

収去食品からの第三世代セフェム系及びカルバペネム系 薬剤耐性大腸菌群の検出状況

植松香星 柳本恵太 中田陽子 山上隆也

Detection of Coliforms Resistant to Third-Generation Cephems and Carbapenems
in take out by Law gathering Foods in Yamanashi prefecture

Kosei UEMATSU, Keita YANAGIMOTO, Yoko NAKADA and Takaya YAMAGAMI

キーワード：第三世代セフェム系薬剤耐性、AmpC β-ラクタマーゼ、収去食品

近年、抗菌薬の普及に伴って、病原体が抗菌薬に対する耐性を獲得し、感染症の治療が困難になるなど薬剤耐性菌の増加やまん延が世界的な問題となっている。2016年4月、国は「薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプラン (2016-2020)」を策定し、ヒト・動物・食品及び環境から検出される薬剤耐性菌に関して総合的に動向調査と監視を行う「薬剤耐性ワンヘルス動向調査」¹⁾を実施している。

このような状況の中、国内での食品の薬剤耐性菌汚染調査はこれまでに、食肉等を中心に *Salmonella* 属、*Campylobacter* 属などの食中毒起因菌の薬剤耐性状況が報告されているが^{2, 3)}、それ以外の一般食品を対象とした調査は少ない。

そこで今回、山梨県内で流通する一般食品における薬剤耐性菌の汚染状況を把握するため、収去食品から検出された大腸菌群について AmpC β-ラクタマーゼ (AmpC) 産生菌、基質特異性拡張型 β-ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌及びカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) の検索を行った。

調査方法

1 調査対象期間及び食品

2017年4月から2018年3月の期間において、県内の食品製造業者及び食品販売店から福祉保健部衛生薬務課広域衛生監視指導担当及び各保健所が収去した食品1,652検体を対象とした。内訳は加熱そうざい381検体、弁当類179検体、生めん類132検体、清涼飲料水121検体、ミネラルウォーター111検体、和生菓子110検体、非加熱そうざい103検体、アイスクリーム類83検体、洋生菓子80検体及び食肉製品38検体、その他314検体である。その他の対象食品は生食用カキ、魚肉練り製品、牛乳、乳飲料、発酵乳、氷菓、氷雪、豆腐 (包装豆腐を含み無菌充填豆腐を除く)、一夜漬け、カット野菜、冷凍食品、その他の菓子、合成樹脂製容器包装食品、馬刺し、

表1 調査対象食品

品 目	検体数
そうざい (加熱処理)	381
弁当類	179
生めん類	132
清涼飲料水	121
ミネラルウォーター	111
和生菓子	110
そうざい (非加熱処理)	103
アイスクリーム類	83
洋生菓子	80
食肉製品	38
その他	314
合 計	1,652

調理パン及びアイスクリーム類似食品である (表1)。

2 大腸菌群の検査方法

生食用カキ、魚肉ねり製品、食肉製品、牛乳、乳飲料、発酵乳、アイスクリーム類、氷菓、氷雪、冷凍食品、ミネラルウォーター及び清涼飲料水は、「食品、添加物等の規格基準」及び「乳及び乳製品の成分規格等に関する省令」で示された検査方法⁴⁾、馬刺しは厚生労働省の通知⁵⁾に基づく方法で実施した。また、生めん類、加熱そうざい、一夜漬け及び洋生菓子は、それぞれの衛生規範の検査方法⁴⁾、非加熱そうざい、弁当類、豆腐、カット野菜、和生菓子、その他の菓子、調理パン、合成樹脂製容器包装詰食品及びアイスクリーム類似食品は、「山梨県食品の指導基準の検査方法」⁶⁾により実施した。

なお、E. coli 検査法により検出された株は、大腸菌群として扱った。また、大腸菌群と判定した菌株は、Api20E (シスメックス・ビオメリユー (株)) を用いて菌種を同定した。

3 薬剤耐性検査方法

AmpC 陽性菌の検査方法は、F. Javier Pérez- Pérez ら

の PCR⁷⁾ によりスクリーニングを行い、陽性株については、ABPC 及び CMZ ディスク (日本ベクトン・ディッキンソン以下、「日本 BD」) を用いてポロン酸により AmpC の阻害を認められる株を AmpC 陽性菌と判定した。

また、ESBL 産生菌の検査方法は、シカジーニウス ESBL 遺伝子型検出キット (関東化学) を用い、陽性株については、CTX 及び CAZ ディスク (日本 BD) を用いて薬剤感受性を確認し、クラブラン酸により ESBL 阻害が認められた株を ESBL 陽性株と判定した。

さらに、CRE は IPM、MEPM 及び CAZ のディスク (日本 BD) を用いてのスクリーニングを行った。

結 果

調査対象検体 1,652 検体から *Klebsiella* 属及び *Enterobacter* 属等 48 株の大腸菌群を検出し、全ての株について耐性菌の検索を実施した。

