

市販食品からの第三世代セフェム系およびカルバペネム系薬剤耐性

大腸菌群の検出 (2014年~2015年)

加藤 玲^a, 鈴木 康規^a, 村内 このみ^a, 小林 真紀子^a,
上原 さとみ^a, 樋口 容子^a, 松下 秀^b, 平井 昭彦^a, 貞升 健志^c

一般の食品における薬剤耐性菌の汚染状況を把握する目的で、東京都内で市販されている各種食品から第三世代セフェム系およびカルバペネム系薬剤耐性大腸菌群の検出を試みた。2014年~2015年の2年間に各種食品2,844検体について検討した結果、第三世代セフェム系薬剤耐性菌は90件から検出された。第三世代セフェム系とカルバペネム系両薬剤耐性菌は1件からの検出であった。薬剤耐性検出菌種は6種類で *Enterobacter cloacae* が最も多く68株、次いで *Citrobacter freundii* 18株, *Enterobacter asburiae* 2株, *Citrobacter braakii*, *Citrobacter yaungae* および *Klebsiella pneumoniae* はそれぞれ1株であった。*Enterobacter* 属菌と *Citrobacter* 属菌は、全株が染色体性 AmpC β-ラクタマーゼ (AmpC) 産生株であった。また、第三世代セフェム系とカルバペネム系両薬剤に耐性であった *K. pneumoniae* 1株は、基質特異性拡張型 β-ラクタマーゼ (ESBL) とプラスミド性 AmpC (p-AmpC) 両者を産生した。ESBL 遺伝子は CTX-M 型、p-AmpC 遺伝子は CIT グループであった。

今回の検討成績から、各種市販食品から第三世代セフェム系薬剤耐性大腸菌群が検出されることが判明した。ESBL と p-AmpC の両者を産生する菌も認められたことから、耐性菌による食品汚染についてその動向を今後も監視する必要がある。

キーワード: 第三世代セフェム系薬剤耐性, カルバペネム系薬剤耐性, β-ラクタマーゼ, 市販食品

緒 言

従来有効であった薬剤に耐性を獲得した細菌の出現・増加が、感染症の治療や予防を困難にしている。この薬剤耐性 (AMR, Antimicrobial Resistance) の細菌が生み出される場所としては、ヒトの医療現場の他、各種抗菌剤が治療や発育促進剤として使用されている畜産の場があげられる^{1,2)}。そこで出現した耐性菌は、食肉等の食品や環境を介してヒトに伝播していくと考えられている^{3,4)}。近年、この食物連鎖由来のAMR問題は国際的な問題となっており、WHOを中心に対策が取り組まれている。我が国における食品の薬剤耐性菌汚染に関しては、食肉類を中心にサルモネラ属菌、カンピロバクターなどの食中毒起因菌や、大腸菌、腸球菌などの衛生指標菌を対象とした検討がなされてきている^{1,2, 5-8, 9)}。しかし、市販されている一般食品における薬剤耐性菌に関する報告は少ない。今回我々は、各種食品における薬剤耐性菌の汚染状況を把握する一環として、食肉以外の市販一般食品から、近年問題となっている第三世代セフェム系およびカルバペネム系薬剤耐性大腸菌群の検出を行った。検出された耐性菌については菌種を同定し、β-ラクタマーゼの産生性を検討した。

1. 材料および方法

1) 検討食品, 調査期間

東京都内で市販されていた各種食品2,844検体について検討した。その内訳は、未加熱食材を含まない「加熱済惣菜」469検体、未加熱あるいは未加熱食材を含む「未加熱惣菜」219検体、サンドイッチなどの「調理パン」61検体、「洋生菓子」189検体、「和生菓子」274検体、生菓子以外のパンやキャンデーなどを含めた「菓子類」299検体、「豆腐」80検体、野菜の「漬物」223検体、焼肉のたれ、味噌等の「調味料」156検体、イチゴやブルーベリーなどの「冷凍果実」212検体、キャベツやレタスなどの「薬物野菜」195検体、トマトやキュウリなどの「果実野菜」59検体、モヤシやカイワレ大根などの「芽物野菜」56検体、大根や人参などの「根物野菜」40検体、計350検体の「生野菜」、および上記の種類に当てはまらない粉末食品、健康食品等の「その他の食品」312検体である (表1)。検討期間は2014年1月から2015年12月の2年間である。

