が低下したことを示す複数の報告がある。デンマークでは家禽から分離される腸球菌に占める VRE の頻度は、禁止前が 73 ~ 80% であった。しかし、禁止後は 5 ~ 6% に低下したと報告されている。イタリアでは、と殺後の家禽あるいは加工済みの鶏肉から検出される VRE は、1997 年のアボパルシンの使用禁止前の 14.6% から禁止 18 か月後には 8% に減少した。ハンガリーではアボパルシンの使用禁止後、牛、豚および家禽からの VRE の検出頻度が減少したのみならず、バンコマイシンの腸球菌に対する MIC 値にも改善が見られたことが報告されている。

ヒトが保菌する腸球菌もアボパルシン使用禁止後、激減したことがドイツから報告されている。すなわち、1994 年にドイツの健常人が VRE を腸管内に保菌する頻度は 13% であったが、1998 年には 4% に減少した。同様の傾向はベルギーでも認められ、1996 年に 5.7% の健常人が VRE を保菌していたが、2001 年には 0.7% 以下まで減少した。

健常人が保菌する VRE が家禽に伝播したことを示す報告はなく、家禽や鶏肉を汚染する VRE と同一起源の VRE が健常人から分離されたことが示されている。このことから、VRE が健常人に拡散した要因の一つは、汚染された鶏肉に起因すると考え

られている¹⁴⁻¹⁶⁾。

Ⅲ. オキシミノセファロスポリン耐性大腸菌

家畜における ESBL 産生大腸菌の保菌状況に関する調査は諸外国で実施されており、産卵鶏と肉用鶏を含む家禽や豚、家兎、牛などから検出されているが、中でも肉用鶏からの分離頻度が高い。本邦でも Kojima らが、1999～2002年に収集された家畜由来セファゾリン耐性大腸菌の耐性因子を解析したところ、CTX-M-2 あるいは CTX-M-18 の検出頻度が高かった。セファロスポリン系薬は肉用鶏に使用されることはなく、このような抗菌薬に対する耐性菌が分離される理由は不明である¹⁷⁾。

2006～2007年にオランダで健康な鶏(35株)、市販の鶏肉(対象81株:陽性率82.7%)、患者尿および血液由来株(409株)から分離された第三・第四世代セファロスポリン系薬耐性大腸菌を対象に主要な ESBL の遺伝子型、大腸菌の系統、プラスミド型別がそれぞれ検討された。その結果、ヒトから分離された大腸菌は *bla*_{CTX-M-1} を 51 株が、*bla*_{TEM-52} を 14 株が保有しており、この 2 種類は鶏および鶏肉でも主要な ESBL の遺伝子型であった。8 株のヒト由来大腸菌は、Multilocus sequencetype (MLST) により、Sequencetype (ST) 10、ST58 あるいは ST117 であり、鶏あるいは鶏肉から分離された大腸菌と同一であった。さらに、プラスミドの方が IncI1 に属するものは、Clonal Complex (CC) 7、CC3 あるいは CC5 であり、鶏、鶏肉およびヒトにおいて同一であったことが報告された¹⁸⁾。このことは、鶏、鶏肉、ヒトから分離された ESBL 産生大腸菌に関連性があることを強く示唆している。

2008～2009年に同じくオランダで実施された調査でも、鶏肉に混入していた 68 株の ESBL 産生大腸菌(76.4%)とヒトの直腸スワブから得られた 45 株と血液由来 23 株について同様の検討がなされた。その結果、ヒトの直腸スワブと血液から分離された大腸菌が産生する ESBL で優位なのは *bla*_{CTX-M-1} であり、鶏肉に由来するものと同一であった。MLST でも同様の傾向がみられ、ヒトおよび鶏肉、何れにおいても優位な型は ST10、ST155 および ST117 であった。また、ヒトおよび鶏肉から分離された菌株で、Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)

および Pulsed Field Gel Electrophoresis (PFGE) において同一由来株と判定される菌株が存在した^{19, 20)}。1993年から2010年にスペインで分離された *bla*_{CTX-M-9} を保有する、O25b:K1:H4:B2-ST131 *lbeA* 大腸菌に限定した研究では、2007～2010年にヒトから分離された 3 株が鶏肉から分離された 4 株と 90.9% 以上の類似性を示している²¹⁾。これらの結果も先と同様に、ヒトから分離された ESBL 産生大腸菌と鶏肉から分離された菌株の関連性を強く示唆している。

