

氏名（本籍）	石原 加奈子（愛知県）
学位の種類	博士（獣医）
学位記番号	獣医博乙第75号
学位授与年月日	平成18年3月13日
学位授与の要件	学位規則第3条第2項該当
学位論文題目	Epidemiological Study on Antimicrobial Resistant <i>Campylobacter</i> in Japan (日本における薬剤耐性カンピロバクターの疫学的研究)
審査委員	主査 岐阜大学 教授 福士 秀人 副査 帯広畜産大学 教授 五十嵐 郁男 副査 岩手大学 教授 品川 隼汎 副査 東京農工大学 教授 本多 英一 副査 岐阜大学 教授 源 宣之

### 論文の内容の要旨

カンピロバクター属は微好気性のグラム陰性らせん状菌で、健康な動物が腸管内に保菌している。一方で *Campylobacter jejuni* および *C. coli* は人の急性腸炎の原因菌であり、人は加熱不十分の鶏肉の摂取などにより、*C. jejuni* および *C. coli* に感染することが多い。近年、食用動物において使用された抗菌性物質により選択された薬剤耐性菌や薬剤耐性遺伝子が、人の健康に影響を及ぼしているとして食用動物に対する抗菌性物質の使用を規制すべきではないかという議論がなされている。そこで、わが国におけるカンピロバクターの薬剤感受性や農場における動向、家畜由来株を人由来株と比較することにより、日本におけるカンピロバクターの薬剤耐性の実態、ブロイラーや人の感染源を解析した。

家畜由来カンピロバクターの薬剤感受性モニタリングするため、1999年6月から2001年3月に全国47都道府県の家畜の糞便由来カンピロバクター468株を収集し、薬剤感受性を調べた。カンピロバクターはオキシテトラサイクリンおよびジヒドロストレプトマイシンに高い耐性率を示した。*C. coli* は、アミノグリコシド系、マクロライド系、テトラサイクリン系およびキノロン系の抗菌性物質に対し、*C. jejuni* より高い耐性率を示した。また、わが国の鶏におけるフルオロキノロン耐性率が低いことを明らかにした。

次いで、フルオロキノロン耐性 *C. jejuni* が分離されたブロイラー農場のうち2農場（農場1: 開放鶏舎で、抗菌性物質は飼料添加物としてのみ使用されていた；農場2: ウィンドレス鶏舎で、飼料添加物も含め、抗菌性物質は使用されていなかった）の鶏群から経時的にカンピロバクターを分離し、薬剤耐性型と遺伝子型を調べた。農場1では2001年の調査から1年半後にも同一の薬剤耐性型（フルオロキノロンおよびオキシテトラサイクリン耐性）および遺伝子型の *C. jejuni* が分離され、別の感受性クローンの侵入も認めた。農場2では薬剤耐性クローンを含め異なるクローンの進入が繰り返された。薬剤の選択圧

のない条件下で薬剤耐性クローンの増減を認めた。

さらに、日本におけるカンピロバクター腸炎の感染源を解明するため、人由来および家畜由来カンピロバクターの薬剤耐性、血清型および鞭毛蛋白遺伝子 (*flaA*) 型を比較した。ブロイラーおよびレイヤー由来 *C. jejuni* のアンピシリンに対する MIC<sub>90</sub> 値は、人および牛由来株より高かった。人および豚由来 *C. coli* のジヒドロストレプトマイシンおよびエリスロマイシンの耐性率はブロイラーおよびレイヤー由来より高かった。*flaA* 制限酵素パターンを解析し、5 クラスターに分類された。クラスター I は人および牛由来株のみから構成され、クラスター III, IV および V は人、牛およびブロイラー由来株から構成された。人由来株は家畜由来株と同様の性状を示し、人は、鶏肉からだけでなく、牛および豚からも畜産物等を経由して感染していると考えられた。

今後、家畜由来の薬剤耐性カンピロバクターの人の健康へのリスクについて解析する必要がある。本研究は、日本における、家畜由来の薬剤耐性カンピロバクターの公衆衛生上の影響を議論するための重要な基礎資料となると考えられる。

