

食品由来大腸菌の下痢原性に関与する病原遺伝子の保有状況と薬剤耐性

上原 さとみ^a, 松下 秀^b, 鈴木 康規^a, 小林 真紀子^a, 加藤 玲^a, 村内 このみ^a, 樋口 容子^a, 吉原 祥子^a,
小西 典子^a, 高橋 由美^a, 千葉 隆司^c, 平井 昭彦^a, 貞升 健志^d

2007年から2014年に一般食品より分離された大腸菌について、下痢原性に関与する病原遺伝子とプラスミド媒介性キノロン耐性遺伝子の保有率及び薬剤感受性を調べた。病原遺伝子及びキノロン耐性遺伝子は、PCR法又はリアルタイムPCR法により検索し、薬剤感受性試験は、CP, TC, SM, KM, ABPC, ST, NA, FOM, NFLX, CTX, CAZ, IPM及びMEPMの13薬剤について実施した。

供試した277株中45株の大腸菌が*stx2*, *astA*又は*eae*いずれかの病原遺伝子を保有し、内訳は*stx2*保有1株, *astA*保有37株, *eae*保有6株, *astA*と*eae*の重複保有が1株であった。プラスミド媒介性キノロン耐性遺伝子を保有していた大腸菌は4株で、内訳は*qnrS*保有が2株, *oqxA*と*oqxB*保有が2株であった。薬剤感受性試験の結果、1剤以上の薬剤に耐性を示した大腸菌は40株であった。薬剤別耐性率はTC (8.7%), ABPC (7.2%), SM (5.1%) の順に高かった。近年問題となっている第3世代セファロスポリン系薬剤及びカルバペネム系薬剤耐性菌は検出されなかったが、NFLX耐性菌が2011年と2013年に1株ずつ検出された。一般食品においても、下痢原性に関与する病原遺伝子やプラスミド媒介性キノロン耐性遺伝子を保有する大腸菌及びフルオロキノロン系薬剤耐性大腸菌が分布していることが判明し、今後もこれらの動向を注視する必要があるものと考えられた。

キーワード：下痢原性大腸菌, 薬剤感受性, *astA*, フルオロキノロン系薬剤耐性菌, プラスミド媒介性キノロン耐性 (PMQR) 遺伝子

はじめに

一般食品の検査において、大腸菌は糞便汚染の指標菌として検査され、食品の規格違反や衛生指導の際に用いられている。ヒトに病原性を示す大腸菌は下痢原性大腸菌と総称され、病原性を起こす機序に基づき、腸管出血性大腸菌 (EHEC), 腸管病原性大腸菌 (EPEC), 腸管侵入性大腸菌 (EIEC), 腸管毒素原性大腸菌 (ETEC), 腸管凝集接着性大腸菌 (EAggEC) の5つに大別される¹⁾。これらの大腸菌の下痢原性には、ベロ毒素等の毒素産生遺伝子や*invE*等の組織侵入性遺伝子に関与している。

また、食品由来の細菌については薬剤耐性化が問題となっており、食肉由来大腸菌の薬剤感受性試験については、これまでも多くの報告がある²⁾。しかしながら、食肉を除いた一般食品由来大腸菌の薬剤耐性を検討した報告は少ないことから、その実態は不明である。

そこで、一般食品由来大腸菌について下痢原性に関与する病原遺伝子の保有率と薬剤感受性を調査した。

さらに、これまでキノロン系薬剤耐性機構は染色体上の変異に関与し、耐性遺伝子は伝播しないと考えられてきたが、近年、プラスミド上にコードされるキノロン耐性遺伝子が存在し、菌種間で伝播することが報告されている³⁾。

そこで、薬剤耐性株についてはプラスミド媒介性キノロン

耐性遺伝子 (以下、PMQR遺伝子) のスクリーニングを併せて行った。

実験方法

1. 試料

2007年から2014年に東京都内に流通する生野菜、惣菜類、弁当類、豆腐及び漬物等の一般食品から分離された大腸菌277株を対象とした (表1)。

表1. 大腸菌を分離した食品と株数

食品分類	株数
生野菜	216
弁当	17
豆腐	14
未加熱惣菜	12
漬物	10
食肉加工品	3
洋生菓子	2
加熱済惣菜	1
調理パン	1
味噌	1
合計	277