一方、2009年から2011年までスイスで家畜(鶏、牛、豚、羊)およびヒト糞便を対象とした前向きの研究が実施された。前述の研究と同様に ESBL の遺伝子型、MLST、血清型、プラスミド型別などが実施されたが、ヒトと家畜から分離された大腸菌およびプラスミドに関連性がなかったと報告している²²⁾。2009年にイタリアで実施された、保存株を用いた研究でも同様の結果が示されている²³⁾。以上の報告を見ると、ESBL 産生大腸菌に関しては、ヒトと食肉から分離される菌株との関連性は、未だ明確ではないと考えられる。

Ⅳ. 多剤耐性サルモネラ属菌

サルモネラ感染症は、多くの場合は下痢、嘔吐、腹痛、発熱が認められるが自己限定的な感染症である。しかし、米国では毎年 140 万人がサルモネラ属菌に感染し、そのうち約 15,000 人が入院し、500 人以上がサルモネラ感染症により死亡していると推定されている。ヒトの非チフス性サルモネラ感染症はヒト-ヒト感染は稀であり、その主要なリザーバーは家畜である。95% 以上のサルモネラ感染症は、サルモネラ属菌で汚染された肉や乳製品、食品の喫食によって発生している²⁴⁾。フルオロキノロン系薬や第三世代セファロスポリン系薬などの抗菌薬は、ヒトの深刻なサルモネラ感染症の治療薬として使用されている。抗菌薬使用量が増加した結果、抗菌薬に対する耐性が増加したと考えられている。

牛におけるフルオロキノロン耐性 *Salmonella* Typhimurium のアウトブレイクは、それまでフルオロキノロン耐性 *Salmonella* が報告されていなかったベルギーで 1990 年代初期に報告された。この事例で抗菌投与を必要とした重症の下痢の発生の原因となった *S. Typhimurium* は牛のみから分離された。

その後の調査から、1株を除き、他の菌株はすべてファージ型 DT204 に属していた。DT204 株は、1974 年に初めて英国で報告され、牛間で拡散していった。1979 年になると牛から分離される主要クローンは、DT204 から DT204c へと変化した。DT204c は 1980 年末までに子牛におけるサルモネラ症の原因となる主要なファージ型となり、英国で 1991 年まで続いた流行の原因株となった²⁵⁾。

この DT204 あるいは DT204c のフルオロキノロン系薬耐性の原因は、GyrA、GyrB あるいは ParC をコードする遺伝子の複数の変異に伴うアミノ酸置換であることが示されている。例えば、*gyrA* のキノロン耐性決定領域 (quinolone resistance-determining region : QRDR) の変異に伴う、Ser83Ala および Asp87Asn の置換、*gyrB* の QRDR の変異に伴う Ser464Phe および *parC* の QRDR の変異に伴う Ser80Ile の置換が報告されている²⁶⁾。さらに、高度フルオロキノロン耐性 *S. Typhimurium* DT204c は、主要多剤排出システムである AcrAB-TolC が高発現されていると報告されている。多剤排出システムの発現は、1970 年代に分離された *S. Typhimurium* DT204 と比較して、1980 年代に分離された菌株の方が高かった。その原因として、後期に分離された菌株の方が、フルオロキノロン系薬による暴露をより受け易かったことに起因する可能性が指摘されている²⁶⁾。

S. Typhimurium DT204c 株は、*bla*_{TEM} 遺伝子の獲得によりアンピシリンに、*aph* (3')-Ia の獲得でカナマイシンに、*ant* (3'')-Ia の獲得でストレプトマイシンとスペクチノマイシンに、*catA1* の獲得でクロラムフェニコールに、*sul1* の獲得でサルファ剤に、*tet* (B) の獲得でテトラサイクリンに、*dfra* の獲得でトリメトプリムに耐性を示す。さらに、ゲンタマイシンに耐性を示す菌株は、*aac* (3)-IVa を保有している。また、*S. Typhimurium* DT204C 株はエンロフロキサシンに対して 32mg/mL 以上の MIC 値を示し、その原因は DT204 株と同様の *gyrA*、*gyrB* および *parC* のアミノ酸置換変異である²⁷⁾。

