食鳥と体から分離されたバンコマイシン耐性腸球菌

池田奈緒[†] 倉持典子 中嶋 洋 廣川 徹 長谷部浩三

さいたま市食肉衛生検査所 (〒338-0001 さいたま市中央区上落合5-14-21)

(2004年4月12日受付・2004年12月28日受理)

要 約

認定小規模食鳥処理場で購入した食鳥と体からバンコマイシン耐性腸球菌の分離を試みた。分離した腸球菌131株中3株がバンコマイシン耐性腸球菌であり、いずれもvanC型耐性遺伝子を持つバンコマイシン軽度耐性株であった。また、鶏肉への細菌汚染防止は、輸送時のと体への二次汚染の防止と解体作業時の器具類の消毒が重要であると考えられた。VREの拡大防止には、モニタリングにより現状を把握するとともに、食鳥処理業者へ情報提供をし、汚染拡大防止の衛生対策を実施していく必要がある。——キーワード：腸球菌、食鳥と体、バンコマイシン耐性。

日獣会誌 58, 489～491 (2005)

腸管の常在菌である腸球菌には通常病原性はないが、バンコマイシンに対して耐性を獲得したバンコマイシン耐性腸球菌（以下VREとする）は、他の多剤耐性菌と同様、近年医療現場では重要な問題となっており[7]、「感染症の予防および感染症の患者に対する医療に関する法律」に規定され、分離された場合は届出をすることが義務づけられている。また食肉に関しては、厚生労働省が「食の安全推進アクションプラン」の中で抗生物質耐性菌による食品の汚染防止対策として食肉中のVREについての政策を示した。高度耐性VREは、タイ、フランスおよびブラジルから輸入された鶏肉から分離され、さらに入院患者から分離されたVREの耐性遺伝子の変異部分がこれら鶏肉のVREと一致したことから鶏肉からの感染が疑われた。これは、餌に添加されるアボパルシンがバンコマイシンと化学構造が似ているからとも考えられており、わが国では1997年から飼料への添加が禁止された[2]。そこでわれわれは、VREの汚染実態を調査するため、市内の認定小規模食鳥処理場から購入した国内産の食鳥と体よりVREの分離を試みた。

材 料 お よ び 方 法

調査期間：平成15年5月から平成15年12月まで市内の認定小規模食鳥処理場で丸と体仕入れをしている5施設より合計35羽を購入し調査を行った。

検査方法：検査材料として、と体表面は、胸部皮膚5cm四方を無菌的に切り出した後、滅菌生理食塩水10mlを加え1分間ストマッカー処理し、その1mlを検

査材料とした。盲腸内容物は、と体から無菌的に盲腸を取り出し、内容物を1エーゼ採取し検査材料とした。解体後のまな板は、まな板表面を消毒後、と体を外はぎ法により解体したのち、まな板表面10cm四方を滅菌タンポンで拭きとり滅菌生理食塩水10mlを加えて1分間ストマッカー処理し、その1mlを検査材料とした。

バンコマイシン耐性腸球菌の分離については、柳原らの方法に準じて分離を行った[10]。SF培地^{a)}で37℃24時間選択増菌後、EF寒天培地^{b)}に拡画線し、37℃48時間培養した。同培地の鑑別法に従い桃色、えび茶色および黄色の腸球菌属コロニーを釣菌し一次分離とした。これをバンコマイシンスクリーニング寒天培地^{c)}に接種し、発育したものをVREとした。得られたVREについてはストレプトコッカス群別キット^{d)}を使いD群連鎖球菌抗原を確認後、運動性、黄色色素産生能、アピストレブ20^{d)}および医学細菌同定の手びき[3]により菌種を特定した。

バンコマイシン耐性遺伝子型の推定については、上記で得られたVREをミューラーヒントン培地^{e)}に塗抹し、バンコマイシン、ティコプラニンのEtestディスク^{f)}を置き最小発育阻止濃度を測定した。これをNCCLSの基準に従い耐性遺伝子の型を推定した[5]。