^a 東京都健康安全研究センター微生物部食品微生物研究科
169-0073 東京都新宿区百人町3-24-1

^b 当時 東京都健康安全研究センター微生物部食品微生物研究科

^c 東京都健康安全研究センター微生物部

表1. 市販食品からの第三世代セフェム系およびカルバペネム系薬剤耐性大腸菌群の検出状況 (2014-2015年)

食品種別	検体数	大腸菌群		耐性菌検出数 (%)		
		陽性数	(%)	セフェム系	カルバペネム系	
加熱済惣菜	469	52	(11.1)	14	(3.0)	0
未加熱惣菜	219	105	(47.9)	21	(9.6)	0
調理パン	61	19	(31.1)	3	(4.9)	0
洋生菓子	189	26	(13.8)	2	(1.1)	0
和生菓子	274	45	(16.4)	7	(2.6)	0
菓子類	299	14	(4.7)	0	0	0
豆腐	80	29	(36.3)	0	0	0
漬物	223	73	(35.4)	12	(5.4)	0
調味料	156	7	(4.5)	1	(0.6)	0
冷凍果実	212	24	(11.3)	2	(0.9)	0
生野菜*	350	330	(94.3)	29	(8.3)	1 (0.3)
その他	312	13	(4.2)	0	0	0
計	2,844	737	(25.9)	91	(3.2)	1 (0.04)

*1件からの検出菌が第三世代セフェム系およびカルバペネム系薬剤両者に耐性

2) 薬剤耐性菌の検出方法

臨床的に問題となっている腸内細菌科菌群のうち大腸菌群を対象菌として検討した。食品の10倍希釈乳剤10 mLを倍濃度のBGLB培地(栄研化学)に接種し、35°C 48時間培養後、ガス産生が認められた培養液0.1 mLを、アガートリコロール寒天培地(エルメックス)にコンラージした。表面を乾燥した後、市販の薬剤感受性試験用ディスクCTX, CAZ, MEPM, IMP(センシディスク; 日本BD)を用いて感受性試験を行い耐性菌をスクリーニングした¹⁰⁾。すなわち35°C 18-24時間培養後、ディスク周囲に認められる発育阻止帯中に発育したコロニーを推定薬剤耐性菌として釣菌し、アガートリコロール寒天培地に画線塗抹し、単一コロニーとした。アガートリコロール平板上で青紫色を示したコロニーを大腸菌、赤紫色の集落は大腸菌を除く大腸菌群と判定した。

大腸菌群および大腸菌と判定された株について次の薬剤感受性試験を行った。

3) 薬剤感受性試験

単離した菌株について、市販の最小発育阻止濃度(MIC)測定用ディスク(E-test; シスメックス・ビオメリュー)により、スクリーニングに用いた4薬剤に対するMICを測定した。耐性菌の判定はClinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)の基準¹¹⁾を考慮し、MIC値 $\geq 1 \mu\text{g/mL}$ とした。耐性株について、市販感受性試験用ディスク(センシディスク; 日本BD)を用い、クロラムフェニコール(CP), テトラサイクリン(TC), ストレプトマイシン(SM), カナマイシン(KM), アンピシリン(ABPC), スルファメトキサゾール・トリメトプリム合剤(ST), ナリジクス酸(NA), ホスホマイシン(FOM)およびノ

ルフロキサシン(NFLX)の薬剤感受性試験を実施した¹²⁾。

4) 検出耐性菌の菌種同定

検出された耐性菌については、生化学的性状およびAPI20(シスメックス・ビオメリュー)を用いて菌種を同定した。

5) β -ラクタマーゼ産生性試験

CTXおよびCAZ耐性菌については、基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ(Extended-spectrum β -lactamase: ESBL)とAmpC β -ラクタマーゼ(AmpC)の産生性を市販の検出用ディスク(AmpC/ESBL鑑別ディスク; 関東化学)で検討した。

IPMおよびMEPM耐性菌については、メタロ- β -ラクタマーゼ(MBL)の産生性を市販の検出用ディスク(メタロ- β -ラクタマーゼSMA; 栄研化学)で検討した。