1992 年以降、*S. Typhimurium* の主要クローンがそれまでの DT204c から DT104 に置き換わった。興味深いことに典型的な *S. typhimurium* DT104 の、アンピシリン、ストレプトマイシン、サルファ剤、テトラサイクリンおよびクロラムフェニコールの 5 剤耐性パターンは、*S. Agona* で発見された。その後の研究

から、*Salmonella enterica* 間で、*Salmonella* genomic island 1 : SG11 と呼ばれる同一の遺伝子カセットが染色体に挿入された結果、同一の薬剤感受性パターンを示したことが明らかとなった。一方、ブラジルのと殺後の豚からは、広範な抗菌薬に感性的な *S. Agona* と多剤耐性の *S. Agona* が分離された。この多剤耐性は 150 Kbp の接合伝達性プラスミドに存在するインテグロンに挿入された耐性遺伝子が原因であった²⁸⁾。

米国では 5 剤耐性 CMY-2 型のプラスミド性 AmpC を保有する *Salmonella* Newport が出現した。*S. Newport* は、フルオロキノロン系薬には感性を示すが、アンピシリン、ストレプトマイシン、サルファ剤、テトラサイクリン、クロラムフェニコールに加えて広域スペクトルセファロスポリン系薬、ゲンタマイシン、カナマイシン、スルファメトキサゾール/トリメトプリムに耐性を示す。CMY-2 産生多剤耐性 *S. Newport* によるヒトの感染症は、牛肉や豚肉、鶏肉などに由来する食品が関連すると報告されている²⁹⁾。

V. フルオロキノロン系薬耐性 *Campylobacter* spp.

Campylobacter spp. は、日本でも細菌性の食中毒の原因菌として、最も分離頻度が高い。米国では、年間 130 万人が *Campylobacter* spp. に感染し、そのうちの 13,000 人が入院・加療を受けているが、120 人が治療の甲斐なく亡くなっている。薬剤耐性 *Campylobacter* spp. による感染症は 31 万人に上り、Centers for Disease Control and Prevention (CDC) は薬剤耐性 *Campylobacter* spp. を人に対して重大な脅威を与える微生物と位置づけている。多くの急性下痢症患者は治療を必要としないが、重症例に対しては経験的にフルオロキノロン系薬などの抗菌薬が投与される。先に述べたようにヒトから分離される *Campylobacter* spp. の 23% がシプロフロキサシンに耐性を示す。家畜の感染症の治療や成長促進剤として使用されたフルオロキノロン系薬が、下痢患者から分離されるフルオロキノロン系薬耐性 *Campylobacter* spp. の増加に繋がっており、家禽の *Campylobacter* spp. の抗菌薬耐性パターンからヒトから検出される *Campylobacter* spp. の耐性パターンを予測し得ることが示された。この関連性を認識して米国

やデンマーク、オーストラリアなどの多くの国がフルオロキノロン系薬を獣医領域での使用を禁止あるいは制限した。それにより、オーストラリアでは、ブロイラーあるいはヒトから分離されるフルオロキノロン系薬に耐性を示す *Campylobacter* spp. の分離頻度は2.4%および2%と非常に低く、且つ両分離頻度は近似である^{30,31)}。さらに、デンマークの2011年のデータによると、国産および輸入鶏肉から分離される *Campylobacter* spp. はそれぞれ11%と57%であった。さらに、感染症患者から分離された *Campylobacter* spp. の国産鶏肉由来および輸入鶏肉由来フルオロキノロン耐性株の割合はそれぞれ30%と84%と大きく異なっていた³²⁾。スペインではブロイラーから分離される *Campylobacter* spp. の99%がフルオロキノロン耐性であると2000年に報告されている³³⁾。日本ではブロイラーから分離される *Campylobacter jejuni* の55%がナリジクス酸に耐性を示し、獣医領域におけるエンロフロキサシンの使用量の30%がブロイラーに使われていると報告されている³⁴⁾。

ヒトから分離されるフルオロキノロン耐性菌が家禽から検出される *Campylobacter* spp. と関連する可能性があることから、米国の Food and Drug Administration (FDA) は獣医領域におけるエンロフロキサシンの使用を取り消した。米国のみならず他の国々でもフルオロキノロン系薬の使用を禁止したにもかかわらず、フルオロキノロン耐性 *Campylobacter* spp. の検出頻度は下がらなかった³⁵⁾。このことは、*Campylobacter* spp. においてはフルオロキノロン耐性のフィットネスクストが非常に低いことを示唆している。

