

201426008B

食品由来細菌の薬剤耐性サーベイランスの強化と  
国際対応に関する研究

(課題番号：H24-食品-一般-008)

平成24～26年度総合研究報告書

(厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究事業)

研究代表者 渡邊 治雄

国立感染症研究所 所長

平成27(2015)年3月

## 目 次

### 厚生労働科学研究費補助金食品の安全確保推進研究事業

#### 1. 平成 24-26 年度総合研究報告書

食品由来細菌の薬剤耐性サーベイランスの強化と国際対応に関する研究…………… 1

研究代表者 渡邊 治雄 国立感染症研究所 所長

#### 2. 平成 24-26 年度分担研究報告書

(I) ヒト由来腸内細菌の薬剤耐性の遺伝学的研究…………… 9

研究分担者 泉谷 秀昌 国立感染症研究所 細菌第一部

(II) ヒト及び食品由来食中毒菌の薬剤耐性の疫学的研究…………… 22

研究分担者 倉園 貴至 埼玉県衛生研究所

研究協力者 青木 敦子 埼玉県衛生研究所

砂押 克彦 埼玉県衛生研究所

松下 明子 埼玉県衛生研究所

近 真理奈 埼玉県衛生研究所

大塚佳代子 埼玉県衛生研究所

門脇奈津子 埼玉県衛生研究所

上野 裕之 さいたま市健康科学研究センター

土井 りえ 埼玉県食肉衛生検査センター

(III) ヒト由来腸内細菌の薬剤耐性の疫学的研究…………… 32

研究分担者 甲斐 明美 東京都健康安全研究センター・微生物部

研究協力者 小西 典子 東京都健康安全研究センター・微生物部

下島優香子 東京都健康安全研究センター・微生物部

西野由香里 東京都健康安全研究センター・微生物部

井田 美樹 東京都健康安全研究センター・微生物部

横山 敬子 東京都健康安全研究センター・微生物部

貞升 健志 東京都健康安全研究センター・微生物部

(IV) 食中毒菌の薬剤耐性獲得のリスクマネジメント…………… 44

研究分担者 五十君静信 国立医薬品食品衛生研究所

研究協力者 石井 良和 東邦大学医学部微生物・感染症学講座

卜部 尚久 東邦大学医学部微生物・感染症学講座

青木弘太郎 東邦大学医学部微生物・感染症学講座

朝倉 宏 国立医薬品食品衛生研究所

山本 詩織 国立医薬品食品衛生研究所

(V) 家畜由来薬剤耐性菌のサーベイランスに関する研究.....			57
研究分担者	川西 路子	農林水産省動物医薬品検査所	
研究協力者	小池 良治	農林水産省動物医薬品検査所	
	比企 基高	農林水産省動物医薬品検査所	
	佐々木貴正	農林水産省動物医薬品検査所	
	浅井 鉄夫	岐阜大学大学院連合獣医学研究科	
	黒田 誠	国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター	
	関塚 剛史	国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター	
(VI) 家畜由来腸内細菌の薬剤耐性化機構の解析.....			67
研究分担者	秋庭 正人	農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所	
研究協力者	楠本 正博	農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所	
	岩田 剛敏	農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所	
	黒田 誠	国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター	
	関塚 剛史	国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター	
(VII) 食品汚染及びヒト腸内細菌の薬剤耐性疫学.....			81
研究分担者	田口 真澄	大阪府立公衆衛生研究所	
研究協力者	河原 隆二	大阪府立公衆衛生研究所	
	原田 哲也	大阪府立公衆衛生研究所	
	勢戸 和子	大阪府立公衆衛生研究所	
	久米田裕子	大阪府立公衆衛生研究所	
(VIII) 伴侶動物病院から分離された薬剤耐性菌のヒトへの影響.....			92
研究分担者	田村 豊	酪農学園大学 獣医学部食品衛生学ユニット	
研究協力者	臼井 優	酪農学園大学 獣医学部食品衛生学ユニット	
(IX) 薬剤耐性化食中毒菌のヒトおよび家畜由来株のゲノム比較解析.....			110
研究分担者	黒田 誠	国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター	
研究協力者	関塚 剛史	国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター	
	竹内史比古	国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター	
	山下 明史	国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター	
	柴山 恵吾	国立感染症研究所 細菌第二部	
	鈴木 里和	国立感染症研究所 細菌第二部	
	松井 真理	国立感染症研究所 細菌第二部	

