

琉球大学学術リポジトリ

豚枝肉及び枝肉解体器具類由来大腸菌群の薬剤耐性(生物生産学科)

メタデータ	言語: 出版者: 琉球大学農学部 公開日: 2008-02-14 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 日越, 博信, 上原, 亮, 内田, 雅美, Higoshi, Hironobu, Uehara, Makoto, Uchida, Masami メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/20.500.12000/3789

豚枝肉及び枝肉解体器具類由来大腸菌群の薬剤耐性

日越博信*・上原 亮*・内田雅美*

Hironobu HIGOSHI, Makoto UEHARA and Masami UCHIDA : Drug resistance of Coliform bacteria isolated from dressed pork carcasses, and machines and equipment for pork processing

Summary

To assess the contamination of meat by drug-resistant bacteria, coliform bacteria were isolated from dressed pork carcasses, and from pork processing machines and equipment in a slaughterhouse. These bacteria were tested for sensitivity to ABPC, CTC, SM, CP, KM, NA and SA.

Eighteen strains of *Escherichia coli* were isolated from pork carcasses. Fifteen of these 18 strains (83.3%) were drug-resistant. The samples were taken from 6 carcasses prior to washing, 6 carcasses prior to grading, and 6 carcasses in refrigerated storage. Seventeen strains were found on machines and equipment used for meat processing (table, knife, skinner, and cotton gloves). All 17 strains were sensitive to drugs. There were 57 strains other than *E. coli* found on the carcasses (such as *Citrobacter freundii* and *Klebsiella pneumoniae*). Twenty five of these 57 (43.9%) exhibited drug resistance. There were 133 different strains found on the machines and equipment, of which 36 (27.1%) were drug-resistant.

The *E. coli* revealed the most frequent resistance to CTC and SA (86.7%, respectively). The *C. freundii* and *K. pneumoniae* isolated from pork carcasses and the machines and equipment revealed the highest resistance to ABPC (36.0% and 72.2%, respectively).

A review of the patterns of drug resistance revealed that *E. coli* exhibited seven patterns of drug resistance ranging from single drug to 6- drug resistance. Resistance to two- drug was the most common finding. *C. freundii* and *K. pneumoniae* found on the carcasses revealed four different types of single drug resistance. Examples of these two strains found on the machines and equipment exhibited eight patterns of resistance varying from single to 4- drug resistance. ABPC resistance was most frequent in both of these groups.

One strain each of *E. coli* and *K. pneumoniae* isolated from pork carcasses was found to retain R plasmid. Each showed single drug resistance.

* 琉球大学農学部生物生産学科

琉球大学農学部学術報告 40 : 29~34 (1993)

緒 言

家畜及び家禽における薬剤耐性菌が増加するのに伴って、それらが畜産物を介してヒトへ伝播することが懸念され、公衆衛生上も問題視されている^{1,7,10-14}。畜産物によるヒトへの感染経路として、乳あるいは卵を介する可能性も含まれるが、最も重要視されているのは食肉を介しての経路である^{1,4,14}。しかしわが国において、市販食肉由来細菌の薬剤感受性について調査した報告は若干見られるものの^{7,9,10,14}、と畜場の枝肉及び枝肉解体器具類由来細菌についての報告は殆ど見られない。

著者らは、これまで各種家畜糞便由来^{3,5}、生乳²及び食鳥肉⁴由来大腸菌の薬剤感受性について、調査を行ってきた。今回はこれらの調査の一環として、またと畜場内の豚枝肉及び枝肉解体器具類における大腸菌群の薬剤耐性菌による汚染状況を知る目的で、調査を行ったのでその概要を報告する。

実験材料及び方法

1 供試材料及び採取方法

試料は、豚枝肉が1と畜場から、枝肉解体器具類が4と畜場から、1992年7, 9, 11月に、沖縄県食肉衛生検査所のと畜検査員によって採取された。試料の採取部位及び採取方法は、豚枝肉が懸垂された同一の6と体について、4部位(もも、むね、くび外側、くび内側)から洗浄前、格付け前、冷蔵庫内の3ヵ所で、それぞれの表面10×10cmの範囲で、滅菌ガーゼを用いて拭き取り法によって行われた。また解体器具類は、作業前と作業中にカット台、庖丁、スキナー、軍手、解体室出入口取手の5種類について、上記同様に採取した。なお、軍手については両手小指部分を切り取って試料とした。採取された試料は、滅菌生理食塩水10mlを加え、30秒間ストマック後試料原液とした。

2 大腸菌群の分離

試料原液を $10^3 \sim 10^5$ に希釈後、各0.1mlをデスオキシコーレイト培地(栄研)平板に塗抹し、37℃、24時間培養後、大腸菌群と思われる集落を5～7個釣菌した。今回の調査では試料の希釈倍率が高かったため、同培地で大腸菌群が得られなかったことが多く、その場合はDHL培地あるいはマッコンキー培地(栄研)平板からも大腸菌群の分離を行った。