Campylobacter spp. のフルオロキノロン耐性には主として2つの機序が考えられている。すなわち、標的変化によるフルオロキノロン系薬の結合の喪失と、多剤排出システムによる菌体内濃度の低下である。通常、細菌は細胞複製に必須となる GyrA と GyrB のヘテロ4量体で形成され、DNA ジャイレースと ParC と ParE のヘテロ4量体からなるトポイソメラーゼIVを有するが、フルオロキノロン系薬はこれらの酵素を作用標的とし、その複製、転写を阻害して最終的に細菌を死滅させる。*Campylobacter* spp. は、このうちのトポイソメラーゼIVを有さないため、*Campylobacter* spp. に対するフルオロキノロン系薬に作用標的はDNA ジャイレースのみである(表2)。したがって、*Campylobacter* spp. の GyrA のキノロン耐性決定領域(quinolone resistance-determining region: QRDR)上に生じた Thr86Ile の1アミノ酸残基の置換変異がナリジクス酸とシプロフロキサシンに高度耐性(シプロフロキサシンに対して >16 μ g/mL)を付与する³⁶⁾。これは *E. coli* や *Salmonella* spp. では、QRDR 領域に複数の変異が蓄積することによってフルオロキノロン系薬高度耐性菌株が出現するのと大きく異なる。興味深いことに、*Campylobacter* spp. の QRDR に生じた Thr86Ala の置換変異を有する菌株はナリジクス酸に耐性を示すが、フルオロキノロン系薬には感性である。*Campylobacter* spp. の GyrA における Asp90Asn および Ala70Thr の酸置換変異を有する菌株は、シプロフロキサシンに中等度耐性(6-16 μ g/mL)を示す³⁷⁾。何れにせよフルオロキノロン耐性 *Campylobacter* spp. は、フルオロキノロン系薬を投与することによって、動物でもヒトでも容易に出現すると考えられる。

表2 *Campylobacter* spp. の各種抗菌薬耐性機構

抗菌薬	耐性機構
アミノ配糖体系薬	アミノ配糖体系薬修飾酵素(AphA, AadE, Sat)
β ラクタム系薬	β ラクタマーゼ(ペニシリナーゼ、OXA-61) 陰イオン性および高分子抗菌薬の外膜透過性の低下(主要外膜タンパク質: MOMP) 多剤排出システム CmeABC による排出
フルオロキノロン系薬	DNA gyrase の変異(Thr86Ile, Asp90Asn, Ala70Thr) 多剤排出システム CmeABC による排出
マクロライド系薬	23S rRNA の変異 リボソームタンパク質 L4/L22 の変異 多剤排出システム CmeABC による排出
テトラサイクリン系薬	陰イオン性および高分子抗菌薬の外膜透過性の低下(主要外膜タンパク質: MOMP) リボソームAサイトに対する TetO の結合 多剤排出システム CmeABC による排出 陰イオン性および高分子抗菌薬の外膜透過性の低下(主要外膜タンパク質: MOMP)

Campylobacter spp. の多剤排出システムでフルオロキノロン系薬耐性に関与するものとして CmeABC が知られている。フルオロキノロン系薬に中等度耐性を示す GyrA の変異株に CmeABC の大量発現が加わると高度耐性を示すようになる。低濃度のフルオロキノロン系薬に暴露された菌株は、CmeABC の産生量が増加することが知られている³⁸⁾。

多剤排出システムであると推定される CmeG は、構造上の屢次性のない抗菌薬と酸化剤の両方に耐性を付与する。CmeG の過剰発現株は、その親株と比較してシプロフロキサシンの MIC 値が 8 ~ 32 倍に上昇したことが報告されている³⁹⁾。興味深いことに、フルオロキノロン系薬を使用していない養鶏場でもフルオロキノロン耐性 *Campylobacter* spp. が検出されている⁴⁰⁾。これは、別の抗菌薬が *Campylobacter* spp. のフルオロキノロン耐性株を選択したことが示唆される。その耐性化に CmeABC 排出システムや別の機構が介在した可能性はあるが、現時点では明確にされていない。