^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ウイルス研究科

^d 東京都健康安全研究センター微生物部

2. 下痢原性に関与する病原遺伝子の保有状況

下痢原性に関与する病原遺伝子は、*stx1*, *stx2*, *lt*, *stp*, *sth*, *invE*, *astA*, *aggR*, *eae* 及び *bfpA* について、既報^{4,7)}のプライマーを使用し、以下の条件で PCR 法又はリアルタイム PCR 法を行った。DNA は保存株からアルカリ熱抽出法又は Lyse and Go PCR Reagent (Thermo Fisher Scientific) により抽出した。PCR 法は GeneAmp® PCR System 9700 (Thermo Fisher Scientific) を用いて 95°C, 30 秒, 55°C, 30 秒, 72°C, 30 秒で 30 サイクル実施した。得られた増幅産物を 2%アガロースゲルで電気泳動を行い、特異的なバンドを確認して遺伝子の有無を調べた。リアルタイム PCR 法は 7500 Real Time PCR System (Thermo Fisher Scientific) を用いて、TaqMan®プローブ法により、95°C, 15 秒, 60°C, 60 秒で 40 サイクル実施し、閾値を超えるものを確認した。

3. 血清型別試験

市販の病原大腸菌診断用血清 (デンカ生研) を用いて O 群血清型別試験を行った。下痢原性に関与する病原遺伝子を保有していた大腸菌のうち、O 抗原が決定した株については、病原大腸菌免疫血清 (デンカ生研) を用いて H 抗原の型別試験を行った。

4. 薬剤感受性試験

米国 CLSI 抗菌薬ディスク感受性試験実施基準に基づいて試験を行った⁸⁾。供試薬剤は、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), ノルフロキサシン (NFLX), セフォタキシム (CTX), セフトジジム (CAZ), イミペネム (IPM) 及びメロペネム (MEPM) の13薬剤である。

5. プラスミド媒介性キノロン耐性遺伝子の保有状況

薬剤耐性株の検索は、9種類のPMQR遺伝子 (*qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD*, *qnrS*, *qepA*, *oqxA*, *oqxB*, *aac*) についてChenらの報告⁹⁾に従い、PCR法により実施した。

結果及び考察

1. 下痢原性に関与する病原遺伝子の保有状況

供試した277株中45株 (16.2%) が *stx2*, *astA* 又は *eae* ใดかの病原遺伝子を保有していた。内訳は *stx2* 保有株が1株 (0.4%), *astA* 保有株が38株 (13.7%), *eae* 保有株が7株 (2.5%) であった (*astA* と *eae* の重複保有1株を含む)。その他の病原遺伝子は保有していなかった (表2)。

これらの病原遺伝子を保有する大腸菌は、生野菜から最も多く分離され、*stx2* 保有株が1株、*astA* 35株、*eae* 6株であった。その他は、漬物と未加熱惣菜から *astA* がそれぞれ2株と1株、弁当から *eae* が1株であった。

今回調査した病原遺伝子の中では、*astA* 保有大腸菌 (13.7%) が最も多かった。*astA* は下痢原性大腸菌の中でも EHEC, EAggEC, ETEC 及び EPEC において広く保有されていることが報告されている¹⁰⁾。Toshimaら¹¹⁾によると、我が国における食品由来大腸菌の *astA* 保有率は食肉製品由来では29.6%, 農産物由来では4.4%, 水産物由来では6.3% など由来により異なっている。今回、我々の調査では農産物由来株よりは高かったものの、食肉由来株よりは低く、特別に高い保有率とは認められなかった。我々の調査では、*astA* 保有大腸菌の92%は生野菜から分離されたが、*astA* を保有する大腸菌はヒトから食品まで幅広く分布しており^{10,11)}, *astA* と下痢症との関連性はいまだ明らかになっていない。