## 審 査 結 果 の 要 旨

申請者石原加奈子君の学位論文は日本における薬剤耐性カンピロバクターの疫学的研究を行ったものである。

氏は初めに家畜由来カンピロバクターの薬剤感受性モニタリングをおこなった。1999年6月から2001年3月に全国47都道府県の家畜の糞便由来カンピロバクター468株を収集し、薬剤感受性を調べた。カンピロバクターはオキシテトラサイクリンおよびジヒドロストレプトマイシンに高い耐性率を示した。*Campylobacter coli* はアミノグリコシド系、マクロライド系、テトラサイクリン系およびキノロン系の抗菌性物質に対し、*C. jejuni* より高い耐性率を示した。また、わが国の鶏におけるフルオロキノロン耐性率が低いことを明らかにした。

次いで、フルオロキノロン耐性 *C. jejuni* が分離されたブロイラー農場のうち2農場（農場1：開放鶏舎で、抗菌性物質は飼料添加物としてのみ使用されていた；農場2：ウィンドレス鶏舎で、飼料添加物も含め、抗菌性物質は使用されていなかった）の鶏群から経時的にカンピロバクターを分離し、薬剤耐性型と遺伝子型を調べた。農場1では2001年の調査から1年半後にも同一の薬剤耐性型（フルオロキノロンおよびオキシテトラサイクリン耐性）および遺伝子型の *C. jejuni* が分離され、別の感受性クローンの侵入も認めた。農場2では薬剤耐性クローンを含め異なるクローンの侵入が繰り返された。薬剤の選択圧のない条件下で薬剤耐性クローンの増減を認めた。

さらに、日本におけるカンピロバクター腸炎の感染源を解明するため、人由来および家畜由来カンピロバクターの薬剤耐性、血清型および鞭毛蛋白遺伝子 (*flaA*) 型を比較した。ブロイラーおよびレイヤー由来 *C. jejuni* のアンピシリンに対する MIC<sub>90</sub> 値は、人および牛由

来株より高かった。人および豚由来*C. coli*のジヒドロストレプトマイシンおよびエリスロマイシンの耐性率はブロイラーおよびレイヤー由来より高かった。*flaA*制限酵素パターンを解析し、5クラスターに分類された。クラスターIは人および牛由来株のみから構成され、クラスターIII, IVおよびVは人、牛およびブロイラー由来株から構成された。人は、鶏肉からだけでなく、牛および豚からも畜産物等を経由して感染していると考えられた。

以上の結果から、カンピロバクターの薬剤耐性率は、菌種および由来動物により異なり、日本の家畜由来*C. jejuni*のフルオロキノロン耐性率は、比較的低いことが示された。抗菌剤による選択圧のないブロイラー農場における薬剤耐性*C. jejuni*の増減を認めた。薬剤耐性、血清型および*flaA*遺伝子型を比較した結果、人は、鶏肉からだけでなく、牛および豚からも畜産物等を経由してカンピロバクターに感染していると考えられた。

以上について、審査委員全員一致で本論文が岐阜大学大学院連合獣医学研究科の学位論文として十分価値があると認めた。

#### 基礎となる学術論文

- 1) 題 目： Antimicrobial susceptibilities of *Campylobacter* isolated from food-producing animals on farms (1999-2001): results from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program  
著者名： Ishihara, K., Kira, T., Ogikubo, K., Morioka, A., Kojima, A., Kijima-Tanaka, M., Takahashi, T. and Tamura, Y.  
学術雑誌名： International Journal of Antimicrobial Agents  
巻・号・頁・発行年： 24 (3) : 261-267, 2004
  
- 2) 題 目： Comparison of *Campylobacter* isolated from humans and food-producing animals in Japan  
著者名： Ishihara, K., Yamamoto, T., Satake, S., Takayama, S., Kubota, S., Negishi, H., Kojima, A., Asai, T., Sawada, T., Takahashi, T. and Tamura, Y.  
学術雑誌名： Journal of Applied Microbiology  
巻・号・頁・発行年： (発表予定)

#### 既発表学術論文

- 1) 題 目： Seroepidemiological investigation of feline chlamydiosis in cats and humans in Japan  
著者名： Yan, C., Fukushi, H., Matsudate, H., Ishihara, K., Yasuda, K.,