バンコマイシン耐性遺伝子の検出については、バンコマイシンに対して耐性の認められた菌株についてKan-

a) 日本ベクトン・ディッキンソン(株), 東京。

b) 日水製薬(株), 東京。 c) ユニブルー, 関東化学(株), 東京。

d) 日本バイオメリュー(株), 東京。 e) Oxoid, England。

f) Etest, アスカ純薬(株), 東京。

[†] 連絡責任者：池田奈緒（さいたま市食肉衛生検査所）

〒338-0001 さいたま市中央区上落合5-14-21

☎048-851-4100 FAX 048-855-0577

chana ら [6] の方法に従い PCR を実施し *vanA*, *vanB*, *vanC* 耐性遺伝子について調べた。

成 績

腸球菌属の検出：35羽すべてのと体から腸球菌が分離された。部位別ではと体表面より24/35検体(68.6%)27株、盲腸内容物より33/35検体(94.3%)59株であった。

また解体後のまな板からは、34/35検体(97.1%)45株と高い割合で分離された(表1)。

今回分離した131株のうちC施設から分離した3株がバンコマイシンに耐性を示した。性状検査の結果、9月

に購入した食鳥と体のと体表面から分離された株は *Enterococcus casseliflavus*, 10月に購入した食鳥と体のと体表面およびまな板から分離された株は *Enterococcus gallinarum* と同定された。

バンコマイシン耐性遺伝子型の推定：3株とも最小発育阻止濃度はバンコマイシンで6μg/ml、ティコプラニンで0.5μg/mlであった。このことからバンコマイシン耐性に関する遺伝子型は *vanC* 型であることが推察された(図1)。

バンコマイシン耐性遺伝子の検出：PCRにより9月に購入した食鳥と体のと体表面より分離された株から *vanC-2/C-3* 遺伝子が検出され、10月に購入した食鳥と体のと体表面およびまな板から分離された株からは *vanC-1* 遺伝子が検出された(図2)。

バンコマイシン

ティコプラニン

9月のと体表面から分離されたVRE株

図1 分離されたVREの薬剤耐性試験

- レーン1：9月 と体表面からの分離株
(*E. casseliflavus vanC-2/C-3*)
レーン2：10月 と体表面からの分離株
(*E. gallinarum vanC1*)
レーン3：10月 まな板からの分離株
(*E. gallinarum vanC1*)
レーン4：陽性コントロール(*vanA* および *vanC-2/C-3*)
レーン5：陽性コントロール(*vanA* および *vanC1*)
レーン6：陽性コントロール(*vanB*)
レーン7：陰性コントロール

図2 PCR法によるバンコマイシン耐性遺伝子の検出

表1 と体およびまな板からの腸球菌分離状況

(単位：株)

購入施設	検査部位	検査実施月								仕入先
		5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	
A	と体表面	0	0	0	1	2	1	1	0	ア
	盲腸	3	1	2	2	2	2	1	2	
	まな板	1	1	1	2	2	1	1	1	
B	と体表面	1	1	0	2	1	1	0	0	イ
	盲腸	1	1	3	3	0	2	1	2	
	まな板	1	0	1	2	2	1	2	1	
C	と体表面	1	0	1	1	1(1)	1(1)	1	1	ア
	盲腸	2	2	1	1	2	2	3	2	
	まな板	1	1	1	1	1	1(1)	2	1	
D	と体表面	1	1	0	1	—	—	—	—	ウ
	盲腸	1	2	3	0	—	—	—	—	
	まな板	2	2	2	1	—	—	—	—	
E	と体表面	1	2	0	—	1	1	1	0	ウ
	盲腸	1	1	2	—	2	1	1	2	
	まな板	1	2	1	—	1	2	1	1	

※購入羽数：1羽/1施設/1月 (—：購入なし) 数字：分離菌株数 () 内：VREの菌株数

考 察

今回の調査では、131 株中 3 株 (2.29 %) より vanC 型 VRE が分離された。高橋ら [8] は肥育牛、肥育豚、産卵鶏および肉用鶏の糞便から VRE の分離を行い、391 検体中 69 検体 (17.6 %) から vanC 型 VRE を分離したと報告している。今回の結果は高橋らの報告と単純に比較はできないが、さほど高い分離率ではないと思われた。