(X) JANIS と JVARM の連携	120
研究分担者	柴山 恵吾 国立感染症研究所 細菌第二部
研究協力者	鈴木 里和 国立感染症研究所 細菌第二部
	川西 路子 動物医薬品検査所 検査第二部
	比企 基高 動物医薬品検査所 検査第二部
	山根 一和 川崎医科大学 公衆衛生学
(XI) 食肉の多剤耐性菌 (VRE, ESBL 生産菌など) の調査・研究	124
研究分担者	富田 治芳 群馬大学大学院医学系研究科細菌学分野
研究協力者	谷本 弘一 群馬大学大学院医学系研究科薬剤耐性菌実験施設
3. 平成24-26年度業績	147
学会発表一覧表	148
研究成果の刊行に関する一覧表	156

研究代表者 渡邊治雄 国立感染症研究所所長

研究要旨：治療不可能な多剤薬剤耐性菌による感染症が世界的な問題となっている。2013 年開催の G8 主要 8 カ国学術会議で薬剤耐性菌体策の重要性・緊急性について合意が確認され、2014 年には米国ホワイトハウスからこの問題の声明が出された。特に食品由来耐性菌のヒトへの伝播と拡散問題が危惧されている。WHO は 2015 年の総会に、耐性菌コントロールのための Global action plan を提案し、加盟国に 5 年間の行動計画を立てることを求めようとしている。その中で家畜、食品、ヒトから分離される耐性菌の発生動向調査（サーベイランス）の確立を最優先課題として各国に求めようとしている。

3 年間の本研究では、我が国で行っている家畜由来耐性菌サーベイランス (JVARM) とヒト由来細菌の耐性菌サーベイランス (JANIS) の統合を行い、家畜—ヒトの耐性菌の流れを総合的に解析する体制を作ることを行った。その結果、いくつかのことが明らかになった。①JANIS と JVARM のデータの統合は可能であるが、使用している薬剤やブレイクポイントに違いがあるので、その調整が必要である、②ブロイラーのセファロスポリン耐性大腸菌の頻度とヒトの大腸菌の耐性頻度との間に関連性が見られた、③ブロイラーのセファロスポリン耐性大腸菌の頻度は 2011 年以降セフォテオフルが鶏卵に使用されなくなってから急激に減少したが、ヒトにおいては低下が見られていない。④鶏の大腸菌とヒトの大腸菌の ST 遺伝型には違いが見られるが、耐性遺伝子は ST 遺伝型が異なる鶏とヒトの大腸菌で共通性が見られる。⑤ブロイラーの耐性大腸菌はヒトの中で維持されないが、耐性遺伝子がヒトの大腸菌に伝播している可能性が示唆される。そのため、一端ヒトの大腸菌に入り込んだ耐性遺伝子は、ヒトにおいて抗菌薬の選択圧がかかっている限りは、耐性菌は維持される可能性がある。今後も、家畜、食品、ヒトの耐性菌のサーベイランスの維持とその解析結果の利用は耐性菌コントロールにとって重要である。

#### 分担研究者：

秋庭正人	農業・食品産業技術総合研究機構 動物衛生研究所
小島明美	農林水産省動物医薬品検査所
五十君静信	国立医薬品食品衛生研究所
泉谷秀昌	国立感染症研究所
黒田 誠	国立感染症研究所
甲斐明美	東京都健康安全研究センター
田口真澄	大阪府立公衆衛生研究所
田村 豊	酪農学園大学獣医学部獣医公衆 衛生学教室
倉園貴至	埼玉県衛生研究所
柴山恵吾	国立感染症研究所
富田治芳	群馬大学大学院

#### A. 研究目的：

前回の「薬剤耐性食中毒菌に係る解析技術の開発及びサーベイランスシステムの高度化に関する研究」において、家畜飼育現場（農林省関連機関：動物医薬品検査所および動物衛生研究所）、食品取り扱い現場（国立医薬品食品衛生研究所）、医療現場にかかわる機関（国立感染症研究所、地方衛生研究所）との間で縦割り行政を越えての、横の連携をとり、畜産、ペット類の愛玩動物、食品および食中毒患者から分離される主にサルモネラ、カンピロバクター、病原性大腸菌、MRSA を中心とした薬剤耐性菌の現状及び動向について全国レベルの調査