分離された大腸菌群は型の通りの同定を実施し⁸)、*Escherichia coli* が35株、*Citrobacter freundii* が56株及び*Klebsiella pneumoniae* が134株(以下、後2者の菌種を*E. coli* 以外の大腸菌群)、合計225株が得られた。これらの菌株について薬剤感受性試験を行った。

3 薬剤感受性試験の方法

薬剤感受性試験は、日本化学療法学会標準法⁶)に準拠し、寒天平板希釈法で行った。用いた薬剤はアンピシリン(ABPC)、クロルテトラサイクリン(CTC)、ストレプトマイシン(SM)、クロラムフェニコール(CP)、カナマイシン(KM)、ナリジキシ酸(NA)、スルファジメトキシシン(SA)の7種類である。各薬剤の耐性限界濃度は、SAが200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 、他の6薬剤が25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ とした。なお、耐性菌についてはRプラスミドの検索を行ったが、耐性菌を供与菌とし、NA耐性の大腸菌ML1410株を受容菌として、前報²)に準拠して行った。

実験結果

今回の調査においては*E. coli* のみの分離を試みたが、*E. coli* は豚枝肉由来では格付前1株、洗浄前8株、冷蔵庫内9株、計18株、また解体器具類由来では出入口取手のみから計17株、合計35株の少数株で

あった。そのために *E. coli* 以外の大腸菌群 (豚枝肉由来57株、解体器具類由来133株) 190株を加えて薬剤感受性試験を実施した。これら菌株における耐性菌の検出状況は、表1に示した。なお、試料の採取部位または箇所別、器具類の種類別、器具類におけると畜場別の菌株数が少ないため、成績では一括して表示した。

Table 1. Drug resistance frequency of Coliform bacteria isolated from dressed pork carcasses, and processing machines and equipment in a slaughterhouse

Samples		No. of strains tested	Drug resistance	
			No. of strains	Percentage
Pork carcasses	<i>E. coli</i>	18	15	83.3
	<i>C. freundii</i>			
	<i>K. pneumoniae</i>	57	25	43.9
Processing machines & equipment	<i>E. coli</i>	17	0	0.0
	<i>C. freundii</i>			
	<i>K. pneumoniae</i>	133	36	27.1
Total		225	76	33.8

E. coli における耐性菌の検出状況は、豚枝肉由来18株中15株(83.3%)が、用いた7薬剤のいずれか1剤に耐性であった。しかし、解体器具類由来の17株は全株感受性であり、豚枝肉由来とは著しい違いを示した。*E. coli* 以外の大腸菌群では、豚枝肉由来の57株中25株(43.9%)が、また解体器具類由来の133株中36株(27.1%)が、それぞれ耐性であった。*E. coli* 及び *E. coli* 以外の大腸菌群ともに耐性菌の検出率は、豚枝肉由来株で高い値を示した。

薬剤別にみた耐性菌の検出状況は、表2に示した。*E. coli* では全ての薬剤に対して耐性菌が見られたが、CTC及びSA耐性菌の検出率が特に高く、以下SM, ABPC, KM, CP及びNA耐性菌の順であった。*E. coli* 以外の大腸菌群では、豚枝肉及び解体器具類由来ともに、ABPC耐性菌が高かった。次いで、豚枝肉由来ではCTC, SM, SA耐性菌の順であり、CP, KM, NA耐性菌は検出されなかった。一方解体器具類では、KM, CTC, SM, SA耐性菌の順に多く、CP及びNA耐性菌は検出されず、豚枝肉由来とは若干異なっていた。また、*E. coli* と *E. coli* 以外の大腸菌とでは、薬剤別の耐性菌の検出状況が異なっていた。

次に、薬剤耐性大腸菌群の耐性型とその分布を表3に示した。*E. coli* の耐性型は、単剤耐性型から6剤耐性型まで7種類あったが、5剤耐性型は見られなかった。耐性型では、CTC-SAの2剤耐性型が最も多かった。*E. coli* 以外の大腸菌群では、豚枝肉由来がすべて単剤耐性型であり、解体器具類由来が単剤耐性型から3剤耐性型まで8種類あったが、その殆どは単剤耐性型であった。また、*E. coli* 以外の大腸菌群では豚枝肉及び解体器具類由来ともに、単剤型のABPC耐性が最も多かった。さらに、*E. coli* の耐性型と *E. coli* 以外の大腸菌群のそれとは違う結果を示した。

なお、薬剤耐性大腸菌群についてRプラスミドの検出を試みたが、Rプラスミド保有菌は豚枝肉由来の2株のみから検出された。1株は *E. coli* のCTC-SM-SA 3剤耐性型からSA伝達型であり、他の1株は *E. coli* 以外の大腸菌群のSM単剤耐性型からSM伝達型であった。