VI. *Clostridium difficile*

Clostridium difficile は、経口摂取した芽胞が腸管で出芽して増殖し、産生された毒素によって直接あるいは間接的に下痢症、偽膜性腸炎、中毒性巨大結腸症、腸穿孔などが引き起こされる。芽胞は熱、酸、消毒薬、抗菌薬、乾燥環境などに抵抗する。以前、*C. difficile* による偽膜性大腸炎の患者の 95% 以上にクリンダマイシンが投与されていたことから、*C. difficile* 感染症はクリンダマイシンの投与が原因だと考えられていた⁴¹⁾。確かにクリンダマイシンの投与が偽膜性腸炎の一因ではあるが、現在では腸内細菌叢を攪乱するすべての抗菌薬が偽膜性腸炎の素因となることが明らかになっている。*C. difficile* 感染症は抗菌薬を投与されたことが原因の下痢症例の 30% に見られ、その治療の第一選択薬であるメトロニダゾールやバンコマイシンの投与後に発症することもある。

C. difficile はヒト-ヒト感染も報告されているが、多くの場合は食品を介して感染する。*C. difficile* はヒトやラクダ、馬、ロバ、犬、猫、鳥類、豚、鶏、牛、鹿などの野生動物、野菜、肉、海水、海底の堆積物、土壌、砂礫、淡水、河川、汽水域、病院設備、排水などから分離されている。畜産肥料や肉を介した *C.*

difficile 感染症にも注意が必要である。しかし、若い家禽、牛、豚は高齢の動物と比較して *C. difficile* の腸管保菌率が高いことに留意すべきである。若い家禽 60% 以上が *C. difficile* を保菌しているのに対して、食肉処理時には 6 ~ 12% 程度にまで減少すると報告されている⁴²⁾。

2000 年以降、毒素産生能が野生株の 20 倍に上昇した強毒性の *C. difficile* による重症例が報告されるようになった。この *C. difficile* は、食用動物および販売されている肉からも検出された。PCR リボタイプで 078 に分類される菌株は、現在、米国とカナダの食品汚染菌として分離頻度が高い⁴³⁾。

2006 年以降、ヒトでの疾患の原因となる *C. difficile* の毒素産生株は、調査対象とした小売店の約 20% の挽肉から検出された⁴⁴⁾。報告されている包装された肉から *C. difficile* が分離される頻度には幅があるが、7% 未満である。カナダの 3 州で行われた調査では、6% の肉から *C. difficile* が検出されている。鶏肉の毒素産生 *C. difficile* による汚染頻度は、鶏肉の部位によって異なるが 3 ~ 18% であると報告されている^{45, 46)}。

おわりに

これまでにヒトから分離される抗菌薬耐性菌が家畜や食肉に由来することを示す研究結果が多数報告されている。農畜水産物の生産現場で使用される抗菌性物質がヒトの医療現場で使用される量を凌駕しているのは事実である。そのような背景から、農畜水産分野では抗菌性物質の使用を控えるべきであるとの意見がある。一方、経済動物という側面から家畜を捉えると、その生産性が下がらないように抗菌性物質を使用することは、安定して食料を供給するためには致し方ないとの意見もある。例えば抗菌性物質を動物に使わなくなったとしても、フルオロキノロン耐性 *Campylobacter* spp. のようにヒトの健康に対して、食品に混入する耐性菌の影響がなくなることはないと考えられる。しかし、家畜の生産性を維持しながら、耐性菌の影響がヒトに対して可能な限り及ばないようにするための努力が必要である。その為には、医学、獣医学、農学、水産学などの領域を超えた協力関係の確立が重要であると考えている。