次に多かった下痢原性関与遺伝子は *eae* の7株 (2.5%) であった。食品由来大腸菌の *eae* 保有率は、乳製品由来が1.3%¹²⁾, 野菜由来が11.1%¹³⁾ と報告されており、今回の保有率も同等であった。*eae* は EHEC における保有率が高く、*stx* と同時に検出される場合が多く、*eae* 単独の食中毒事例は少ない。今回検出した *eae* 保有大腸菌は、*stx* を保有していないため、食中毒を引き起こす可能性は低いと考えられる。

stx2 保有大腸菌は国産もやしから1株検出されたが、その他の下痢原性に関与する病原遺伝子は保有していなかった。

厚生労働省が毎年実施している食中毒汚染実態調査では、生食用野菜や漬物用野菜の腸管出血性大腸菌の検査を実施しているが、これまでに一度も検出されていない。したがって、市場に流通している国産の生野菜が腸管出血性大腸菌に汚染されている確率は極めて低いと考えられる。しかし、2011年のドイツを中心とした芽物野菜を原因とする腸管出血性大腸菌 O104 による大規模食中毒事件¹⁴⁾ や、2012年の北海道における白菜漬物を原因とする腸管出血性大腸菌 O157 による食中毒事件¹⁵⁾ のように、ひとたび汚染されると、深刻な被害を及ぼす可能性が高いことから、今後も継続的な調査が必要である。

表2. 大腸菌の下痢原性関与遺伝子の保有状況

食品分類	<i>stx2</i>	<i>astA</i>	<i>eae</i>
生野菜	1	35*	6*
弁当			1
豆腐			
未加熱惣菜		1	
漬物		2	
食肉加工品			
洋生菓子			
加熱済惣菜			
調理パン			
味噌			
合計	1	38	7

**astA* と *eae* の重複保有1株を含む

国立感染症研究所感染症情報センターの病原体検出情報システムにおいて、これまでEPECはO血清群による分類で判定されていたが、2012年から「付着に密接に関連する*eae*陽性でST/LT/VTを持たない大腸菌」と定義され、またEAggECを「*aggR*遺伝子陽性でST/LT/VTを持たない大腸菌」として追加する見直しが行われた¹⁶⁾。このように大腸菌の病原遺伝子保有の有無を調査する必要性が増加していることから、今後も病原遺伝子を調査して基礎的データを蓄積することが重要である。これにより、これまで不明であった*eae*や*aggR*の単独保有大腸菌を原因とする下痢症の動向の解明に寄与するものと考えられる。

2. 血清型別試験

277株のうち68株 (24.5%) は、31の血清群に分類された (表3)。多く分離された血清群は、O18群が9株、O8群が7株、O128群とO159群が5株ずつ、O6群、O25群、O103群、O119群及びO169群がそれぞれ3株ずつであった。その他27株がさらに、O1群; 1株、O112ac群; 1株、O114群; 1株、O124群; 1株、O126群; 2株、O127a群; 1株、O136群; 1株、O142群; 1株、O143群; 1株、O144群; 1株、O146群; 1株、O148群; 1株、O15群; 1株、O151群; 1株、O166群; 2株、O26群; 1株、O27群; 1株、O63群; 1株、O74群; 2株、O78群; 1株、O86a群; 2株、O91群; 2株の計22群に分類された。

病原遺伝子保有株では45株のうち13株 (28.9%) がO群血清型別可能であり、12の血清群に分類された (表4)。これらの株はH型別も実施したが、O群とH型別の組み合わせで下痢症患者由来大腸菌でよく見られる血清型に決まるものは少なかった。

O血清群ごとの病原遺伝子保有状況では、OUTが31株 (*astA*:27株, *eae*:4株) と最も多く、次にO119:H21が2株 (*astA*:1株, *eae*:1株) で、それ以外の血清型では*astA*又は*eae*のいずれかを保有する株が各1株であった。このうちO128:H2は*astA*と*eae*両遺伝子を保有していた。また、