Table 2. Frequency of drug resistance Coliform bacteria isolated from dressed pork carcasses, and processing machines and equipment in a slaughterhouse

Drug* ¹	Pork carcasses				Processing machines & equipment	
	<i>E. coli</i> (15)* ²		<i>C. freundii</i> (25) <i>K. pneumoniae</i>		<i>C. freundii</i> (36) <i>K. pneumoniae</i>	
	No. of strains	Percentage	No. of strains	Percentage	No. of strains	Percentage
ABPC	4	26.7	9	36.0	26	72.2
CTC	13	86.7	8	32.0	4	11.1
SM	6	40.0	4	16.0	4	11.1
CP	1	6.7	0	0.0	0	0.0
KM	2	13.3	0	0.0	7	19.4
NA	1	6.7	0	0.0	0	0.0
SA	13	86.7	4	16.0	1	2.8

* 1 Abbreviation : ABPC, ampicillin ; CTC, chlortetracyclin; SM, streptomycin sulfate; CP, chloramphenicol; KM, kanamycin sulfate; NA, nalidixic acid; SA, sulfadimethoxin

* 2 Number of strains tested

Table 3. Drug resistance patterns of Coliform bacteria isolated from dressed pork carcasses, and processing machines and equipment in a slaughterhouse

Resistance patterns	Pork carcasses		Processing machines & equipment		Total
	<i>E. coli</i>	<i>C. freundii</i> <i>K. pneumoniae</i>	<i>C. freundii</i> <i>K. pneumoniae</i>		
ABPC		9	23		32
CTC	2	8	1		11
SM	2	4	1	31	5
KM	(13.3) *	25 (100.0)	6	(86.1)	6
SA		4			4
ABPC-CTC			2		2
ABPC-SA	2				2
CTC-SM	7		1	4	1
SM-SA	(46.7)		1	(11.1)	1
CTC-SA	5				5
ABPC-SM-KM			1		1
CTC-SM-SA	2		1	(2.8)	2
	(13.3)				(3.9)
ABPC-CTC-SM-SA	1				1
CTC-SM-KM-SA	2	3			2
	(20.0)				(3.9)
ABPC-CTC-SM-CP-NA-SA	1				1
	(6.7)				(1.3)
Total	15 (100.0)	25 (100.0)	36 (100.0)		76 (100.0)

*Number in parenthesis indicates percentage

考 察

近年、家畜由来腸内細菌、特に大腸菌の薬剤耐性及びRプラスミド保有菌の増加が公衆衛生面からも問題視されるようになった^{1,7,9-14)}。それは、薬剤耐性大腸菌が畜産物を介してヒトへ伝播され、Rプラスミドなどによって間接的に病原菌にも耐性を伝達し、それによる感染症の治療を困難にすることが懸念されるからである^{1,7,9-14)}。また、畜産物のうち公衆衛生上最も重要視されているのは食肉であるが、その汚染源はと殺時における家畜糞便と考えられている^{1,4,14)}。しかし、市販食肉由来大腸菌の薬剤耐性についての調査は散見されるものの^{7,9,10,14)}、と畜場での食肉及びその処理工程についての調査は殆ど見られない。

今回著者らは、と畜場内の豚枝肉及び枝肉解体器具類由来大腸菌群についての調査を行った。その結果はすでに記述したように、*E. coli* の分離菌株数は少なかったが、豚枝肉由来では83.3%が耐性であったのに対し、解体器具類由来では全てが感受性であった。これは、解体器具類由来の *E. coli* が全株解体室の出入口取手から分離されたものであり、家畜糞便あるいは豚枝肉との直接の接触がなく、汚染源が違うことによるのかも知れない。また、今回の豚枝肉由来大腸菌の薬剤耐性型は、豚糞便由来大腸菌の耐性型⁵⁾、即ちCTC, SM, SA耐性菌が多く、しかもこれら3薬剤に関連した多剤耐性菌が大部分を占め、両者は類似していたことから、豚枝肉由来薬剤耐性大腸菌の大部分は豚糞便由来と見なせよう。

一方、*E. coli* 以外の大腸菌群における耐性菌の検出率は、豚枝肉由来が43.9%、解体器具類由来が27.1%で、前者が若干高かった。しかし耐性型は、両者とも殆どが単剤耐性型で、また検出率は異なるがABPC耐性菌が最多であり、両者はやや類似していた。これらのことは、*E. coli* 以外の大腸菌群の耐性菌が枝肉と解体器具類間で相互に移行しているものと考えられた。家畜糞便あるいは畜産物由来の *E. coli* 以外の大腸菌群について、薬剤耐性に関する調査報告が見られないため比較は困難だが、今回の結果から *E. coli* とは各薬剤に対する耐性菌の検出率、検出順位、耐性型などが大きく異なっていた。これは、*E. coli* 以外の大腸菌群における薬剤耐性の特徴かも知れないが、これらの細菌が糞便由来でないとする根拠はないものの、*E. coli* とは違う汚染源、即ちと畜場で使用される水、その他を考慮に入れる必要があるようである。