文 献

- 1) Levy SB, et al. Changes in intestinal flora of farm personnel after introduction of a tetracycline-supplemented feed on a farm. *N Engl J Med.* 1976 ; **295** : 583-588.
- 2) Holmberg SD, et al. Drug-resistant *Salmonella* from animals fed antimicrobials. *N Engl J Med.* 1984 ; **311** : 617-622.
- 3) Hummel R, et. al. Spread of plasmid-mediated nourseothricin resistance due to antibiotic use in animal husbandry. *J Basic Microbiol.* 1986 ; **26** : 461-466.
- 4) Chaslus-Dancla, E., et al. High genetic homology between plasmids of human and animal origins conferring resistance to the aminoglycosides gentamicin and apramycin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1991 ; **35** : 590-593.
- 5) Hammerum AM, et al. Characterization of vancomycin-resistant and vancomycin-susceptible *Enterococcus faecium* isolates from humans, chickens and pigs by Ribotyping and pulsed-field gel electrophoresis. *J Antimicrob Chemother.* 2000 ; **45** : 677-680.
- 6) Huijsdens XW, et. al. Community-acquired MRSA and pig-farming. *Ann Clin Microbiol Antimicrob.* 2006 ; **5** : 26.
- 7) Aubry-Damon, H, et al. Antimicrobial resistance in commensal flora of pig farmers. *Emerg Infect Dis.* 2004 ; **10** : 873-879.
- 8) Price LB, et al. Elevated risk of carrying gentamicin-resistant *Escherichia coli* among U.S. poultry workers. *Environ. Health Perspec.* 2007 ; **115** : 1738-1742
- 9) Johnson JR, et al. Antimicrobial drug-resistant *Escherichia coli* from humans and poultry products, Minnesota and Wisconsin, 2002-2004. *Emerg Infect Dis.* 2007 ; **13** : 838-846.
- 10) Zhang, XY, et al. Resistance patterns and detection of *aac(3)-IV* gene in apramycin-resistant *Escherichia coli* isolated from farm animals and farm workers in northeastern of China. *Res Vet Sci.* 2009 ; **87** : 449-454.
- 11) Graveland H., et al. Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in veal calf farming : human MRSA carriage related with animal antimicrobial usage and farm hygiene. *PLoS One.* 2010 ; **5** : e10990.
- 12) Cui S, et al. Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from swine and workers in China. *J Antimicrob Chemother.* 2009 ; **64** : 680-683.
- 13) Pantosti A. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* associated with animals and its relevance to human health. *Front Microbiol.* 2012 ; **3** : 127.
- 14) Woodford, N. Glycopeptide-resistant enterococci : a decade of experience. *J Med Microbiol.* 1998 ; **47** : 849-862.
- 15) Hammerum M. Enterococci of animal origin and their significance for public health. *Clin Microbiol Infect.* 2012 ; **18** : 619-625.
- 16) Pesavento G, et al. Prevalence and antibiotic resistance of *Enterococcus* spp. isolated from retail cheese, ready-to-eat salads, ham, and raw meat. *Food Microbiol.* 2014 ; **41** : 1-7.
- 17) Kojima A., et al. Extended-spectrum-beta-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.* 2005 ; **49** : 3533-3537.
- 18) Leverstein-van Hall MA, et al. Dutch patients, retail chicken meat and poultry share the same ESBL genes, plasmids and strains. *Clin Microbiol Infect.* 2011 ; **17** : 873-880.
- 19) Overdeest I, et al. Extended-spectrum β -lactamase genes of *Escherichia coli* in chicken meat and humans, the Netherlands. *Emerg Infect Dis.* 2011 ; **17** : 1216-1222.
- 20) Cortés P, et al. Isolation and characterization of potentially pathogenic antimicrobial-resistant *Escherichia coli* strains from chicken and pig farms in Spain. *Appl Environ Microbiol.* 2010 ; **76** : 2799-2805.
- 21) Mora A, et al. Recent emergence of clonal group O25b:K1:H4-B2-ST131 *ibeA* strains among *Escherichia coli* poultry isolates, including CTX-M-9-producing strains, and comparison with clinical human isolates. *Appl Environ Microbiol.* 2010 ; **76** : 6991-6997.
- 22) Wang J, et al. Molecular characterization of bla ESBL-harboring conjugative plasmids identified in multi-drug resistant *Escherichia coli* isolated from food-producing animals and healthy humans. *Front Microbiol.* 2013 ; **4** : 188.
- 23) Accogli M, et al. IncI1 plasmids associated with the spread of CMY-2, CTX-M-1 and SHV-12 in *Escherichia coli* of animal and human origin. *Clin Microbiol Infect.* 2013 ; **19** : 238-240.
- 24) P.S. Mead, et al. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis.* 1999 ; **5** : 607-625.
- 25) Wray C, et al. Jones, The epidemiology of *Salmonella* Typhimurium in cattle : plasmid profile analysis of definitive phage type (DT) 204c. *J. Med. Microbiol.* 1998 ; **47** : 483-487.
- 26) Baucheron S., et al. The AcrB multidrug transporter plays a major role in high-level fluoroquinolone resistance in *Salmonella enterica* serovar Typhimurium phage type DT204. *Microb. Drug Resist.* 2002 ; **8** : 281-289.
- 27) Frech, G. et al. Resistance phenotypes and genotypes of multiresistant *Salmonella enterica* subsp. *Enterica* serovar Typhimurium var. Copenhagen isolates from animal sources. *J. Antimicrob. Chemother.* 2003 ; **51** : 180-182.
- 28) Boyd D, et al. Complete nucleotide sequence of a 43-kilobase genomic island associated with the multidrug resistance region of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium DT104 and its identification in phage type DT120 and serovar Agona. *J Bacteriol.* 2001 ; **183** : 5725-5732.
- 29) Zhao S, et al. Characterization of *Salmonella enterica* serotype Newport isolated from humans and food animals. *J. Clin. Microbiol.* 2003 ; **41** : 5366-5371.
- 30) Eurosurveillance editorial team. The European Union summary report on trends and sources of zoonosis, zoo-