*stx2*保有大腸菌はOUT:H8であった。

橋田ら¹⁷⁾の調査では、食品由来大腸菌159株のうち51株 (32.1%) がO群血清型別可能であり、22血清群に分類されている。下痢原性大腸菌でよくみられるO血清群への偏りがなく、様々な血清型に分布している点で、我々の結果も同様の傾向を示した。

*astA*保有大腸菌が原因とみられる集団食中毒事例は、1996年の大阪市をはじめとして国内で少なくとも8事例発生しており、このうち5事例はO166:H15が原因菌と推定されている^{18,19)}。今回検出した*astA*保有大腸菌のO血清群は、38株中27株が市販の病原大腸菌診断用血清では型別不能であり、血清型別が可能であった11株からもO166は検出されなかった。*astA*は様々な血清型の大腸菌から検出され、食中毒事例のような特定のO血清群への偏りは見られず、血清型と病原遺伝子の保有状況の間に明確な関連性は見られなかった。これは、散发下痢症患者由来の*astA*保有大腸菌と同様の傾向であった¹⁰⁾。

3. 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験の結果、1剤以上の薬剤に耐性を示した大腸菌は277株中40株 (14.4%) であった (表5)。各薬剤別の耐性率は、TC (8.7%)、ABPC (7.2%)、SM (5.1%)、ST (3.2%)、CP (2.5%)、NA (2.5%)、KM (1.8%)、NFLX (0.7%)、FOM (0.4%) の順であった。耐性薬剤数は、1剤耐性が20株、2剤耐性が7株、3剤耐性が5株、4剤耐性が3株、5剤耐性が2株、6剤耐性が3株であり、2剤以上に耐性を示した多剤耐性株は20株であった。多剤耐性のパターンは、TC及びSMの2剤耐性が最も多く5株であった。近年、耐性化が問題となっている第3世代セファロsporin系薬剤のCTX及びCAZや、カルバペネム系薬剤のIPM及びMEPMに耐性を示す株は認められなかった。フルオロキノロン系薬剤のNFLX耐性菌は、2011年及び2013年に生野菜から1株ずつ分離された。

表3. 食品由来大腸菌のO血清群

血清型	株数
O18	9
O8	7
O128	5
O159	5
O6	3
O25	3
O103	3
O119	3
O169	3
その他 (22群)	27
OUT	209
合計	277

表4. 食品由来大腸菌の血清型別の遺伝子保有状況

血清型		株数	遺伝子保有株数		
O	H		<i>stx2</i>	<i>astA</i>	<i>eae</i>
O15	H7	1		1	
O26	UT	1			1
O63	H12	1		1	
O86a	H19	1		1	
O91	H28	1		1	
O103	H16	1		1	
O119	H21	2		1	1
O124	H19	1		1	
O126	UT	1		1	
O128	H2	1		1	1
O143	UT	1		1	
O159	H19	1		1	
UT	NT	31		27	4
UT	H8	1	1		
合計		45	1	38	7

UT: 市販抗血清に凝集せず NT: 試験せず

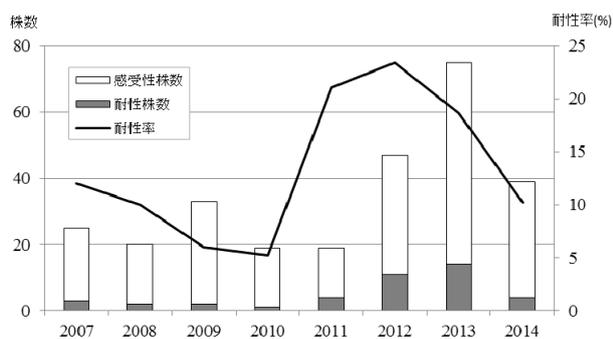


図1. 食品由来薬剤耐性菌の年次別出現状況

薬剤耐性菌の年次別出現状況を図1に示す。薬剤耐性菌の割合は2010年までは減少傾向であったが、2011年を境に上昇し、再び2013年から減少傾向に転じていた。一方、年次別の耐性薬剤数を見ると、2010年までは1剤又は2剤耐性であったが2011年以降は3剤以上の薬剤に耐性を示す大腸菌が出現した(図2)。耐性菌の出現率は減少しているものの、多剤耐性化の傾向が明らかになった。

