市販食品における病原大腸菌に関する研究 (第2報)

市販食肉およびカキより分離した病原大腸菌の薬剤耐性
およびその R 因子について

(昭和 47 年 4 月 12 日受理)

佐 藤 昭 子*

Studies on Distribution Rate of Enteropathogenic *Escherichia coli* in Commercial Foods

(II) Drug Resistance and R Factors in Strains of Enteropathogenic *Escherichia coli* Isolated from Commercial Fresh Meats and Oysters

Akiko SATO

(Niigata Women's College; 471, Ebigase, Niigata)

The strains of enteropathogenic *Escherichia coli* isolated from commercial foods in Niigata prefecture from 1969 to 1971 were surveyed for drug resistance to several chemotherapeutic drugs and distribution of R factors. Of 28 strains were examined, and 8 strains (8/28) were resistant to a number of chemotherapeutic drugs such as tetracycline (TC), chloramphenicol (CM), streptomycin (SM) and sulfonamide (SA), however, all of the isolates were sensitive to kanamycin, nalidixic acid and aminobenzyl penicillin. Of these resistant strains, 7 strains (7/8) were resistant to two or more drugs, and one strain (1/8) to only one drug. The majority of these drug resistant strains were the isolates from fresh meats.

It was also found that 4 strains (4/8) of these resistant strains carried R factors. All of the resistance patterns of R factors were multiple drug resistance.

(Received April 12, 1972)

緒 言

前報¹⁾において市販食品(食肉, カキ)における病原大腸菌の分布状況を検索した。その結果, 供試食品より 28 株の本菌を分離し, 9 種の菌型を同定した。ところで近年, 赤痢菌をはじめとして各種腸内細菌における薬剤耐性, とくに多剤耐性菌の出現は注目されるところであり, 感染症の治療の上からも大きな問題となっている。しかし, このような腸内細菌の薬剤耐性に関する報告としては, そのほとんどがヒトおよび家畜由来のものである。そこで, 食品衛生の見地から食品由来の病原大腸菌を供試し, 常用されている数種化学療法剤の薬剤耐性および耐性を伝達する R 因子の有無などについて検索したのでここに報告する。

実験材料ならびに方法

1. 供試菌株: 食品から分離した病原大腸菌 28 株である。

2. 供試薬剤: 抗生物質 4 種, すなわち, テトラサイクリン (TC), クロラムフェニコール (CM), ストレプトマイシン (SM) およびカナマイシン (KM), さらに合成抗菌剤としてサルファ剤 (SA), アミノベンジンベニシリン (AB-PC) およびナリジキシン酸 (NA) など 3 種, 計 7 種である。

3. 感受性試験: ディスク法および寒天平板希釈法で行なった。使用培地はハートインフュージョン寒天培地を, SA の場合は合成培地を用いた。合成培地の組成は $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 8 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.1 g, $\text{Na-citrate} \cdot 11\text{H}_2\text{O}$ 0.6 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1.0 g, casamino acid 2 g, tryptophan 10 mg, nicotinic acid 2 mg, glucose 2 g, thiamine 10 mg, 寒天 12.5 g, 水 1 L である。その結果, 耐性と認められた菌株について R 因子の検査を行なった。

4. R 因子検査法: 鈴木ら²⁾の方法に従って行なった。レシビエントとして NA 耐性大腸菌 K-12 株 ML

* 県立新潟女子短期大学: 新潟市海老ヶ瀬 471 番地

Table 1. Sensitivity of 28 Isolates of Enteropathogenic *Escherichia coli* to Several Chemotherapeutic Drugs (Disc Method)

Sensitivity	Drugs ($\mu\text{g/ml}$)						
	TC	CM	SM	KM	SA	AB-PC	NA
卅	21	27	24	28	19	28	28
卄					2		
+					2		
-	7	1	4		5		

TC=tetracycline, CM=chloramphenicol, SM=streptomycin, KM=kanamycin,
SA=sulfonamide, AB-PC=aminobenzyl penicillin, NA=nalidixic acid

卅=very sensitive, 卄=moderately sensitive, +=moderately resistant, -=resistant

Table 2. Minimal Inhibitory Concentration of Enteropathogenic *Escherichia coli* to Several Chemotherapeutic Drugs

Strain	Minimal Inhibitory Concentration ($\mu\text{g/ml}$)			
	TC	CM	SM	SA
<i>Escherichia coli</i>				
055 N-1329			>1600	>2000
086a N-603	200			>2000
086 N-155	200			2000
0119 N-1	400		>1600	
0119 N-112	200		>1600	
0125 N-399	200			>2000
0125 N-1148	200	1600	800	>2000
0125 N-1294	200			