6) 耐性遺伝子の検出

ESBL産生株、プラスミド性AmpC(p-AmpC)産生株、およびMBL産生株等の β -ラクタマーゼ(カルバペネマーゼ)産生が疑われる菌株について、当該遺伝子保有の有無を検討した。ESBLについては、CTX-M型ESBL遺伝子の検出とグループ分類(CTX-M-1,2,8および9グループ), およびクラスA β -ラクタマーゼのTEM型とSHV型遺伝子の検出を行い、産生する β -ラクタマーゼ型とそのグループを決定した^{13,14)}。p-AmpCについては、Pérez-Pérezらにより報告されたMultiplex PCRにより行った¹⁵⁾。MBLおよび他のカルバペネマーゼの産生性が疑われる菌株についてはIMP-1, IMP-2, VIM-2, NDM-1, KPCおよびOXA48の耐性遺伝子保有の有無について検討した¹⁶⁾。

結 果

1. 耐性菌の検出状況

4種薬剤に対する耐性菌スクリーニング試験において、いずれかの薬剤に耐性が疑われたのは9種類の食品2,153検体から得られた91菌株であった。これらの株についてMICを測定した結果、90株がCTXとCAZ両薬剤に対して耐性と判定された(MIC値分布;前者は3.0~>32 µg/mL, 後者は2.0~>32 µg/mL)。残りの1株はCTX(MIC値1.5 µg/mL), IPM(同; 8.0 µg/mL)およびMEPM(同; 3.0 µg/mL)の3剤に耐性と判定された。

食品の種類別に見た耐性菌の検出状況を表1に示した。大腸菌群陽性数が多かったものは「生野菜」330件(94.3%), 「未加熱惣菜」105件(47.9%), 「漬物」

73件(35.4%)であったが、耐性菌検出件数は「生野菜」が29件(8.3%)で最も多く、「未加熱惣菜」21件(9.6%), 「加熱済惣菜」14件(3.0%)の順であった。「菓子類」, 「豆腐」, および「その他の食品」からは耐性菌は検出されなかった。

大腸菌群陽性率が高く、耐性菌検出件数が最も多かった「生野菜」について、野菜の種類別にみた耐性菌検出状況を表2に示した。耐性菌の検出率を種類別に比較すると、「芽物野菜」が最も高く8件(14.3%), 次いで「葉物野菜」15件(7.7%), 「根物野菜」3件(7.5%), 「果実野菜」3件(5.1%)の順であった。なお、カルバペネム系薬剤耐性菌が検出された1件は「葉物野菜」のレタスであった。

表2. 市販生野菜の種類別第三世代セフェム系およびカルバペネム系薬剤耐性大腸菌群の検出状況

種別	検体数	大腸菌群		耐性菌検出数(%)	
		陽性数	(%)	セフェム系	カルバペネム系
葉物野菜*	195	185	(94.9)	15	(7.7)
果実野菜	59	54	(91.5)	3	(5.1)
芽物野菜	56	51	(91.1)	8	(14.3)
根物野菜	40	40	(100)	3	(7.5)
計	350	330	(94.3)	29	(8.3)

*1件からの検出菌が第三世代セフェム系およびカルバペネム系薬剤両者に耐性

2. 検出耐性菌の菌種

検出された耐性菌の菌種を食品別に表3に示した。検出された菌種は6種類であり、*Enterobacter cloacae*が最も多く68株(74.7%), 次いで*Citrobacter freundii*18株(19.8%), *Enterobacter asburiae*2株(2.3%), *Citrobacter braakii*, *Citrobacter yaungae*および*Klebsiella pneumoniae*がそれぞれ1株(2.5%)であり、*Escherichia coli*は分離されなかった。

どの食品からも*E. cloacae*が優位に検出されており、2菌種以上検出された「加熱済惣菜」, 「未加熱惣菜」, 「漬物」, 「生野菜」では*E. cloacae*に次いで*C. freundii*が検出された。2菌種検出された「和生菓子」では*E. cloacae*と*E. asburiae*であった。

