

牛、豚、鶏、と畜・食鳥処理従事者からの ESBL 及び AmpC 産生大腸菌の検出

愛媛県食肉衛生検査センター ○藤江香予、河瀬智子、山本真司
愛媛県立衛生環境研究所 木村俊也

はじめに

近年、ヒトや食品等の周辺環境から分離される大腸菌やサルモネラなどの食中毒起因菌の中で、第三代セファロスポリン系などのβ-ラクタム剤に対しても高度耐性を示す基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ(以下「ESBL」という。)産生菌やAmpC型β-ラクタマーゼ(以下「AmpC」という。)産生菌の増加が、院内感染原因菌としても市中感染原因菌としても深刻な問題となっている。これらの菌は、国内外で肉用鶏の腸管内容物や市販鶏肉からの分離が報告¹⁾²⁾³⁾されており、家畜から畜産物、特に食肉を介してヒトへ伝播・拡散する危険性が指摘されている。この薬剤耐性の問題はグローバル化しており、WHOにおいても2015年総会でグローバルアクションプランを提案し、各国に5年間の耐性菌対策の行動計画を作成させ、その中で家畜-食品-ヒトで分離される耐性菌の発生状況の調査・報告を求めた。そこで、管内と畜場及び食鳥処理場に搬入された牛、豚、鶏の腸管内容物に加え、これまで報告事例のないと畜・食鳥処理従事者からのESBL産生大腸菌及びAmpC産生大腸菌の検出並びにESBL遺伝子の検出を試みたので、その結果について報告する。

材料及び方法

2015年1月から7月に管内と畜場及び食鳥処理場に搬入された肉用牛52頭(11農場)、病牛50頭、肉用豚50頭(5農場)、肉用鶏55羽(6農場)、卵用鶏10羽(1農場)の腸管内容物並びにと畜従事者14人、食鳥処理従事者18人の便を供試した。

検査方法は、CTX(セフトキシム)を6.4 mg/L添加したDHL寒天培地⁴⁾に検体を直接塗布し37±1℃で24時間培養後、平板上の赤色コロニーを2~3個ずつ釣菌し生化学的性状により大腸菌の同定を行った。次に、CTX、CAZ(セフトジジム)、CMZ(セフトメタゾール)、CMN(セフトミノクス)ディスクを用いて薬剤感受性を調べ、中間あるいは耐性を示した株でディスク拡散法によるESBL、AmpC産生のスクリーニング検査を行った。ESBL産生確認はCTX及びCAZとACV(アモキシシリン/クラブラン酸)、S/A(スルバクタム/アンピシリン)を用い、クラブラン酸・スルバクタムによるESBL阻害効果が認められた株をESBL産生大腸菌と判定した。また、AmpC産生確認はCMZ及びCMN、アミノフェニルボロン酸を添加したCMZ及びCMNディスクを用いて、ボロン酸によるAmpC阻害効果が認められた株をAmpC産生大腸菌と判定した。

分離されたESBL産生大腸菌はPCR法により、CTX-M-1、2、9Group(以下「G」という。)に特異的なプライマーを用いてESBL遺伝子の検出を行った。

成績

(1) ESBL 産生大腸菌及び AmpC 産生大腸菌の検出状況

ESBL 産生大腸菌は、肉用牛 52 検体中 2 検体 (3.8%)、病牛 50 検体中 4 検体 (8.0%)、肉用鶏 55 検体中 24 検体 (43.6%) が陽性で、肉用豚は 50 検体すべて陰性であった。と畜従事者は 14 検体中 1 検体 (7.1%)、食鳥処理従事者は 18 検体中 3 検体 (16.7%) が陽性であった (表 1)。AmpC 産生大腸菌は卵用鶏 10 検体中 1 検体 (10.0%) から検出された。

また、肉用鶏 6 養鶏場中 5 養鶏場から ESBL 産生大腸菌が検出され、養鶏場別では、A・C 養鶏場は 10 検体中 4 検体 (40.0%)、B 養鶏場は 5 検体中 3 検体 (60.0%)、D 養鶏場は 10 検体中 10 検体 (100.0%)、F 養鶏場は 10 検体中 3 検体 (30.0%) が陽性で、E 養鶏場は 10 検体すべて陰性であった (表 2)。

表 1 ESBL 産生大腸菌の検出状況

区 分	検体数	陽性数	陽性率
肉用牛	52	2	3.8%
病 牛	50	4	8.0%
肉用豚	50	0	0.0%
肉用鶏	55	24	43.6%
卵用鶏	10	0	0.0%
※ただし、AmpC 1 検体陽性			
と畜従事者	14	1	7.1%
食鳥処理従事者	18	3	16.7%