と解析を行ってきた (JVARM への連携)。一方、病院内における耐性菌の動向調査である院内感染菌耐性モニタリングシステム (JANIS: Japan Nosocomial Infections Surveillance) が別個に厚生労働省の事業として動いている。今回の研究班においては、この JVARM と JANIS の相互乗り入れを可能にすることにより、動物等で選択された耐性菌が実際の臨床の場に入り込んで、ヒトに健康危害を及ぼしているのかに関して推察できるデータが得られる。耐性遺伝子はプラスミドを介して細菌間を移動していると考えられるが、プラスミド遺伝子の多様性のため、直接的関連性を示すデータが得られていないのが現状である。網羅的に解析するために、動物およびヒトから分離される耐性プラスミドのデータベースを構築し、バイオインフォマティクスの技術を使い詳細に解析し、耐性遺伝子の移動を明らかにする。この研究班で得られた成果を WHO・AGISAR の場を通して世界に発信することにより国際的貢献を果たす。

#### B. 研究結果概要

1) WHO AMR-TAG (2015年5月) において、WHO 総会に提出される今後 5 か年間の global action plan について討議した。WHO は、薬剤耐性菌が環境—動物—食品—ヒトの総合的問題として取り組まなければ最終的解決が図れない点を強調している (薬剤

耐性菌や薬剤耐性遺伝子がそれらの間を自由に動き回り、伝播し続けている；解決には、厚労省、農林省等の intersection 間の連携が不可欠。政府（政治家、政策決定者等）、医療関係者、一般人を含めすべての人へ、薬剤耐性の重要性を理解してもらうための適切なる情報の提供、啓発の重要性も指摘。10月のWHO会議では、2015年5月WHO総会に提出する「微生物（細菌ばかりでなくウイルス、寄生虫、真菌を含む）の薬剤耐性に対処」するためのGlobal action planについての討議が行われた。WHOは6項目を対象にした行動計画を立て、それを履行することを各国に求めている。①公共への啓発、教育や訓練を通して耐性菌の問題点を関係者（国民、医療従事者、政治家等）に理解してもらう。②研究（調査）やサーベイランスを通して得られるヒト、動物、環境の耐性菌の実態の理解を深める。効果的な衛生状況の改善や感染症防止策を通し、感染症の罹患率を減少させる。③ヒトや動物への抗菌薬の使用を適正化させる。④新薬、診断薬、ワクチン等の開発を促進する。⑤行動計画の実行と達成度の評価を行う；2年ごとに各国は達成状況をWHOに報告する。最終目標をAMRの頻度の減少、AMRによる死亡率の減少、治療不可能な重症感染症の患者数を最終的にゼロにする、開発途上国において迅速診断できる病原体の数の増加を図る、第2相の臨床治験に入る新薬の使用の制限、ヒトに使用する抗菌薬の量を削減、動物等に使う抗菌薬の量の削減、ヒトや動物以外に使用する抗菌薬をゼロにする、ことを挙げている

2) 2014年12月のスウェーデンでの会議；切り札といわれるカルバペネム剤に対する耐性菌の増加と近年新しい抗菌薬の開発が停滞していること等により、薬剤耐性菌による感染症の健康被害に対する脅威が増加してきている。WHOは、耐性菌に対するグローバルな対策が緊急の課題であるとの認識のもと2015年のWHAにglobal action planを提出することにしている。その対策の一つとして、世界における耐性菌の現状を科学的に裏打ちされたデータにより周知させ、対策に結びつけるため、グローバルな耐性菌サーベイランスの強化を打ち出した。今回は、WHO加盟国間におけるヒトへの耐性菌による感染症のサーベイランスの試行を開始するための足場作りの話し合いが行われた。

①耐性菌サーベイランスの意義：

- ・耐性菌による疾患負荷の解明（耐性菌および感受性菌によって起こる疾患の頻度およびそ

れによる死亡率の把握）

- ・医療現場への耐性菌情報の提供と治療判断の支援
- ・耐性菌対策の効果判定（耐性菌による high risk 部署の把握と対策、耐性菌の伝播に関する研究および対策、その効果の評価）
- ・新規な耐性菌の迅速把握
- ・Stakeholders への耐性菌に関する情報提供と耐性菌に対する認知度の向上