3. 検出耐性菌の耐性パターンとβ-ラクタマーゼ産生性

菌種別にみた13薬剤に対する耐性パターンを表4にまとめた。

*E. cloacae*68株では7種類の耐性パターンが認められたが、主要なものはCTX/CAZ/ABPC(49株)とCTX/CAZ/ABPC/FOM(13株)であった。なお、カルバペネム系薬剤にも耐性であった1株のパターンはCTX/IPM/MEPM/SM/ABPC/NA/FOMであった。

*C. freundii*18株では4種類のパターンが認められた

が、主要なものはCTX/CAZ/ABPC(12株)であった。

*E. asburiae*はCTX/CAZ/SM/ABPCとCTX/CAZ/ABPCであった。*C. braakii*1株と*C. yaungae*1株のパターンはCTX/CAZ/ABPC, *K. pneumoniae*1株のパターンはCTX/CAZ/TC/ABPCであった。

β-ラクタム系薬剤のABPCおよびCTXには全株が耐性であり、CAZの耐性も90株(98.9%)を占めβ-ラクタム系薬剤に対する耐性率は検出された菌種全てで高率であった。

β-ラクタマーゼ産生性を検討した結果、全株がAmpC産生株であった。また、*K. pneumoniae*1株(ECG14-87)はESBLとAmpCの両者を産生した。本菌種は染色体上にAmpC産生遺伝子を有しないため、プラスミド性AmpC産生株と判定したが*E. cloacae*1株(ECG15-47)はセフェム系に加えてカルバペネム系薬剤にも耐性を示したことからMBL産生性についても検討したが非産生であった。

表3. 市販食品から検出された第三世代セフェム系およびカルバペネム系薬剤耐性大腸菌群の菌種

食品種別	耐性菌検出数	耐性菌の菌種	(検出数)
加熱済惣菜	14	<i>Enterobacter cloacae</i>	(11)
		<i>Citrobacter freundii</i>	(2)
		<i>Enterobacter asburiae</i>	(1)
未加熱惣菜	21	<i>Enterobacter cloacae</i>	(20)
		<i>Citrobacter freundii</i>	(1)
調理パン	3	<i>Enterobacter cloacae</i>	(3)
洋生菓子	2	<i>Enterobacter cloacae</i>	(2)
和生菓子	7	<i>Enterobacter cloacae</i>	(6)
		<i>Enterobacter asburiae</i>	(1)
漬物	12	<i>Enterobacter cloacae</i>	(8)
		<i>Citrobacter freundii</i>	(3)
		<i>Citrobacter braakii</i>	(1)
調味料	1	<i>Enterobacter cloacae</i>	(1)
冷凍果実	2	<i>Enterobacter cloacae</i>	(2)
生野菜	29	<i>Enterobacter cloacae</i>	(15)*
		<i>Citrobacter freundii</i>	(12)
		<i>Citrobacter yaungae</i>	(1)
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	(1)

*1株がセフェム系およびカルバペネム系薬剤両者に耐性

表4. 市販食品から検出された第三世代セフェム系およびカルバペネム系薬剤耐性大腸菌群の菌種別薬剤耐性パターンおよびβ-ラクタマーゼ産生性

菌種	耐性株数	薬剤耐性パターン*	(株数)	β-ラクタマーゼ	(株数)
<i>Enterobacter cloacae</i>	68	CTX/CAZ/ABPC	(49)	AmpC	(68)
		CTX/CAZ/ABPC/FOM	(13)		
		CTX/CAZ/SM/ABPC	(2)		
		CTX/IPM/MEPM/SM/ABPC/NA/FOM	(1)		
		CTX/CAZ/TC/SM/ABPC/NA/NFLX	(1)		
		CTX/CAZ/SM/ABPC/NA/FOM	(1)		
		CTX/CAZ/TC/ABPC	(1)		
<i>Citrobacter freundii</i>	18	CTX/CAZ/ABPC	(12)	AmpC	(18)
		CTX/CAZ/ABPC/NA	(4)		
		CTX/CAZ/SM/ABPC/ST	(1)		
<i>Enterobacter asburiae</i>	2	CTX/CAZ/SM/ABPC	(1)	AmpC	(2)
		CTX/CAZ/ABPC	(1)		
<i>Citrobacter braakii</i>	1	CTX/CAZ/ABPC	(1)	AmpC	(1)
<i>Citrobacter yaungae</i>	1	CTX/CAZ/ABPC	(1)	AmpC	(1)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	CTX/CAZ/TC/ABPC	(1)	ESBL+AmpC	(1)