今回の調査では、分離菌株数が少なく、と畜場内の豚枝肉及び器具類における薬剤耐性菌の汚染状況、汚染経路などは十分に明らかにできなかった。今後は、と畜場内の枝肉試料の採取方法、採取部位、試料の処理方法などを改め、より多くの *E. coli* を分離し、再度検討する必要があると考えている。さらには、と畜場で使用される水、枝肉を取り巻く環境など、またと畜場から出荷された市販肉についての調査も必要と考えられる。

摘 要

食肉における薬剤耐性菌の汚染状況を知る目的で、と畜場内の豚枝肉及び枝肉解体器具類から大腸菌群を分離し、ABPC, CTC, SM, CP, KM, NA, SAの7薬剤に対する感受性試験を行った。

豚枝肉由来の *E. coli* では、18株中15株(83.3%)が耐性であったが、解体器具類由来では17株全てが感受性であった。一方 *E. coli* 以外の菌株(*C. freundii* 及び *K. pneumoniae*)では、豚枝肉由来の57株中25株(43.3%)が、また解体器具類由来の133株中36株(27.1%)が、それぞれ耐性であった。薬剤別の耐性菌は、*E. coli* ではCTC及びSA耐性が各86.7%で最も高く、*E. coli* 以外の大腸菌群では豚枝肉及び解体器具類由来でABPC耐性が、それぞれ36.0%と72.2%で最も高かった。

耐性型は、*E. coli* では単剤耐性型から6剤耐性型まで7種類あったが、2剤耐性型が最多であった。*E. coli* 以外の大腸菌群の耐性型は、豚枝肉由来の全てが単剤型で4種類、解体器具類由来では単剤型から4剤耐性型まで8種類あったが、両者ともABPC単剤型が最も多かった。

Rプラスミド保有菌は、豚枝肉由来の *E. coli* 及び *K. pneumoniae* から1株ずつ検出され、いずれも単剤伝達型であった。

試料を快く提供して頂いた沖縄県食肉衛生検査所細菌検査室の本田善美、中島秀人、新里武則、平安常寛の各氏、試料提供を許可して頂いた大城孝喜所長に感謝を致します。

引用文献

1. 吐山豊秋 1986 薬剤耐性菌による畜産食品汚染(1) 米国におけるPC・TC系飼料添加剤問題をめぐって、日獣会誌、39: 285~289
2. 日越博信、藤沢倫彦、高田潤一 1984 乳牛の分房乳から分離した大腸菌の薬剤耐性とRプラスミド、琉大農学報、31: 285~289
3. 日越博信、猪俣隆一 1985 子豚ふん便由来大腸菌の薬剤耐性とRプラスミド、琉大農学報、32: 133~141
4. 日越博信、永山輝代 1991 食鳥肉由来大腸菌の薬剤耐性とRプラスミド、琉大農学報、38: 23~28
5. 日越博信、野口蘭子、香西 献 1992 肥育豚ふん便における薬剤耐性大腸菌の経時的消長、琉大農学報、39: 13~194
6. 河喜多龍祥 1987 薬剤感受性検査、1版、p66~69、東京、近代出版
7. Kinjo T., Shimabukuro Y. and Tamaki M. 1977 Drug resistant strain of bacteria isolated from domestic animals in Okinawa. IV. Drug resistance and R factors of *E. coli* isolated from broiler chicken and pork, Sci. Bull. Coll. Agr. Univ. Ryukyus, 24: 475~486
8. 坂崎利一訳 1981 医学細菌同定の手びき、2版、東京、近代出版
9. 佐藤昭子 1974 食肉から分離した大腸菌の薬剤耐性とそのR因子の分布について、食衛誌、15: 286~291
10. 佐藤昭子 1977 豚肉汚染大腸菌の薬剤耐性とRプラスミドについて、食衛誌、18: 328~334
11. 高橋 勇 1977 家畜における薬剤耐性菌の発現機構と現況、獣医界、112: 16~35
12. 寺門誠致 1971 抗生物質の飼料添加と耐性菌について、SPF Swine, 2 (2): 38~43
13. 寺門誠致 1990 薬剤耐性菌の功罪、動薬研究、43: 27~40
14. 寺門誠致、佐藤儀平、斉田 清、佐藤昭子、金井 久 1985 三橋 進ら編、薬剤耐性菌による環境汚染、1版、p121~151、東京、学会出版センター