- Kitagawa, H., Yamaguchi, T. and Hirai, K.  
学術雑誌名 : Microbiology and Immunology  
巻・号・頁・発行年 : 44 (3): 155-160, 2000
- 2) 題 目 : A seroepidemiological study of the risks of Q fever infection  
in Japanese veterinarians  
著者名 : Abe, T., Yamaki, K., Hayakawa, T., Fukuda, H., Ito, Y., Kume,  
H., Komiya, T., Ishihara, K. and Hirai, K.  
学術雑誌名 : European Journal of Epidemiology  
巻・号・頁・発行年 : 17 (11): 1029-1032, 2001
- 3) 題 目 : Characterization of *Campylobacter lanienae* from pig feces  
著者名 : Sasaki, Y., Fujisawa, T., Ogikubo, K., Ohzono, T., Ishihara, K.  
and Takahashi, T.  
学術雑誌名 : Journal of Veterinary Medical Science  
巻・号・頁・発行年 : 65 (1): 129-131, 2003
- 4) 題 目 : A national surveillance of antimicrobial resistance in  
*Escherichia coli* isolated from food-producing animals in  
Japan  
著者名 : Kijima-Tanaka, M., Ishihara, K., Morioka, A., Kojima, A.,  
Ohzono, T., Ogikubo, K., Takahashi, T. and Tamura, Y.  
学術雑誌名 : Journal of Antimicrobial Chemotherapy  
巻・号・頁・発行年 : 51 (2): 447-451, 2003
- 5) 題 目 : In vitro activity of 24 antimicrobial agents against  
*Staphylococcus* and *Streptococcus* isolated from diseased  
animals in Japan  
著者名 : Morioka, A., Asai, T., Ishihara, K., Kojima, A., Tamura, Y. and  
Takahashi, T.  
学術雑誌名 : Journal of Veterinary Medical Science  
巻・号・頁・発行年 : 67 (2): 207-210, 2005
- 6) 題 目 : ヒトの下痢便から分離された *Campylobacter jejuni* と  
*Campylobacter coli* の抗菌薬感受性  
著者名 : 高山貞男, 佐竹幸子, 石原加奈子  
学術雑誌名 : 感染症学雑誌  
巻・号・頁・発行年 : 79 (3): 169-175, 2005

- 7) 題 目： A national surveillance of shiga toxin-producing *Escherichia coli* in food-producing animals in Japan  
著者名： Kijima-Tanaka, M., Ishihara, K., Kojima, A., Morioka, A., Nagata, R., Kawanishi, M., Nakazawa, M., Tamura, Y. and Takahashi, T.  
学術雑誌名： Journal Veterinary Medicine B  
巻・号・頁・発行年： 52 (5): 230-237, 2005
- 8) 題 目： Drug resistance and pulsed-field gel electrophoresis patterns of *Lactococcus garvieae* isolates from cultured *Seriola* (yellowtail, amberjack and kingfish) in Japan  
著者名： Kawanishi, M., Kojima, A., Ishihara, K., Esaki, H., Kijima, M., Takahashi, T., Suzuki, S. and Tamura, Y.  
学術雑誌名： Letters in Applied Microbiology  
巻・号・頁・発行年： 40 (5): 322-328, 2005
- 9) 題 目： Extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* strains isolated from farm animals from 1999 to 2002: report from the Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring Program  
著者名： Kojima, A., Ishii, Y., Ishihara, K., Esaki, H., Asai, T., Oda, C., Tamura, Y., Takahashi, T. and Yamaguchi, K.  
学術雑誌名： Antimicrobial Agents and Chemotherapy  
巻・号・頁・発行年： 49 (8): 3533-3537, 2005
- 10) 題 目： Antimicrobial susceptibility of pathogenic *Escherichia coli* isolated from sick cattle and pigs in Japan  
著者名： Harada, K., Asai, T., Kojima, A., Oda, C., Ishihara, K. and Takahashi, T.  
学術雑誌名： The Journal of Veterinary Medical Science  
巻・号・頁・発行年： 67 (10): 999-1003, 2005