* 供試薬剤：CTX, CAZ, IPM, MEPM, CP, TC, SM, KM, ABPC, ST, NA, FOM, NFLX

4. 耐性遺伝子の検出

ESBL と p-AmpC の両者を産生すると判定された *K. pneumoniae* ECG14-87 株について、PCR により当該遺伝子の検出およびグループ分類を行った。その結果、ESBL 遺伝子は CTX-M 型の CTX-M-9 グループ、p-AmpC 遺伝子は CIT グループであることが判明し、両β-ラクタマーゼ産生遺伝子の保有が確認された。セフェム系およびカルバペネム系薬剤両者に耐性であった *E. cloacae* ECG15-47 株についても MBL を含めた 6 種類のカルバペネマーゼ産生遺伝子の検出を試みたが、いずれの保有も認められなかった。

考 察

近年問題となっている薬剤耐性菌としては、第三世代のセフェム系薬剤にまで耐性を示す ESBL 産生菌、およびセフェム系薬剤だけでなくカルバペネム系薬剤にも耐性を示す MBL 産生菌が挙げられる^{17,18)}。また、ESBL 産生菌と同様の耐性を示す AmpC 産生菌の当該遺伝子は、*Enterobacter* 属菌、*Citrobacter* 属菌、*Morganella morganii*、*Hafnia alvei* など特定の菌種の染色体上に認められる¹⁵⁾が、これらの染色体遺伝子に由来するプラスミド性遺伝子を保有する菌が増加傾向にあり問題視されている¹⁹⁾。

米国 CDC は2013年に薬剤耐性の脅威として18の課題を挙げ、その中の食品関連の耐性菌としては、「耐性カンピロバクター」、「耐性サルモネラ」などの食中毒起因菌に加え、「ESBL 産生性腸内細菌」、「カルバペネム耐性腸内細菌」が含まれている²⁰⁾。我が国においても、2014年9月19日付の感染症法施行規則改定により、5類全数把握疾患に「カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症」が追加された。

これまで鶏肉などの食肉について ESBL 産生性腸内細菌を検討した報告は散見される^{7,8,21,22)}が、一般食品を検討した報告は少ない。そこで一般食品での検討のために BGLB 培地でガスを産生した培養液を酵素基質培地に塗抹し、薬剤感受性試験用のディスクを用いたスクリーニング法を考案した。

第三世代セフェム系薬剤としては、CTX-M 型 ESBL 産生菌は CTX に耐性を示し、TEM 型や SHV 型 ESBL 産生菌は CAZ に耐性を示すことより¹⁷⁾、今回はスクリーニングに CTX と CAZ の両薬剤を用いた。またカルバペネム系薬剤としては IPM に加えて、近年 IPM には耐性を示さず MEPM には耐性を示す腸内細菌（ステルス型と呼ばれる）のヒトからの検出が報告されている²³⁾ことから MEPM もスクリーニングに用いた。

今回 2,844 検体の食品について検討した結果、91 件 (3.2%) から第三世代セフェム系薬剤耐性菌が検出され、その内の 1 件はカルバペネム系薬剤にも耐性であった。一般食品の種類別に耐性菌の検出状況を見ると、「未加

熱惣菜」は 21 件 (9.6%) から「調理パン」は 3 件 (4.9%) から「漬物」は 12 件 (5.4%) から「生野菜」は 29 件 (8.3%) から検出され、食品からの検出率としては高率であった。これらは、大腸菌群の陽性率も高い食品が多く、未加熱調理品や未加熱食材が含まれることや製造過程における汚染などが原因の一つと考えられる。このため薬剤耐性菌の汚染率を減少させるためには、衛生的な食材を使用することや、製造過程における細菌汚染を可能な限り少なくすることが重要と考えられた。

検出耐性菌の菌種と β-ラクタマーゼ産生性をみると、*Enterobacter* 属菌および *Citrobacter* 属菌は染色体性の AmpC 産生菌と報告されており^{15,19,24)}、今回検出した 90 株も染色体上に耐性遺伝子を有するものと考えられた。