表 2 養鶏場別 ESBL 産生大腸菌の検出状況

養鶏場	検体数	陽性数	陽性率
A	10	4	40.0%
B	5	3	60.0%
C	10	4	40.0%
D	10	10	100.0%
E	10	0	0.0%
F	10	3	30.0%

(2) ESBL 産生大腸菌の遺伝子型別

ESBL 産生大腸菌の遺伝子型別は、肉用牛は 2 検体すべて CTX-M-1G、病牛は CTX-M-1G が 1 検体、CTX-M-2G が 2 検体、CTX-M-1/9G が 1 検体であった。肉用鶏は CTX-M-1G が 8 検体、CTX-M-2G が 8 検体、CTX-M-9G が 8 検体であった。と畜従事者は CTX-M-9G が 1 検体、食鳥処理従事者は CTX-M-1G が 1 検体、CTX-M-9G が 2 検体であった (表 3)。また、養鶏場別では、A・C 養鶏場は 4 検体すべて CTX-M-2G、B 養鶏場は CTX-M-1G が 1 検体、CTX-M-9G が 2 検体、D 養鶏場は CTX-M-1G が 7 検体、CTX-M-9G が 3 検体、F 養鶏場は 3 検体すべて CTX-M-9G であった (表 4)。

表 3 ESBL 産生大腸菌の遺伝子型別

区分	CTX-M-1	CTX-M-2	CTX-M-9	CTX-M-1/9
肉用牛	2			
病牛	1	2		1
肉用鶏	8	8	8	
と畜従事者			1	
食鳥処理従事者	1		2	

表 4 養鶏場別 ESBL 産生大腸菌遺伝子型

養鶏場	CTX-M-1	CTX-M-2	CTX-M-9
A		4	
B	1		2
C		4	
D	7		3
F			3

考察

2012年3月に農林水産省の指導により養鶏農家がふ化場におけるワクチンへのセフトオフィンの使用を自粛してから、急速に鶏由来の大腸菌のセファロスポリン(β -ラクタム剤)耐性率が低下してきたとの報告がある⁵⁾。しかし、今回の調査ではESBL産生大腸菌が肉用鶏の腸管内容物から43.6%と高率に検出され、検出率が100%の養鶏場も1農場存在し、同じ遺伝子型のみが検出された養鶏場が3農場あった。また、これまで報告の少ない卵用鶏からもAmpC産生大腸菌が検出された。このことから、未だESBL産生大腸菌やAmpC産生大腸菌が飼育環境中に広く拡散されていると考えられた。牛においても、肉用牛から3.8%、病牛から8.0%のESBL産生大腸菌が検出された。抗菌薬を用法用量に準拠して投与しても耐性菌が出現することが報告されており⁵⁾、耐性菌の出現を最小化する投与等を再考する必要がある。

また、健康な人の糞便からのESBL産生大腸菌検出率は約4~7%⁵⁾⁶⁾と報告されているが、本調査の食鳥処理従事者便からの検出率は16.7%と高く、それら遺伝子型も肉用鶏と同じ型が検出された。このことから、食鳥処理工程における鶏からヒトへの伝播が示唆され、さらには、一般消費者による食肉の生食や不衛生な取扱いによる食品-ヒトへの伝播の危険性も十分に考えられた。ESBL遺伝子はプラスミド上にあり、菌株・菌種を超えて移行する特性を持っている⁷⁾。そのため、その耐性遺伝子が腸内細菌科の他の菌種に移行することで重大なリスクとなる恐れがあり、対策が必要である。

まとめ

本調査でESBL産生大腸菌が肉用鶏から43.6%、肉用牛から3.8%、病牛から8.0%、と畜従事者から7.1%、食鳥処理従事者から16.7%検出された。結果を生産現場や畜産部局にフィードバックするとともに、と畜場・食鳥処理場での対策として、従来の食中毒防止に加え、耐性遺伝子の伝播・拡散防止のため、さらには従事者の安全のためにも、と畜場及び食鳥処理場へのHACCP導入を勧め、より一層の衛生対策を加速させていきたい。また、処理場内でのヒトへの伝播や養鶏場内での環境中の汚染実態についてより詳細に検討するため、今後、シーケンス解析を実施することとしている。

1) 下島優香子 他：東京都健康安全研究センター研究年報，62，145-150（2011）

2) 麻生嶋七美 他：日本食品微生物学会雑誌，29，215-220（2012）

3) 森田幸 他：医学検査，63，294-299（2014）

4) 石畝史 他：動物用抗菌薬研究会報，34，33-39（2012）

5) 田村豊：モダンメディア，61，161-168（2015）

6) 北尾孝司 他：医学検査，62，407-412（2013）

7) Christine K *et al.* : Antimicrob Agents Chemother, 28, 302-307 (1985)