薬剤耐性菌が分離された食品を分類別に見ると、生野菜216株中33株(15.3%)、弁当17株中3株(17.6%)、未加熱惣菜12株中2株(16.7%)、漬物10株中1株(10.0%)、食肉加工品は3株中1株(33.3%)であった(表6)。株数の少なかった食肉加工品を除き、耐性菌の検出率は食品分類による偏りはなかった。

海外では、東南アジアの鶏肉由来大腸菌の48.8%がフルオロキノロン系薬剤に耐性を示す報告²⁰⁾や、東南アジアの薬物野菜から第3世代セファロスポリン系薬剤に100%、フルオロキノロン系薬剤に83%もの高い割合で耐性を示す大腸菌が分離されている報告²¹⁾もある。今回の調査では、第3世代セファロスポリン系薬剤に耐性を示す株は検出され

表5. 大腸菌の食品分類別薬剤耐性パターン

耐性薬剤数	食品分類	株数	耐性パターン
1剤	野菜	7	TC
		1	SM
		4	ABPC
		1	NA
		1	FOM
	漬物	1	TC
	弁当	3	ABPC
未加熱惣菜	2	NA	
2剤	野菜	5	TC, SM
		2	TC, ABPC
3剤	野菜	1	ABPC, NA, NFLX
		1	TC, ABPC, ST
		1	SM, NA, NFLX
		1	CP, TC, ABPC
		1	SM, ABPC, ST
4剤	野菜	1	TC, SM, ABPC, ST
		1	CP, TC, KM, ABPC
5剤	野菜	1	SM, ABPC, ST, NA
		1	CP, TC, KM, ST, NA
6剤	野菜	1	CP, TC, SM, ABPC, ST
		3	CP, TC, SM, KM, ABPC, ST
合計		40	(14.4%)

*CTX, CAZ, IPM及びMEMに対して耐性を示した株はなかった

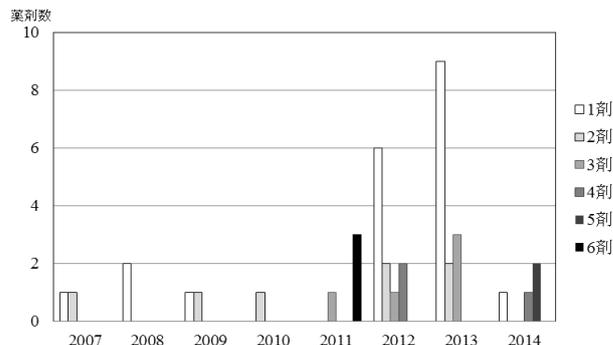


図2. 食品由来大腸菌の年次別耐性薬剤数

なかったものの、国産のもやしとベビーリーフからフルオロキノロン系薬剤耐性菌が1株ずつ検出されている。一般食品においても、耐性菌の動向については今後とも注視していく必要がある。

4. プラスミド媒介性キノロン耐性遺伝子の保有状況

薬剤耐性大腸菌40株についてPMQR遺伝子の保有状況を調べたところ、いずれかの遺伝子を保有していたのは4株(1.4%)であった。内訳は、*qnrS*保有株が2株(0.7%)、*oqxA*及び*oqxB*保有株が2株(0.7%)で、それ以外の*qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD*, *qepA*及び*aac*は保有していなかった。耐性遺伝子を保有していた大腸菌は、弁当由来が1株、生野菜由来が3株であった。PMQR遺伝子保有株のうち、2株は5剤の薬剤に耐性であり、キノロン系のナリジクス酸には感受性株が1株、中間が2株、耐性が1株であった。フルオロキノロン系のノルフロキサシンには感受性が3株、中間が1株であった。