②WHOの役割：

各国が標準的方法により耐性菌に関連する情報を収集・解析し、耐性菌コントロールに活用することを支援する。そのために国際的協力によるプラットフォームを提供する

# 耐性菌はヒトばかりでなく、動物、環境等からも分離され、耐性菌および耐性遺伝子はその間を循環しているため、耐性問題のコントロールのためには関係機関（WHOばかりでなく国連のFood and Agriculture 部門、Animal Healthの国際機関）の連携が重要である。また、各国の関係する各省庁間の連携も重要である。

③WHOの提案による国際的初期フェーズにおけるサーベイランス試行

Easy implementation（優先順位が高い病原体、抗菌薬の種類、検体採取部位による感受性および耐性菌数）のものから始める

④Pathogen 病原体：

優性順位：公衆衛生的に脅威となり患者の健康に重大なる影響を及ぼすもの

- ・Blood stream infection（菌血症）：  
*Acinetobacter* spp. *E. coli*,  
*K. pneumoniae*, *S. aureus*,  
*S. pneumoniae*
- ・Urinary-tract infection（泌尿器感染）：*E. coli*, *K. pneumoniae*
- ・Diarrhea diseases（下痢性疾患）：  
*Salmonella* spp., *Shigella* spp.  
（*Campylobacter* も加えるべきとの意見あり）
- ・STI（性感染症）：

*N. gonorrhoeae*  
（呼吸器感染症の追加を提案する意見もあったが、感染症起炎菌と判断しやすい上記の感染部位をまずは対象とする）

⑤対象となる菌と薬剤：（地域により異なるので 下記のもの推奨、強制的ではない）

- ・腸内細菌叢：カルバペネム、広域セファロスポリン、フルオロキノロン
- ・淋菌：アミノ配糖体、広域セファロスポリン、フルオロキノロン、マクロライド（スペクチノマイシンを入れる提案もあり）
- ・ブドウ球菌：メチシリン
- ・肺炎球菌：ペニシリン

#### ⑥収集すべき情報

(1) Blood stream infection：発熱、悪寒、戦慄などの臨床症状を伴い菌を分離；菌血症感染者の入院数  
培養に供された血液試料数  
分離菌の耐性を調べられた血液試料数耐性菌の数

(2) Urinary-tract infection：臨床所見＋1種類の菌が  $10^5$  cfu/ml 以上分離される；

培養に供された検体数

感受性菌による感染者数

耐性菌による感染者数

(3) Diarrhea diseases：患者下痢便からの菌の分離（蔓延国では血便患者を対象）；*Shigella*、non-typhoid *Salmonella* の感受性および耐性菌分離数

(4) *N. gonorrhoea*：sample：urine for men, urethral meatus for women；スミア材料から Gram+ の intracellular diplococcus を EM で検出、及び菌培養。耐性菌検査（ceftriaxone and cefixime を使用）

感受性菌による感染者数

耐性菌による感染者数

年齢、地域、感染部位

（淋菌については、菌の分離が難しくどこのラボでも高い頻度で分離することができるわけでないこと、近年は核酸を用いた検査法を用いているところが多いことより、初期フェーズの対象にすることは難しいとの」意見あり）

#### ⑦各国の役割：

##### (1) 機関：

国の機関：国の標準品等の準備や EQA の施行、各検査機関との調整機能、中央におけるデータ収集、解析・還元

ふつう見られない耐性菌が分離された時の確認、解析、耐性機構の解析、アウトブレイクの遺伝型解析

地域検査機関（病院、民間、PHI）：

現場での耐性菌の検査、対応責任書の指名、

EQA への参加

Quality management system の導入；ISO or CLSI に基づく (Quality control testing, external quality assessment の実行)

#### (2) 耐性検査法：cost-effective で簡便な方法が良い

Disk diffusion 法が一般的 (CLSI, EUCAST により推奨された ISO 法)

Gradient diffusion 法：Disk diffusion 法がない菌に使うのが良い

Automated methods：ISO に準拠しているものであること

#### (3) データの収集

最小限：

- ・性別
- ・年齢
- ・検体採取の日時と採取部位
- ・菌種
- ・感受性試験の結果
- ・入院日
- ・患者番号（疫学データとラボデータの照合を可能にさせる）
- その他の望ましいデータ（AMR による患者の転帰を調べる）
- ・死亡
- ・ICU への転院
- ・治療の無効
- ・退院等