C 処理施設から購入した食鳥と体表面から 2 カ月経て vanC 型 VRE が分離されたため、当初 C 処理施設内の環境の汚染を疑った。しかし性状検査の結果、同一菌種ではなかったため、処理施設内の汚染からではなく食鳥と体自体の汚染と考えられた。汚染原因としては、体表から分離された個体の盲腸内容物からは vanC 型 VRE が分離されなかったことなどから、他の VRE 保有と体からや、輸送時に使用されるカゴなどの機材などからの二次汚染であることが考えられた。また、10 月に分離された 2 株は耐性遺伝子型が同じであることから由来が同一の株と考えられ、解体時にと体表面からまな板へ付着したと推察された。このことは鶏肉への汚染経路は、解体時の腸管破損のみでなく、と体表面に菌が付着している場合、そこからまな板が汚染され最終的に鶏肉へと広がること示唆された。以上の結果から、輸送時の二次汚染防止と解体時における一羽ごとの器具類の洗浄消毒は大変重要であり、VRE の汚染防止対策だけでなく、鶏肉を原因とするカンピロバクター、サルモネラなどによる食中毒の防止対策においても大変有効であると考えられた。

腸球菌は病原性が弱いため、VRE が経口的に摂取されても保菌者にとどまり、家族や周辺環境を汚染し拡大させていくことが考えられる [1]。したがって VRE は医療現場の問題にとどまらず、食品への汚染、食品関連

施設での定着、さらに環境中への拡散などを起こし [4]、今後公衆衛生上でも大きな問題となると思われる。

本調査では分離された VRE はすべて弱耐性の vanC 型であったが、海外から輸入された鶏肉から vanA 型 VRE が分離されていること、今回の汚染原因が二次汚染によるものと考えられることなどから、今後国内産の鶏肉が強耐性型の VRE に汚染され、その汚染が拡大する恐れが懸念された。薬剤耐性菌については、国内では農林水産省動物医薬品検査所が「家畜衛生分野における薬剤耐性モニタリング事業 (JVARM)」を中心として対策を行っており、VRE についてもモニタリングが行われている [9]。われわれも、引き続きモニタリングを行い現状を把握するとともに、その結果を食鳥処理業者へ情報提供をし、汚染拡大防止のための衛生対策を実施していく必要があると考える。

稿を終えるにあたり、PCR 検査などご指導、ご協力をいただいた国立感染症研究所細菌第二部、荒川宜親先生、加藤はる先生に感謝する。

引用文献

- [1] 荒川宜親：食品衛生研究，49，49-60 (1999)
- [2] 藤田直久，小森敏明：臨床病理，111，132-141 (2000)
- [3] GI Barrow, RKA Feltham：医学細菌同定の手びき，第3版，坂崎利一監訳，66-76，近代出版，東京 (1999)
- [4] 加地祥文：獣医畜産新報，56，850-852 (2003)
- [5] 川上小夜子，斧 康雄，宮澤幸久：臨床病理，111，59-63 (2000)
- [6] MV Kanchana, H Deneer, J Blondeau：Eur J Clin Microbiol Infect Dis，19，366-369 (2000)
- [7] 高橋敏雄：畜産の研究，56，9-16 (2002)
- [8] 高橋敏雄：臨床獣医，21，16-23 (2003)
- [9] 高橋敏雄，澤田拓士，浅井鉄夫，春日文子，能田 健：獣医畜産新報，56，853-855 (2003)
- [10] 柳原 敬，佐藤昭二，多田善一，大島寛一：鶏病研究会報，34，130-132 (1998)

Vancomycin-resistant Enterococci Isolated from Poultry Carcasses

Nao IKEDA^{*†}, Noriko KURAMOCHI, Hiroshi NAKAJIMA, Toru HIROKAWA
and Kouzou HASEBE

^{*} Saitama City Meat Inspection Office, 5-14-21 Kamiochiai, Chuo-ku, Saitama, 338-0001, Japan

SUMMARY

An attempt was made to isolate vancomycin-resistant enterococci (VRE) from chicken carcasses purchased from authorized small-scale poultry slaughter plants in Saitama City. Of 131 isolated enterococci, 3 isolates had the vanC gene and showed low-level resistance to vancomycin. It is suggested that both control measures against secondary contamination during carcass transport and disinfection of dressing equipment are critical to preventing bacterial contamination of poultry. In addition, monitoring and notification of plant sanitary status are essential preventative measures against the spread of VRE.

— Key words : enterococci, poultry carcasses, resistance to vancomycin.

[†] Correspondence to : Nao IKEDA (Saitama City Meat Inspection Office)

5-14-21 Kamiochiai, Chuo-ku, Saitama, 338-0001, Japan TEL 048-851-4100 FAX 048-855-0577

J. Jpn. Vet. Med. Assoc., 58, 489 ~ 491 (2005)