K. pneumoniae ECG14-87 株は ESBL と p-AmpC の両者を産生すると判定され、前者は鶏肉由来株等からの検出報告が多い CTX-M 型の CTX-M-9 グループ遺伝子^{8,9,21)}、後者は *C. freundii* 由来で最も広く分布するとされる CIT グループの遺伝子^{15,19)}を保有することが確認された。なお、本菌は「芽物野菜」の紅タゲ（刺し身のつまなどに用いられる）から検出された。同じく「葉物野菜」のレタスから検出されたセフェム系に加えてカルバペネム系薬剤にも耐性であった *E. cloacae* ECG15-47 株は、AmpC の産生性は確認されたが、検討した範囲ではカルバペネム系薬剤耐性に関与する β-ラクタマーゼ産生遺伝子の保有は認められなかった。耐性因子として、染色体性 AmpC の過剰産生、外膜ポーリンタンパク質の欠損、薬剤排出ポンプの過剰な発現等が考えられる²⁵⁾が、これらの点については更に検討を加えたい。

今回の検討成績から、食肉類以外の一般食品からも、第三世代セフェム系薬剤耐性菌が検出されることが判明した。カルバペネム系薬剤耐性菌も 1 件から検出され、今後動向を注目する必要があるものと考えられた。ESBL と p-AmpC の両者を産生する菌も 1 株検出され、今後も耐性菌による食品汚染について監視の必要があるものと考えられた。

ま と め

東京都内で市販されている各種一般食品から第三世代セフェム系およびカルバペネム系薬剤耐性菌について検討した。

2014年から2015年の2年間に2,844検体の食品について検討した結果、第三世代セフェム系薬剤耐性菌は91件(3.2%)から検出され、その内の1件はカルバペネム系薬剤にも耐性であった。食品の種類別検出状況をみると、「加熱済惣菜」469検体中14件(3.0%)、「未加熱惣菜」219検体中21件(9.6%)、「調理パン」61検体中3件(4.9%)、「洋生菓子」189検体中2件(1.1%)、「和生菓子」274検体中7件(2.6%)、「漬物」223検体中12件(5.4%)、「調味料」156検体中1件(0.6%)、「冷凍果実」212検体中2件(0.9%)、および「生野菜」350検体中29件(8.3%)であった。「菓子類」299検体、「豆腐」8検体、「その他の食品」312検体からは検出されなかった。

検出された耐性菌の菌種は *E. cloacae* が68株、*C. freundii* 18株、*E. asburiae* 2株、および *C. braakii*、*C. yaungae*、*K. pneumoniae* がそれぞれ1株であった。これらの株のβ-ラクタマーゼ産生性を検討した結果、全ての株はAmpC産生株であった。また、*K. pneumoniae* 1株はESBLとp-AmpCの両者を産生した。

今回の検討成績から、各種一般食品からも第三世代セフェム系薬剤耐性菌が検出されることが明らかとなった。

文 献

- 1) 高橋敏雄, 浅井鉄夫, 小島明美, 他: 感染症誌, **80**, 185-195, 2006.
- 2) 田村 豊: モダンメディア, **61**, 161-168, 2015.
- 3) 泉谷秀昌: 日食微誌, **31**, 57-62, 2014.
- 4) 臼井 優, 田村 豊: 臨床と微生物, **42**, 361-366, 2015
- 5) 川森文彦, 久島昇平, 有田世乃, 他: 日食微誌, **21**, 131-137, 2004.
- 6) 藤尾公輔, 清水 晃, 松村浩介, 他: 日食微誌, **24**, 100-106, 2007.
- 7) 松本裕子, 泉谷秀昌, 山田三紀子, 他: 日食微誌, **27**, 27-33, 2010.
- 8) 加藤 玲, 松下 秀, 下島優香子, 他: 感染症誌, **89**, 46-52, 2015.
- 9) 松下 秀, 神 眞知子, 磯貝スエ子, 他: モダンメディア, **54**, 202-209, 2008.
- 10) 服部絹代, 高橋由美, 森本敬子, 他: 食品衛生研究, **56** (10) 31-34, 2006.
- 11) Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 20th Informational Supplement M100-S20. CLSI, Wayne, PA, 2010.
- 12) Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial disk Susceptibility Tests

M100-S21. CLSI, Wayne, PA, 2011.

