

鶏大腸菌症から分離された基質特異性拡張型βラクタマーゼ産生 大腸菌の性状について

千葉県東総食肉衛生検査所 ○坂倉 佳佑、岡田 峰幸

はじめに

近年、ペニシリンから第三、第四世代セフェム系まで広い範囲のβラクタム系抗生物質を分解する基質特異性拡張型βラクタマーゼ（以下、「ESBL」という。）産生能を獲得した大腸菌や肺炎桿菌が院内感染症の原因菌として分離されている。ESBL産生菌はヒトの院内感染症の原因菌としてだけでなく、食用家畜の糞便からも分離されている。とくに肉用鶏からの分離率が高いことから、鶏肉を介したヒトへの伝播の可能性が指摘され、現在、肉用鶏糞便由来株についての疫学的解析が進められている[1]。しかしそのほとんどが健康鶏由来株を対象としており、病鶏由来株について調べた報告は少ない。そこで今回、肉用鶏の主要細菌性疾病である大腸菌症に罹患した鶏からESBL産生大腸菌の分離を試み、その性状に関する調査を行った。その結果をまとめたところ、若干の知見が得られたので報告する。

材料及び方法

材料：平成23年9月から11月に当所管内食鳥処理場において肉眼所見から大腸菌症と判定され全部廃棄処分となった肉用鶏32羽の心臓、肝臓及び脾臓を材料とした。対象鶏の搬入農場は7農場、搬入日齢は48日から56日齢であった。

大腸菌分離及び血清型別：各臓器実質部をクロモカルトコリフォーム寒天培地（メルク）に直接スタンプし、37℃24時間培養した。大腸菌を疑うコロニーについて生化学的性状により同定を行った。O抗原血清型別は病原性大腸菌免疫血清（デンカ生検）を用いて行った。

薬剤感受性試験：センシ・ディスク（ベクトン・ディッキソン）を用いアンピシリン（ABPC）、セファロチン（CET）、セフポドキシム（CPDX）、セフトラジジム（CAZ）、セフトラキジム（CTX）、セフトリアキソン（CTRX）、アズトレオナム（AZM）、イミペネム（IPM）、テトラサイクリン（TC）、ナリジクス酸（NA）、ノルフロキサシン（NFLX）、ストレプトマイシン（SM）、ST合剤（STX）及びコリスチン（CL）に対する感受性試験を行った。結果は臨床検

査標準協会 (Clinical and Laboratory Standards Institute : CLSI) が示すブレイクポイントに基づき判定した。

ESBL 産生性確認及び遺伝子群別 : PCR 法 [2, 3] により TEM 型、SHV 型及び CTX-M 型 ESBL 遺伝子の検出を行った。いずれかの ESBL 遺伝子が検出された株を用いて、ダブルディスク法 (Double disk synergy test : DDST) により ESBL 産生性の確認を行った。ESBL 産生株は PCR 法 [2] を用いた遺伝子群別により、CTX-M-1 群、CTX-M-2 群、CTX-M-9 群及び CTX-M-8/-25 群に分類した。

成績

肉眼所見から大腸菌症と判定された 32 羽中 29 羽から大腸菌が分離された。各臓器から計 35 株の大腸菌が分離され、うち 26 株を対象に解析を行った。対象株の血清型は 018 が 3 株、06、025、0125、0111 及び 0157 が各 1 株、OUT が 18 株であった。0111 及び 0157 株はいずれも一般的な腸管出血性大腸菌株とは性状が異なっており、VT 遺伝子も検出されなかった。解析を行った 26 株中 15 株から CTX-M 型遺伝子、2 株から TEM 型遺伝子が検出された。DDST の結果と併せて CTX-M 型遺伝子が検出された 15 株を ESBL 産生株と判定した。遺伝子群別では、CTX-M-2 群と CTX-M-9 群の両方の遺伝子が併せて検出された株が 12 株、CTX-M-2 群の遺伝子が検出された株が 2 株、CTX-M-1 群の遺伝子が検出された株が 1 株認められた。各株の ESBL 遺伝子保有状況並びに血清型別及び薬剤感受性試験結果を下表に示す。