#### (4) data analysis

WHO は WHONET-like を推奨（だが、これに限ったわけではないことを示唆）

#### WHO 試行への参加について：

WHO は各国に試行の参加を求めている。今回の参加国の間では積極的参加（69%）、条件整えば参加（31%）でほとんどが参加を希望。要請があれば他の国を支援する（83%）であった。

感染研の立場：原則として参加の方向であると話す。今後具体的にどのようにするかは WHO により提案される。WHO と参加国（国自体あるいは National reference laboratory との間で結ぶかは今後の検討）との間での MOU が結ばれてから試行が行われる予定。

# 日本としては JANIS のシステムにおけるデータの提供等であれば可能との返事をした。WHO とし

ては、日本の経験の提供、他の国のシステムとの比較をしてもらうためにも参加を希望している。積極的に参加して日本の経験や状況を世界に示すことは意義のあることである。

- 3) JANISデータフォーマットに準じた新JVARMデータフォーマット(Ver1.0)を作成した。そして、JVARMデータを新JVARMフォーマットに変換するプログラムを作成し、家畜由来細菌のアンチバイオグラムを作成するシステムを構築した。平成26年度は、農水省の手続きが進み、JVARMの過去10年間分の実データを研究班用として受けとった。12月現在、JVARM実データによるアンチバイオグラムを作成し、JANISとの比較を行った。JVARMから、肉用牛、豚、肉用鶏、採卵鶏由来大腸菌、計6798株のデータをJANIS-JVARM連携用データベースに格納した。菌株数は2008年以降増加していた。2003-2007年については毎年各畜種100株前後であったが、2008年以降は200株前後となっている。これらの株の薬剤感受性パターンをJANISと比較した。アンピシリンはペニシリン系抗菌薬であり、JANISでは2013年の耐性率が約50%であるが、2003年は約30%であり、過去10年間で明らかな増加傾向が認められている。一方、肉用鶏由来株は2013年の耐性率が約50%とJANIS同様高い耐性率を示しているが、10年前からすでに40%を超える耐性率を示しており、過去10年間にわたり高い耐性率を維持していたと思われる。セファゾリンとセフトリオキサム/セフトキシムについては、JANISではいずれの抗菌薬も過去10年間に著明かつ継続的な耐性率の上昇を認めた。一方、肉用鶏由来株のセフトリオキサム耐性は、2011までは20%前後であったが、2012年に急落し、2013年は約5%まで低下している。同じく肉用鶏のセフトリオキサム耐性とセフトキシム耐性も、同様の傾向を示しているが、2009年まではセフトリオキサム、2010年以降はセフトキシムで測定されており、測定抗菌薬の切り替えと同じ2010年に耐性率が急落している。実際の耐性率の低下よりも抗菌薬の切り替えを反映していると考えられた。(図1)
- 4) 1999年のJVARMの開始時から、ブロイラー由来大腸菌で第3世代セフトリオキサム耐性株が継続的に分離され、2004年以降、増加傾向が認められた。セフトリオキサムは、鶏の治療薬として承認されていないことから、セフトリオキサム耐性株の性状解析を行ったところ、2004~2009年に収集した第3世代セフトリオキサム耐性大腸菌の解析

では、①*bla<sub>CMY-2</sub>*が優勢であり、②この耐性遺伝子の分布にIncI1、IncI $\gamma$ 、IncA/C及びIncB/0の4種類のレプリコン型のプラスミドが関与し、③これらのプラスミドのうちIncA/Cが多剤耐性プラスミドであることを明らかにしてきた。第3世代セフトリオキサム耐性大腸菌の性状解析:2012年3月に国内の生産者団体からセフトリオキサムの使用に関する注意喚起が自主的に行われ、2012年および2013年のブロイラーにおけるセフトリオキサム耐性は、2011年に比べて有意に減少した。(2011年18.0%→2012年9.7%、2013年4.6%)2010~2013年におけるセフトリオキサム耐性株の $\beta$ ラクタマーゼ型別を行ったところ、2004~2009年の第3世代セフトリオキサム耐性大腸菌の解析と同様*bla<sub>CMY-2</sub>*が優勢であった。2012年3月に国内の生産者団体からCTFの使用に関する注意喚起が自主的に行われた。2012年および2013年のブロイラーにおけるセフトリオキサム耐性は、2011年に比べて有意に減少した。一方、セフトリオキサム耐性率の減少とは対称的にKMおよびSMの耐性率の上昇がブロイラー由来大腸菌全体およびセフトリオキサム耐性株に認められた。KMやSMと同系統薬剤であるGMはアメリカやカナダでCTFの代替薬として卵内接種されており、今後のKMやSMの耐性率の動向に注視する必要があると考えられた。 $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子の解析では、2010年から2013年の分離株においても*bla<sub>CMY-2</sub>*が優勢であり人由来のセフトリオキサム耐性株で主に報告される $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子 $bla_{CTX-M}$ とは異なった。