1410 (新潟県衛生研究所より分与) を、ドナーとしては食品由来の耐性株を用いた。レシピエントおよびドナーをそれぞれブレインハートインフュージョン培地中に一夜培養し、その各々 0.5 ml ずつを混合してさらに一夜培養し、NA 25 $\mu\text{g/ml}$ と各試験薬剤 TC, CM, SM のいずれも 25 $\mu\text{g/ml}$ を、SA では 200 $\mu\text{g/ml}$ をそれぞれ含むハートインフュージョン寒天平板に1白金耳ずつ培養した。なお、SA の場合は感受性試験に使用した合成培地を用いた。これらの培地に発育した集落はR因子の伝達による耐性菌と考えられる。各平板ごとに3個の集落をとり、さらに寒天平板希釈法で最小発育阻止濃度を測定し、耐性型を確かめた。

実験結果

1. 病原大腸菌の薬剤感受性

ディスク法による感受性試験の結果は Table 1 のごとくである。供試菌株中耐性と認められたものは8株で、他は今回の供試薬剤に対しきわめて感受性であった。その出現の割合は 8/28 (28.5%) で、TC, CM, SM およびSAなどの薬剤に耐性が認められた。しかしKM, NA,

AB-PC などに対しては、全菌株ともきわめて感受性であった。

2. 耐性株の最小発育阻止濃度

ディスク法による感受性試験で耐性と認められた8株の最小発育阻止濃度は Table 2 に示すようである。その値に関しては、TC 耐性株のほとんどが 200 $\mu\text{g/ml}$, CM では1600, SM の場合は 800 ないしは >1600, SA では >2000 $\mu\text{g/ml}$ の成績で、耐性株はきわめて高度の耐性をもつものとみられた。とくに、SM および SA において高い値がみられた。なお、菌型と薬剤耐性との関係はとくに認められなかった。

3. 病原大腸菌における耐性菌出現の状況

食品より分離した病原大腸菌のうち耐性菌と認められたものは、前述のように 8/28 株 (28.5%) であるが、その由来別に耐性菌出現の割合をみると、Table 3 のように、食肉由来株の 5/8 (62.5%) が耐性であり、さらに鶏肉由来の場合 3/3 株が、豚肉由来では 2/5 株が薬剤耐性であった。しかし、カキ由来のものは 3/20 株 (15%) が耐性であり、食肉由来菌からは高頻度で耐性菌

Table 3. Drug Resistance of Enteropathogenic *Escherichia coli*

Strains examined		No. of resistant strains	No. of resistant strains to each drug			
Origin	No. of strains		TC	CM	SM	SA
Pork	5	2	2		1	1
Chicken	3	3	3		1	2
Oyster	20	3	2	1	2	2
Total	28	8	7	1	4	5

Table 4. The Resistance Patterns and R Factors in Resistant Pathogenic *Escherichia coli*

Strains examined		No. of resistant strains	Resistance patterns and No. of strains				No. of R ⁺ strains	Resistance patterns of R factors and No. of strains			
Origin	No. of strains		TC	SM				TC	SM		
Pork	5	2	TC	SM		1	1	TC	SM		1
			TC	SA		1					
Chicken	3	3	TC	SM		1	1	TC	SM		1
			TC	SA		2		TC	SA		1
Oyster	20	3	TC	CM	SM	SA	1	1			
			SM	SA			1		SM	SA	1
			TC				1				
Total	28	8					4				

が認められた。ついで、薬剤別に耐性菌出現の割合をみると、Table 3 にみるように TC 耐性株がもっとも多く、ついで SA, SM および CM 耐性の順であった。

4. 耐性病原大腸菌の耐性型とその R 因子

Table 4 に示すように食品由来の耐性菌のほとんどが多剤耐性菌で、その耐性型は 5 種類であった。なかでも二剤耐性菌がもっとも多く 6 株で、その耐性型は TC・SA 3 株, TC・SM 2 株, SM・SA 1 株であった。4 剤耐性は 1 株で、耐性型は TC・CM・SM・SA であり、TC 耐性の単剤耐性菌は 1 株であった。ついで、これら耐性型をその由来からみると、食肉由来のものはすべて二剤耐性で、そのパターンは食肉の種類にかかわらず 2 種類で、TC・SM, SM・SA の型であった。カキの場合は 4 剤、2 剤および単剤耐性株がみられた。

さらに、これら耐性株のうち、耐性を伝達する R 因子保有の有無を調べたところ、Table 4 にみられるように耐性株のうち R 因子を有するものは 4/8 株で半数を占めた。その 4 株のうち 3 株は食肉由来菌であり、1 株はカキ由来菌であった。