- notic agents and food-borne outbreaks in 2010. Euro Surveill. 2012 ; **17** : 20113.
- 31) EFSA. The Community Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from animals and food in the European Union in 2008. Eur Food Safety Auth J. 2010 ; **8** : 1658-1919.
 - 32) DANMAP. 2011. Use of antimicrobial agents and occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from food animals, food and humans in Denmark. In : The Danish Integrated Antimicrobial Resistance Monitoring and Research Programme ; 2012.
 - 33) Sáenz Y, et al. Antibiotic resistance in *Campylobacter* strains isolated from animals, foods, and humans in Spain in 1997-1998. Antimicrob Agents Chemother. 2000 ; **44** : 267-271.
 - 34) Haruna M, et al. Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Campylobacter* in broiler flocks in Japan. Zoonoses Public Health. 2012 ; **59** : 241-245.
 - 35) National Antimicrobial Resistance Monitoring System for Enteric Bacteria (NARMS). Human Isolates Final Report, 2010. U.S. Department of Health and Human Services, CDC, 2012. (Accessed at <http://www.cdc.gov/narms/reports.htm>.)
 - 36) Gootz TD, Martin BA. Characterization of high-level quinolone resistance in *Campylobacter jejuni*. Antimicrob Agents Chemother. 1991 ; **35** : 840-845.
 - 37) Wang Y, et al. Cloning and nucleotide sequence of the *Campylobacter jejuni gyrA* gene and characterization of quinolone resistance mutations. Antimicrob Agents Chemother. 1993 ; **37** : 457-463.
 - 38) Yan M, et al. Role of the CmeABC efflux pump in the emergence of fluoroquinolone-resistant *Campylobacter* under selection pressure. J Antimicrob Chemother. 2006 ; **58** : 1154-1159.
 - 39) Jeon B, et al. Contribution of CmeG to antibiotic and oxidative stress resistance in *Campylobacter jejuni*. J Antimicrob Chemother. 2011 ; **66** : 79-85.
 - 40) Asai T, et al. Association of antimicrobial resistance in *Campylobacter* isolated from food-producing animals with antimicrobial use on farms. Jpn J Infect Dis. 2007 ; **60** : 290-294.
 - 41) Tadesco FJ, et al. Diagnostic features of clindamycin-associated pseudomembranous colitis. N Engl J Med. 1971 ; **290** : 841-843.
 - 42) Zidaric V, et al. High diversity of *Clostridium difficile* genotypes isolated from a single poultry farm producing replacement laying hens. Anaerobe. 2008 ; **14** : 325-327.
 - 43) Ackerlund T, et al. Increased sporulation rate of epidemic *Clostridium difficile* type 027/NAP1. J Clin Microbiol. 2008 ; **46** : 1530-1533.
 - 44) Rodriguez-Palacios A, et al. *Clostridium difficile* in retail ground meat in Canada. Emerg Infect Dis. 2007 ; **13** : 485-487.
 - 45) Weese JS, et al. Detection and characterization of *Clostridium difficile* in retail chicken. Lett Appl Microbiol. 2010 ; **50** : 362-365.
 - 46) Harvey RB, et al. *Clostridium difficile* in poultry and poultry meat. Emerg Infect Dis. 2011 ; **8** : 1321-1323.