AmpC 陽性菌は 5 検体から 5 株検出され、全て EBC 型であった。菌種は 5 株のうち 4 株が *E. cloacae* であり、1 株が *E. asburiae* であった。薬剤耐性菌が検出された食品は、アイスクリーム類が 3 検体、シュークリーム 1 検体及び焼き団子 1 検体であった (表 2)。

シカジーニウス ESBL 遺伝子型検出キットによる ESBL のスクリーニング PCR の結果は、大腸菌群 48 株のうち、11 株が SHV 型であったが、全ての株が CTX 及び CAZ で感受性であり、クラブラン酸による阻害が認められなかったことから ESBL でないと判断した。

CRE の検索では大腸菌群 48 株すべて IPM、MEPM 及び CAZ に感受性であり、CRE は検出されなかった。

考 察

今回の調査において、加熱による制御が困難であるアイスクリーム類、シュークリーム及び焼き団子から AmpC 陽性の *Enterobacter* 属が検出され、県内に流通する一般食品において AmpC 陽性の耐性菌が存在することが明らかになった。本調査では薬剤耐性菌が検出された食品の種類に偏りがみられているが、その理由は、検出方法が異なることも考えられたが、不明である。加藤ら⁹⁾ の報告によると、そうざいや和生菓子からも検出されており、中村ら¹⁰⁾ の報告でも AmpC 陽性の *Enterobacter* 属が検出されていることから、食品中に広く存在することが示唆される。

AmpC 遺伝子は、*Enterobacter* 属、*Citrobacter* 属、*Morganella morganii*、*Hafnia alvei* 等の特定の染色体上に認められるという報告があることから^{7,8)}、本調査

で検出した AmpC 陽性 5 株は、染色体上に AmpC 遺伝子が存在すると推定される。また、これらの染色体遺伝子に由来するプラスミド遺伝子を保有する菌が、臨床検体から検出され問題となっている⁸⁾。ヒトと食品由来株の関連性が考えられることから両菌株間の遺伝的な相違について興味があるところである。

ESBL の PCR によるスクリーニングにおいて SHV が陽性となり、CTX 及び CAZ に感受性であった株については、ESBL 遺伝子の変異型なのか薬剤耐性に関係ない DNA なのかは不明であるが、機会があれば解明していきたい。

今後も食品における薬剤耐性状況を注視しながら、本調査結果を新たな食品中の耐性菌調査等に活用していきたいと考える。

参考文献

- 1) 浅井鉄夫ら：薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書、(2018)、(薬剤耐性ワンヘルス動向調査検討会)
- 2) 小野一晃：市販鶏肉のカンピロバクター及びサルモネラ汚染状況と分離株の薬剤感受性、日獣会誌、**67**, 442-448 (2014)
- 3) 佐藤拓弥、藤岡美幸：青森県内における市販食肉の *Campylobacter* 汚染状況および分離菌株の薬剤感受性、日本食品微生物学会誌、**35**, 36-40 (2018)
- 4) 食品衛生研究会：食品衛生小六法、2019 年版、新日本法規 (2019)
- 5) 厚生省生活衛生局乳肉衛生課長：生食用食肉等の安全性確保について、平成 10 年 9 月 11 日、衛乳第 221 号
- 6) 山梨県厚生部長：「山梨県食品の指導基準」の設定について、平成 2 年 3 月 26 日、環第 3-56 号
- 7) F. Javier Pérez-Pérez and Nancy D. Hanson : Detection of Plasmid-Mediated AmpC β -Lactamase Genes in Clinical Isolates by Using Multiplex PCR, J. Clin. Microbiol., **40**, 2153-2162 (2002)
- 8) 山崎勝利ら：2011 年に臨床材料から分離したプラスミド性 AmpC β -lactamase 産生腸内細菌の調査、日本臨床微生物学雑誌、**23**, 194-202 (2013)
- 9) 加藤玲ら：市販食品からの第三世代セフェム系およびカルバペネム系薬剤耐性大腸菌群の検出 (2014 年～2015 年)、東京都健康安全研究センター年報、**67**, 113-119 (2016)
- 10) 中村寛海ら：食品あるいはその製造環境から分離されたグラム陰性桿菌の薬剤耐性状況、日本食品微生物学会雑誌、**33**, 61-68 (2016)

表2 耐性菌分離状況

由 来	検体数	菌 名	β -ラクタマーゼの種類	菌株数
ソフトクリーム	2	<i>Enterobacter cloacae</i>	AmpC型 β -ラクタマーゼ	2
シュークリーム	1	<i>Enterobacter cloacae</i>	AmpC型 β -ラクタマーゼ	1
焼き団子	1	<i>Enterobacter cloacae</i>	AmpC型 β -ラクタマーゼ	1
ソフトクリーム	1	<i>Enterobacter asburiae</i>	AmpC型 β -ラクタマーゼ	1
合 計	5			5