考 察

わが国における病原大腸菌の各種薬剤に対する感受性については、ヒト由来菌では池村ら³⁾および青柳⁴⁾が、ヒトおよび家畜由来菌については大久保⁵⁾の報告がある。

今回著者が得た成績をヒトおよび家畜由来菌についての過去の成績と比較してみると、同程度ないしは耐性菌増加の傾向がうかがわれた。

最近の畜産方面における各種化学療法剤の大量および高頻度の使用は、必然的に耐性菌の発生を促しているといわれている。家畜および家禽由来の腸内細菌の薬剤耐性とその R 因子についての検索成績は、わが国および外国においても報告^{2)(6)~8)}されている。わが国におけるブタおよびニワトリの調査成績において、鈴木ら²⁾⁽⁶⁾はブタの場合、耐性菌保有のブタは 100% であり、その半数は R 因子をもち、ニワトリでは耐性菌保有のものは 40% で、R 因子をもつものは 29% としている。しかも耐性を示す薬剤は TC, SM, SA という結果であった。これら家畜および家禽における耐性菌出現の要因は、いまのところ飼料中に添加される薬剤の選択作用、あるいは R 因子の感染など、この両者またはいずれかによるものと考えられている。

今回の病原大腸菌における薬剤耐性とその R 因子に関する検索は少数例ではあるが、鈴木ら²⁾⁽⁶⁾によるブタおよびニワトリ由来の大腸菌に関する報告ときわめて類似の傾向が認められた。食肉の場合、動物のふん便と異なり市販されるまでにと場および販売店での処理などにおいて耐性菌または R 因子感染の機会もあると考えられる。

が、食品中に残留する化学療法剤による影響も皆無とは考えられない。ともあれ、とくに食肉の場合、病原大腸菌の 5/8 株 (62.5%) も耐性であり、しかもその半数以上が R 因子を保有することは、耐性菌の増殖および R 因子の感染と相俟って耐性菌の増加を招来することも考えられる。とくに、それが病原性を有し食中毒などの原因となった場合、化学療法を困難にするものである。畜産および水産方面における化学療法剤使用の現況からみて今後ますます動物性食品中に耐性菌、しかも R 因子保有の耐性菌が増加することが当然予想されるので、食品汚染微生物の薬剤耐性に注目し、さらに調査検討されなければならないものと考えられる。

総 括

市販食品由来の病原大腸菌 28 株を供試し、数種化学療法剤に対する薬剤耐性および耐性を伝達する R 因子の有無などを調べてつぎの結果を得た。

1. 食品由来の病原大腸菌のうち耐性株は 8/28 株 (28.5%) で、TC, CM, SM および SA 等の薬剤に高度の耐性を示した。しかし、KM, NA および AB-PC に対しては、きわめて感受性であった。

2. 食肉由来の病原大腸菌の 5/8 株 (62.5%) が耐性であったが、カキ由来株では 3/20 株 (15%) が耐性で、食肉由来株から高頻度に耐性菌が認められた。また、食肉由来の耐性株はすべて TC 耐性であった。

3. 耐性病原大腸菌の大部分は多剤耐性菌で、その耐

性型は 5 種類みられた。なかでも 2 剤耐性菌が 6 株でもっとも多く、4 剤耐性菌および単剤耐性菌は各 1 株であった。

4. 耐性病原大腸菌のうち、R 因子を保有するものは 4/8 株 (50%) で、その 4 株のうち 3 株が食肉由来であり、カキ由来は 1 株であった。また、R 因子保有耐性株はすべて 2 剤耐性であった。

終りに、NA 耐性大腸菌をご恵与くださった新潟県衛生研究所池村謙吾氏に深謝致します。

本報告の要旨は第 22 回日本食品衛生学会 (1971) において発表。

文 献

- 1) 佐藤昭子：食衛誌，12，473 (1971)。
- 2) 鈴木 要，磯貝誠吾，橋本 一，三橋 進：日細菌，22，146 (1967)。
- 3) 池村謙吾，山崎シヅ，浅野由紀：日本衛生検査技師会雑誌 16，10 (1967)。
- 4) 青柳国三郎：共済医報，16，562 (1967)。
- 5) 大久保忠敬：日公衛誌，16，603 (1969)。
- 6) 鈴木 要，磯貝誠吾，橋本 一：日細菌，23，419 (1968)。
- 7) Anderson, E. S., Datta, N.: Lancet 1, 407 (1965)。
- 8) Walton, J. R.: *ibid.* 10, 1300 (1966)。