- 5) 市販の鶏肉では2012年は46検体(83.6%)、2013年は24検体(100%)からESBL/AmpC産生大腸菌が検出された。2013年はAmpC産生大腸菌検出用の分離平板を追加した結果、AmpC産生大腸菌の検出数が増え、ESBL産生大腸菌とAmpC産生大腸菌が両方検出された検体が22検体(91.7%)となった。2012年に国内の養鶏団体がセフトリオキサムの使用に関して自主的に注意喚起を行ったことから、農場の鶏糞からのESBL/AmpC産生大腸菌の検出は2012年から減少している。しかし市販鶏肉ではその後もまだ高率に存在していることが明らかになった。
- 6) ESCに耐性を示し、同じ地域で分離されたブロイラー由来大腸菌とヒト由来大腸菌を比較したところ、大腸菌遺伝子型に共通性は認められなかったが、耐性遺伝子型には共通性が認められた。ブロイラーとヒトで定着できる大腸菌は異なるが、プラスミド等を介した耐性遺伝子の伝播は起こっている可能性が考えられた。



- 7) 論文検索により、ESBL 産生菌に関する 62 論文を特定し、データを集計した結果、鶏の ESBL 産生大腸菌が、鶏肉を通じヒトへの伝播に最も重要な食品であることが判明した。
- 8) カンピロバクターの市販鶏肉、牛肝臓、ヒト臨床分離菌株の MLST 遺伝子型別により検討した結果、人臨床株の推定食品は、鶏肉 50%、牛（レバー生食等）10%、その他 10%、不明 30%と推定することができた。この結果を基に分離株のフルオロキノロンに対する耐性率を由来別に比較すると、人臨床分離株の耐性獲得率が、鶏分離株と牛分離株の耐性率の中間となることが理解できる。
- 9) 2012～2014 年の 3 年間にヒトおよび食品から分離されたサルモネラは、共に 305 株であった。サルモネラによる食中毒は 1989 年頃から血清型 Enteritidis による鶏卵を原因とする食中毒の多発により激増したが、2000 年頃から減少している。しかし、2012～2014 年の 3 年間においても変わらず血清型 Enteritidis が多く分離されている。一方、食品からは血清型 Infantis が多く分離され、本血清型が全体の 46.2%を占めた。Infantis が検出された食品は、全て生の鶏肉（内臓肉を含む）であった。多く検出された血清型 Infantis, Typhimurium および Enteritidis について耐性率を比較した。血清型 Infantis では、ヒト由来株 65.6%、食品由来株 89.2%で、3 薬剤、4 薬剤、5 薬剤耐性が多い傾向であった。Typhimurium では、ヒト由来株 66.7%、食品由来株 75.0%であった。5 薬剤以上に耐性を示す多剤耐性菌の割合は、ヒト由来株の方が高く、2012 年にはヒト由来株で 10 薬剤、8 薬剤耐性株が分離されている。血清型 Enteritidis では、耐性率が他の 2 血清型株に比べて低く、ヒト由来株 48.8%、食品由来株 20.0%であった。また、単剤耐性菌のみであった。この様に血清型によって薬剤耐性は異なることが明らかとなった。
- 10) リステリアに関しては、4 年間の罹患患者合計は 307 例、病床規模に応じた補正を行い算出された罹患率は 1.06～1.57/100 万人で、4 年間の平均年間罹患率は 1.40/100 万人であった。2011 年では、国内の患者数は 200.9 名と推定された。
- 11) 家畜由来メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) について、2010 年に牛由来 MRSA (sequence type (ST) 121) 1 株が分離され、2012 年に 1 農家の豚 4 頭より MRSA (ST398) 11 株が分離された。本 MRSA ST398 の SCCmec 型は、classA-A1B3 で新規の型であった。当該 MRSA ST398 の起源を探るべく