海外においても、野菜由来大腸菌のPMQR遺伝子保有率が1.4%²²⁾との報告があり、今回とほぼ同等の結果であった。

Hanら²³⁾によると、臨床由来のESBL産生大腸菌の6.8%がPMQR遺伝子を保有しており、ESBL遺伝子とPMQR遺伝子はともにプラスミド上に存在することから、細菌間の接合により同時に伝播する可能性が報告されている。今回調査した薬剤耐性株にESBL産生大腸菌はなく、PMQR遺伝子保有率も全体の1.4%と少なかった。しかし、プラスミド上に存在する耐性遺伝子は容易に水平伝播する可能性があることから、食品由来大腸菌においても多剤耐性化のリスク要因として、調査を継続することが重要であると考えられた。

表6. 食品別薬剤耐性菌分離数

食品分類	供試株数	耐性株数	耐性率(%)
生野菜	216	33	15.3
弁当	17	3	17.6
豆腐	14		
未加熱惣菜	12	2	16.7
漬物	10	1	10.0
食肉加工品	3	1	33.3
洋生菓子	2		
加熱済惣菜	1		
調理パン	1		
味噌	1		
合計	277	40	14.4

ま と め

一般食品由来大腸菌の277株中45株 (16.2%) が, 下痢原性に関与する病原遺伝子を保有し, 最も多かったのは *astA* 保有株が38株 (13.7%) であった. O血清群は, 277株のうち68株 (24.5%) が型別可能であり, 最も多かったのはO18で9株であった. しかしながら *astA* 保有大腸菌の血清型と病原遺伝子の保有状況に, 明確な関連性は認められなかった. また, 薬剤耐性を示した大腸菌は40株 (14.4%) で, 第3世代セファロスポリン系薬剤や, カルバペネム系薬剤に耐性を示す株は認められなかったが, フルオロキノロン系薬剤のNFLX耐性菌が2株検出された. 薬剤耐性株のPMQR遺伝子の保有状況は, *qnrS* 保有が2株, *oqxA* と *oqxB* 保有が2株であった. PMQR遺伝子は, プラスミドにより水平伝播することから, 今後も耐性遺伝子や耐性菌の動向を注視する必要があると考えられた.

文 献

- 1) Strockbine, N. A., Bopp, C. A., Fields, P. I., *et al.*: *Manual of Clinical Microbiology*, Jorgensen, J. H., Pfaller, M. A., Carroll, K. C., *et al.*, vol.1, 11th Edition, 685-713, 2015, ASM Press, VA.
- 2) 松下 秀, 神 眞知子, 磯貝スエ子, 他: モダンメディア, **54**(7), 202-209, 2008.
- 3) Martínez-Martínez, L., Pascual, A. and Jacoby, G.A.: *Lancet*, **351**, 797-799, 1998.
- 4) Westa, D.M., Springsb, K.A., Cassarb, C., *et al.*: *Vet Microbiol*, **122**(3-4), 323-331, 2007.
- 5) 河野喜美子, 山田 亨, 八木利 喬, 他: 感染症学雑誌, **72**(12), 1275-1281, 1998.
- 6) Schmidt, H., Plaschke, B., Franke, S., *et al.*: *Med Microbiol Immunol*, **183**(1), 23-31, 1994.
- 7) 塚本定三: 感染症学雑誌, **70**(6), 569-573, 1996.
- 8) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Nineteenth Informational Supplement (M100-S24), 2014, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA.
- 9) Chen, X., Zhang, W., Pan, W. *et al.*: *Antimicrob Agents Chemother*, **56**(6), 3423-3427, 2012.
- 10) Savarino, S. J., McVeigh, A., Watson, J., *et al.*: *J Infect Dis*, **173**, 1019-1022, 1996.
- 11) Toshima, H., Uenaka, E., Bi, Y., *et al.*: *J Food Prot*, **67**(10), 2117-2122, 2004.
- 12) Ame'zquita-Montes, Z., Tamborski, M., Kopsombut, U.G., *et al.*: *Foodborne Pathog Dis*, **12**(5), 454-461, 2015.
- 13) Skočková, A., Karpíšková, R., Koláčková, I., *et al.*: *Int J Food Microbiol*, **167**(2), 196-201, 2013.
- 14) Rubino, S., Cappuccinelli, P., and Kelvin, D. J.,: *J Infect Dev Ctries*, **5**(6), 437-440, 2011.
- 15) 坂本裕美子, 廣地敬, 大西麻実: 札幌市衛生研究所年報, **40**, 84-85, 2013.
- 16) 伊藤健一郎, 伊豫田 淳, 八柳 潤, 他: *IASR*, **33**(1), 5-7, 2012.
- 17) 橋田みさを, 吉田孝子, 榮井 毅: 奈良県保健環境研 七 年 報, **40**, 95-96, 2006.
- 18) 中村寛海, 梅田 薫, 山本香織, 他: *IASR*, **36**(5), 89-90, 2015.
- 19) 石村勝之, 児玉 実, 橋渡佳子, 他: 広島市衛生研究所年報, **20**, 79-81, 2002.
- 20) Usui, M., Ozawa, S., Onozato, H., *et al.*: *J Vet Med Sci*, **76**(5), 685-692, 2014.
- 21) Veldmana, K., Kanta, A., Dierikxa, C., *et al.*: *Int J Food Microbiol*, **177**(2), 72-77, 2014.
- 22) Kim, S., Woo, G.-J.,: *Foodborne Pathog Dis*, **11**(10), 815-821, 2014.
- 23) Han, C., Yang, Y., Wang, A., *et al.*: *Microbiol Immunol*, **54**(3), 123-128, 2010.

