

病性鑑定で分離した大腸菌の ESBL 産生遺伝子保有状況

香川県東部家畜保健衛生所

山川雅史 上村圭一

はじめに

大腸菌は環境中に存在する細菌の主要な種の一つで、ヒトや家畜の消化管内に常在する一方で、一部の血清型では病原性を示す。医療現場では、薬剤耐性大腸菌は MRSA と並んで多く確認されており、特に第3世代セファロスポリン耐性大腸菌は問題となっており、国際的にも低減することが求められている。

第3世代セファロスポリン耐性大腸菌のひとつである Extended Spectrum beta(β)-Lactamase (ESBL: 基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ) 産生菌は国内の家畜及び食肉から分離された事例も報告されており、動物の治療を困難にするだけでなく、食品を介して、人の感染症の治療を困難にすることが懸念されている。

今回、病性鑑定で検出された大腸菌株の ESBL 産生遺伝子の保有状況について調査したので報告する。

材料及び方法

令和4年度から5年度に病性鑑定で検出された、大腸菌株 33 農場 158 株 (牛由来株: 13 農場 60 株、豚由来株: 1 農場 9 株、鶏由来株: 20 農場 89 株) を材料として、市販の ESBL/MBL スクリーニング寒天培地によるスクリーニング検査を実施し、スクリーニング陽性検体については、ESBL 産生遺伝子 9 種についてマルチフレックス PCR 検査で保有状況の調査、薬剤感受性試験 10 薬剤 (ABPC、CEZ、CTX、SM、OTC、EFLX、OFLX、CL、FOM、KM) 及び菌株の疫学的関連を調べるため、RAPD 法による疫学検査を実施した。

結果

検体 33 農場 158 菌株中、スクリーニング検査陽性検体は 4 農場 14 株であった。

ESBL 産生遺伝子はスクリーニング陽性 14 菌株全てで ESBL 産生遺伝子を検出し、5 種の遺伝子と 7 パターンの遺伝子保有が確認され、牛由来株は同じ農場で異なる ESBL 産生遺伝子保有を認められた。また、ESBL 産生遺伝子保有大腸菌

菌株番号	動物種	農場	日齢	ESBL産生遺伝子
No.1	牛	A	2日	CTX-M-8
No.2	牛	A	8日	CTX-M-2,TEM
No.3	牛	A	12日	CTX-M-2
No.4	牛	A	17日	CTX-M-2
No.5	牛	A	22日	CTX-M-8,TEM
No.6	牛	A	24日	CTX-M-2,TEM
No.7	牛	A	14日	CTX-M-9,TEM
No.8	牛	A	30日	CTX-M-2
No.9	牛	A	25日	CTX-M-2
No.10	豚	B	10日	TEM
No.11	豚	B	10日	TEM
No.12	豚	B	10日	TEM
No.13	鶏	C	食鳥処理時	CTX-M-9,TEM
No.14	鶏	D	46日	CTX-M-1,TEM

表1 ESBL 産生遺伝子保有状況

は、牛・豚では全て1月齢以下（2～30日齢）の個体から分離された。（表1）

薬剤感受性試験は11菌株で実施し、ABPC、CEZ、CTX、SM、KMは全株（11/11）で耐性、OTCは10株（10/11）で耐性を認めた。一方で、EFLX、OFLXは2株のみの耐性で、CL、FOMは全株で耐性を認めなかった。全株で主な第一選択薬、第3世代セファロスポリンに耐性を示しており、多剤耐性を示していた。（表2）