豚由来メチシリン感受性黄色ブドウ球菌 (MSSA) の遺伝子型及び薬剤耐性型並びにメチシリン耐性コアグラゼ陰性ブドウ球菌 (MRCNS) の SCCmec 型を調べたが、起源と考えられる MSSA 及び遺伝子は認められなかった。

- 12) VRE の調査ではブラジル産輸入鶏肉およびデンマーク産鶏肉から VanA 型 VRE (*E. faecium*) 株が検出された。一方、異なる産地の国内産鶏肉検体から複数の VanN 型 VRE (*E. faecium*) 株が検出された。その多くが同じ宿主遺伝子型であったことから、同一起源の VanN 型 VRE 株による国内の家畜環境中（養鶏）での伝播・拡散が示唆された。一部の株はフランスの VanN 型臨床分離株と類似の遺伝型であり、臨床株と環境株との関連性が強く疑われた。今後、国内のヒト環境への新規 VanN 型 VRE の伝播・拡散、および感染に注意する必要がある。

### C. 考察

我が国のサーベイランスと耐性菌対策の問題点：

- (1) 我が国の耐性菌サーベイランス事業としては、ヒトを対象 (JANIS ; 厚生省事業) としたものと動物を対象 (JVARM; 農林省の事業) としたものの 2 本が動いている。また、厚生科学研究事業 (「食品安全推進研究」渡邊班) として JANIS と JVARM の統合の試行を行っている。JANIS は院内感染症関連細菌が主な対象であるので、下痢性疾患や性感染症に対する耐性菌の把握ができていない。下痢性細菌に対しては、食中毒との関連性が強いので、地方衛生研究所や民間検査機関のデータを利用する必要がある。それらのデータを JANIS に統合できるかの検討が必要である。性感染症 (特に淋菌) に関しても、泌尿器関連病院のデータを JANIS の中に統合できるかの検討が必要である。WHO 等への報告などのように対外的に国としてのサーベイランスのデータを示す場合、および耐性菌に対する総合的対策を立てる場合には、上記のサーベイランスのデータを統合的に収集できる体制が必要であろう。]
- (2) JANIS はそもそも医療現場における耐性菌の現状把握 (菌種、各薬剤に対する耐性菌の割合、その動向) を目的としたもので、耐性菌による感染症の疾病負荷の把握・評価を直接の目的とはしていなかった。そのため、治療や対策後の耐性菌感染症患者の転帰 (死亡、悪化、完解等) についての情報は得られていない。今後は、耐性菌対策の効果を把握するためには耐性菌感染症の予後等の情報収集も念頭に入れるべきである。耐性菌対策の大きな目標は、耐性菌の数を減らすこととすることながら、耐性菌感染症による患者の死亡

数を減らすことにもある（感染症への対応としての視点）。しかし、現在の JANIS で死亡率の把握をすることが難しいのなら、死亡率は、疾患負荷の算定を目的とした研究事業との組み合わせで、推定するのが合理的であろう。

(3)耐性菌(耐性遺伝子も)はヒトー動物(食品も含)ー環境(土壌、水系など)を循環しており耐性菌の最終的なコントロールのためには、上記3者を対象としての総合的対策が重要である。トを対象としたものは厚労省、動物を対象にしたものは農林省、環境を対象にしたものは環境省と別れている。また、院内感染症は医政局、食中毒細菌は食品安全部、泌尿器系細菌感染症+下痢性細菌感染症(および院内感染に関与する耐性菌の一部)は健康局と対応部署が分かれている。今後、WHOが示す global action に対応していくためには、これらへの対策を総合的に intersectional に企画・対処する部署(or委員会等)の設置が必要であろう。この10年以上にわたり新規抗菌薬は市場にほとんど出てきていない。たとえ、創出されたとしても今までのような使用方法ではすぐに耐性菌によって覆い尽くされる。先を見据えた