- 13) Yagi, T., Kurokawa, H., Shibata, *et al.*: *FEMS Microbiol. Lett.*, **184**, 53-56, 2000.
- 14) Shibata, N., Kurokawa, H., Doi, Y., *et al.*: *Antimicrob. Agents Chemother.*, **50**, 791-795, 2006.
- 15) Pérez-Pérez, F., J. and Hanson, N., D.: *J. Clin. Microbiol.*, **40**, 2153-2162, 2002.
- 16) 松井真理, 鈴木里和, 鈴木仁人, 他: *IASR*, **35**, 285-287, 2014.
- 17) 石井良和: 臨床と微生物, **42**, 291-296, 2015. .
- 18) 荒川宜親: 臨床と微生物, **42**, 297-304, 2015.
- 19) 山崎勝利, 小松 方, 福田砂織, 他: 日臨微生物誌, **23**, 194-202, 2013.
- 20) Centers for Disease Control and Prevention: Antibiotic Resistance Threats in the United States, 2013. Atlanta, the United States, 2013.
- 21) 石原ともえ, 古川一郎, 黒木俊郎, 他: 日食微誌, **28**, 123-127, 2011.
- 22) 麻生嶋七美, 松田正法, 本田己喜子, 他: 日食微誌, **29**, 215-220, 2012.
- 23) Kayama, S., Shigemoto, N., Kuwahara, R., *et al.*: *Lab. Med.*, **33**, 383-385, 2013.
- 24) Mezzatesta, ML., Gona, F. and Stefani, S.: *Future Microbiol* **3**, **7**(7), 887-902, 2012.
- 25) 荒川宜親: *IASR*, **35**, 283-284, 2014.

Detection of Coliforms Resistant to Third-Generation Cephems and Carbapenems in Commercially Available Foods in Tokyo (2014-2015)

Rei KATOH^a, Yasunori SUZUKI^a, Konomi MURAUCHI^a, Makiko KOBAYASHI^a, Satomi UEHARA^a,
Yoko HIGUCHI^a, Shigeru MATSUSHITA^a, Akihiko HIRAI^a and Kenji SADAMASU^a

The purpose of this study was to investigate the occurrence of third-generation cephe- or carbapenem-resistant coliforms in foods distributed within Tokyo.

Antimicrobial susceptibility was tested using the Kirby Bauer disk diffusion method, whereby 1 ml of an enrichment broth containing each food sample was spread on a Magenta-Gal-X-GLUC agar. We used the third-generation cephe- cefotaxime (CTX) and ceftazidime (CAZ), and the carbapenems imipenem (IPM) and meropenem (MEPM). Isolates that were resistant to any of these were subjected to phenotypic and molecular biological methods to identify the bacterial species and to test the chemical sensitivity of β -lactamase-producing strains.

In total, 91 antibiotic-resistant strains were isolated from 2,844 food samples, 90 of which had resistance to the third-generation cephe-. These isolates were classified into six species: *Enterobacter cloacae* (68 isolates), *Citrobacter freundii* (18), *Enterobacter asburiae* (2), *Citrobacter braakii* (1), *Citrobacter yaungae* (1), and *Klebsiella pneumoniae* (1).

All of these strains harbored a chromosomal *ampC* gene.

The remaining isolate had resistance to both the third-generation cephe- and the carbapenems. This isolate was identified as *Klebsiella pneumoniae* and harbored both an extended-spectrum β -lactamase (ESBL) gene of the CTX-M-9 type and a plasmid-mediated *ampC* gene (*p-ampC*) belonging to the CIT group. Thus, we demonstrated that third-generation cephe-resistant coliforms contaminated foods distributed within Tokyo, and an isolate that harbored both ESBL and *p-ampC* genes was also detected in food. Therefore, it will be necessary to continue to closely monitor the spread of foods contaminated with such antibiotic-resistant bacteria.

Keywords: third-generation cephe- resistance, carbapenems resistance, β -lactamases, commercially available foods

^a Tokyo Metropolitan Institute of Public Health,
3-24-1, Hyakunin-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 169-0073, Japan