菌株番号	ABPC	CEZ	CTX	SM	OTC	EFLX	OFLX	CL	FOM	KM*
No.1	>512	>256	16	>512	256	0.031	0.125	2	1	>512
No.2	>512	>256	32	>512	>512	0.063	0.25	2	1	>512
No.3	>512	>256	>32	256	512	0.063	0.125	2	16	>512
No.4	>512	>256	>32	256	512	0.063	0.125	2	16	>512
No.5	>512	>256	>32	>512	2	0.5	0.5	2	0.5	>512
No.6	>512	>256	>32	>512	>512	>16	16	2	0.5	>512
No.7	>512	>256	>32	512	>512	>16	>16	2	0.5	>512
No.8	>512	>256	>32	512	512	0.063	0.125	2	16	>512
No.9	>512	>256	>32	>512	512	0.063	0.125	2	16	>512
No.13	>512	>256	>32	>512	256	0.031	0.125	2	32	>512
No.14	>512	>256	>32	>512	>512	2	2	2	0.5	64
ATCC25922	4	2	0.06	8	2	0.031	0.063	2	0.5	8
精度管理範囲	2-8	1-4	0.03-0.12	-	-	-	0.016-0.12	0.25-2	0.5-2	1-4
BP	≧32	≧8	≧4	-	-	-	≧8	≧4	≧256	≧64

表2 薬剤感受性試験結果

RAPD法は牛由来の菌株で、4菌株の泳動パターンが一致し、保有するESBL産生遺伝子も同一であったが、その他の菌株は同一農場由来及び同一ESBL産生遺伝子保有菌株であってもいずれも泳動パターンが異なっていた。

RAPD法の結果と菌株が保有するESBL産生遺伝子を比較すると、同一農場の4菌株において、保有するESBL産生遺伝子とRAPD法が同様であった。一方、その他の保有するESBL産生遺伝子が同様の菌株についてはRAPD法の泳動パターンは異なっていた。また、保有するESBL産生遺伝子が異なる場合は、RAPD法の泳動パターンも異なっていた。（表3）

菌株番号	動物種	農場	ESBL産生遺伝子	RAPD法泳動パターン
No.1	牛	A	CTX-M-8	A
No.2	牛	A	CTX-M-2,TEM	B
No.3	牛	A	CTX-M-2	C
No.4	牛	A	CTX-M-2	C
No.5	牛	A	CTX-M-8,TEM	D
No.6	牛	A	CTX-M-2,TEM	E
No.7	牛	A	CTX-M-9,TEM	F
No.8	牛	A	CTX-M-2	C
No.9	牛	A	CTX-M-2	C
No.10	豚	B	TEM	G
No.11	豚	B	TEM	H
No.12	豚	B	TEM	I
No.13	鶏	C	CTX-M-9,TEM	J
No.14	鶏	D	CTX-M-1,TEM	K

表3 ESBL産生遺伝子とRAPD法の比較

考察

今回の調査では、ESBL産生遺伝子保有大腸菌が検出された牛、豚はいずれも生後1月以下（2～30日齢）の個体であり、特に牛では同じESBL産生遺伝子及びRAPD法で同一の泳動パターンを示す菌株を認めたことから、同居個体や

農場環境から保菌した可能性が高く、農場が薬剤耐性菌で汚染されていることが示唆された。

また、同一農場の菌株で異なる ESBL 産生遺伝子保有及び RAPD 法の泳動パターンを認めたことから、一つの農場に複数の ESBL 産生大腸菌が存在していることが示唆された

本県の過去の調査ではペニシリナーゼ及びセファロスポリナーゼ産生大腸菌検出されなかったが、今回の調査では牛、豚、鶏由来株、全てから ESBL 産生大腸菌が検出されたことから、県内農場に高度な薬剤耐性を保有する菌が発生していることが考えられる。また、第3世代セファロスポリン及び第一選択薬の多くが耐性であったことから、農場における抗生物質の多用が示唆された。

ESBL 産生遺伝子は、同菌種間はもとより、腸内細菌科の異なる菌種間に伝達されるため、ESBL 産生遺伝子を保有する菌が農場に広がること自体が問題である。また、薬剤耐性菌は疾病の長期化及び畜産物を介した人への健康被害といった公衆衛生的にも低減が必要である。

薬剤耐性菌低減のため、農場における抗生物質の適正使用や飼養環境の改善等の飼育管理の向上など飼養衛生管理基準の遵守が重要と考える。