表 各株のESBL遺伝子保有状況並びに血清型別及び薬剤感受性試験結果

No.	ESBL 遺伝子	農場	採材日	O抗原血清型	薬 剤 感 受 性													
					ABPC	CET	CPDX	CAZ	CTX	CTRX	AZM	IMP	TC	NA	NFLX	SM	STX	CL
1	CTX-M-2/9	A	11/15	OUT	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	R	I	S	S
2				OUT	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S
3				OUT	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S
4			OUT	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	
5			OUT	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	R	S	S	S	
6			OUT	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	R	S	S	S	
7		OUT	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	R	S	S	S		
8		B	10/12	OUT	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S
9				OUT	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S
10			OUT	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	R	S	S	S	
11		C	10/17	O125	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S
12				OUT	R	R	R	S	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S
13	CTX-M-2	C	11/7	O111	R	R	R	S	R	R	R	S	R	S	S	R	S	S
14		D	9/21	O157	R	R	R	S	R	R	S	S	R	S	S	R	I	S
15	CTX-M-1	A	11/21	OUT	R	R	R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	I	S
16	TEM	F	11/21	OUT	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	R	S
17		G	9/5	OUT	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	R	S
18	不検出	A	11/15	OUT	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S
19				OUT	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S
20			11/21	OUT	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S
21		B	10/3	O18	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
22				O18	S	I	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
23				OUT	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S	S
24	D	9/5	O25	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	
25			9/21	O18	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	
26			10/12	O6	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S

OUT: O型別不能 R: 耐性 S: 感性 I: 中間

考察

今回分離された ESBL 産生大腸菌で検出された ESBL 遺伝子は全て CTX-M 型であり、国内でヒト[4]、肉用鶏糞便[1]から分離されている株と同様の検出傾向を示した。しかし、ヒトからの分離頻度が高いと報告のある血清型 025 及び 086 株[4]は分離されず、今回の調査ではヒトで流行する株との関連は認められなかった。また遺伝子群別の結果、一部の株で、CTX-M-2 群と CTX-M-9 群に属する二種類の CTX-M 型遺伝子が同時に検出された。国内では、これらの株と同様の遺伝子群に属する二種類の CTX-M 型遺伝子を有する大腸菌が秋田県内の医療機関で分離されている[5]。ヒトと肉用鶏の両者から分離された特殊な ESBL 遺伝子を有する株として今後の動向が注目される。

近年、 β ラクタム系抗生物質以外の薬剤耐性を併せて獲得した ESBL 産生菌が報告されている[6]。広域セフェムを含む β ラクタム系抗生物質と他の抗菌性物質への耐性を同時に獲得した ESBL 産生菌がヒトの感染症の原因となった場合、治療薬の選択を困難にし、治療の遅れにつながる恐れがある。また耐性遺伝子が ESBL 遺伝子と同じ接合伝達性プラスミド上に存在していた場合、菌種を超えた多剤耐性因子の拡散が懸念される。今回分離された ESBL 産生大腸菌もフルオロキノロン系抗菌薬等への耐性を併せて獲得しており、これらの株のヒトへの伝播に注意を払う必要があると考えられた。

肉用鶏が有する ESBL 産生菌のヒトへの感染リスクを低減するためには、今後も引き続き、食鳥処理段階における病鶏排除と適切な衛生管理により、食鳥肉の汚染を防ぐことが重要であると考えられた。また、鶏飼養環境中における耐性菌出現リスクの低減が併せて求められることから、生産現場、とくに薬剤使用を管理する獣医師との情報の共有化を図り、抗菌薬の使用状況と薬剤耐性菌出現の関連性を調べていく必要があると考えられた。

今後も食鳥肉等に由来する ESBL 産生菌の動向を注視し、公衆衛生の向上に寄与していきたい。

[1] Hiroi M, et al.: J Vet Med Sci, 74(2), 189-195 (2012)

[2] Dallenne C, et al.: J Antimicrob Chemother, 65(3), 490-495 (2010)

[3] G. Al Hashem, et al.: Med Princ Pract, 20, 213-219 (2011)

[4] Suzuki S, et al.: J Antimicrob Chemother, 63 (1), 72-79 (2009)

[5] 八柳潤ほか: 秋田県健康環境センター年報, 6, 40-45 (2010)

[6] Coque, T. M., et al.: Eurosurveillance, 13, 1-11 (2008)