Prevalence of Virulence Genes and Drug Resistance in *Escherichia coli* Isolated from Foods in Tokyo

Satomi UEHARA^a, Shigeru MATSUSHITA^b, Yasunori SUZUKI^a, Makiko KOBAYASHI^a, Rei KATOH^a, Konomi MURAUCHI^a,
Youko HIGUCHI^a, Shouko YOSHIWARA^a, Noriko KONISHI^a, Yumi TAKAHASHI^a, Takashi CHIBA^a,
Akihiko HIRAI^a and Kenji SADAMASU^a

A total of 277 *Escherichia coli* strains that had been isolated from foodstuffs in Tokyo between 2007 and 2014 were examined for the prevalence of virulence genes, plasmid-mediated quinolone resistance genes, and resistance to 13 drugs. The strains were screened for the presence of the *stx1*, *stx2*, *lt*, *stp*, *sth*, *invE*, *astA*, *aggR*, *eae*, and *bfpA* genes using PCR or real-time PCR. The drug resistance test was based on the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) standards and tested for the following 13 drugs: chloramphenicol (CP), tetracycline (TC), streptomycin (SM), kanamycin (KM), ampicillin (ABPC), trimethoprim-sulfamethoxazole (ST), nalidixic acid (NA), fosfomicin (FOM), norfloxacin (NFLX), cefotaxime (CTX), ceftazidime (CAZ), imipenem (IPM), and meropenem (MEPM).

In total, 45 strains of *E. coli* harbored at least one of the virulence genes, including 1 strain of *stx2*, 37 strains of *astA*, 6 strains of *eae*, and 1 strain of *astA* and *eae*. In addition, plasmid-mediated quinolone resistance determinants were detected in four isolates, with the *qnrS* and *oqxAB* genes being detected in two isolates each. Among the 40 drug-resistant strains identified, 20 were resistant to single drugs while the remaining 20 were resistant to multiple drugs. TC, ABPC, and SM were detected in 8.7%, 7.2%, and 5.1% of all drug resistant tests, respectively. Third-generation cephalosporin- or carbapenem-resistant *E. coli* were not detected, despite their prevalence having increased in recent years. However, norfloxacin resistance was detected in two isolates from 2011 and 2013. *E. coli* harboring pathogenic genes or plasmid-mediated quinolone resistance genes, and fluoroquinolone drug-resistant *E. coli* were isolated from all foods except raw meats. Therefore, it is necessary to monitor for trends in the prevalence of drug-resistant *E. coli*.

Keywords: diarrheagenic *E. coli*, drug resistance, *astA*, fluoroquinolone drug-resistant *E. coli*, plasmid-mediated quinolone resistance genes

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

^b Tokyo Metropolitan Institute of Public Health, at the time when this work was carried out