対応を行う時期である。

#### E. 結論

我が国で行っている家畜由来耐性菌サーベイランス(JVARM)とヒト由来細菌の耐性菌サーベイランス(JANIS)の統合を行い、家畜ーヒトの耐性菌の流れを総合的に解析する体制を作ることを行った。そのデータを比較すると、ブロイラーのセファロスポリン耐性大腸菌の頻度とヒトの大腸菌の耐性頻度との間に関連性が見られることがわかった。ブロイラーのセファロスポリン耐性大腸菌の頻度は2011年以降セフォティオフルが鶏卵に使用されなくなっただけで急激に減少したが、ヒトにおいては低下が見られていない。市販の鶏肉から分離される耐性頻度の低下が見られていないことから、家畜の現場の耐性状況がヒトの現場に反映するまでには、時間的要素等が複雑に絡んでくることが考えられた。また、ブロイラーの耐性大腸菌はヒトの中で定着をしていなく、耐性遺伝子がヒトの大腸菌に伝播している可能性が示唆される。そのため、一端ヒトの大腸菌に入り込んだ耐性遺伝子は、ヒトにおいて抗菌薬による選択圧がかかると維持される可能性がある。

図1. JANIS (ヒト) 集計プログラムを利用したJVARM (家畜) 及び食品由来耐性菌データの集計

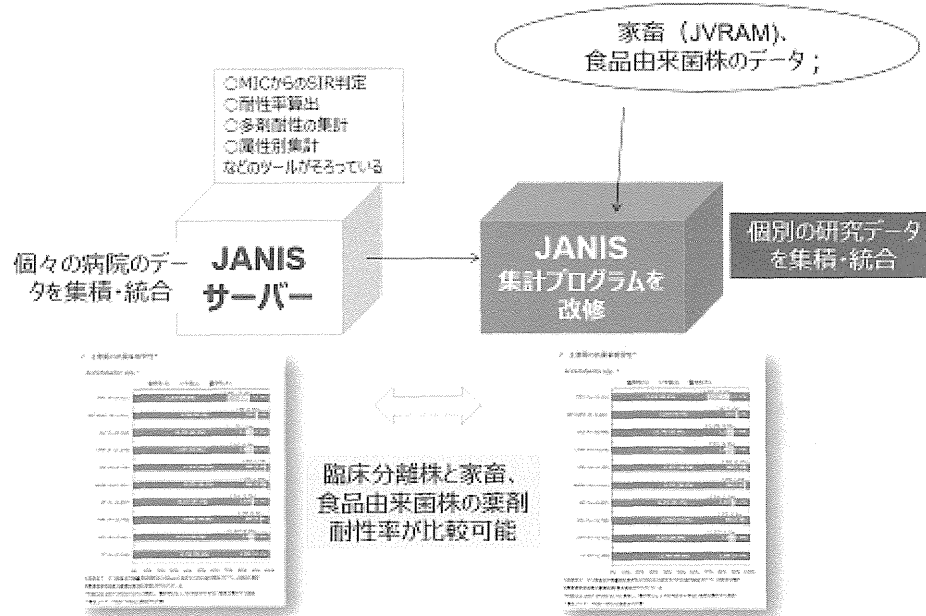
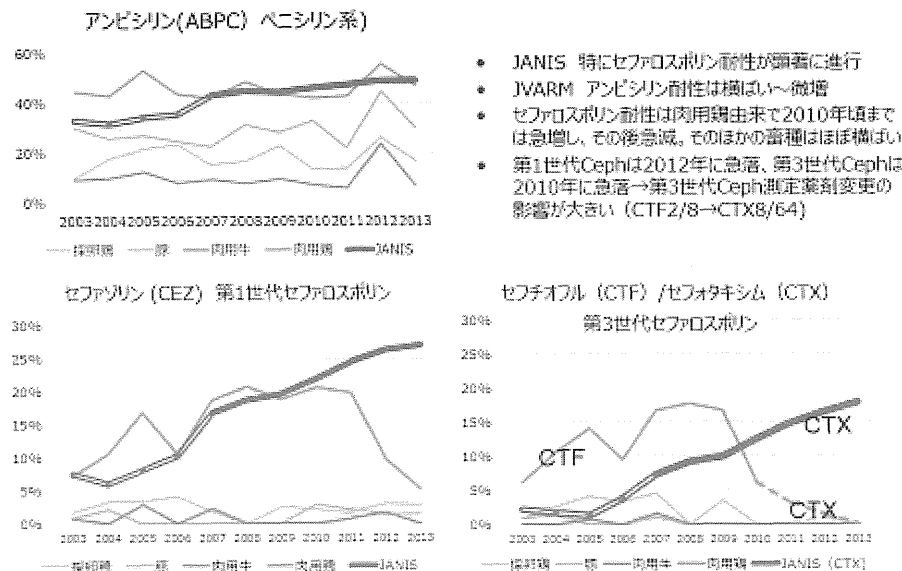


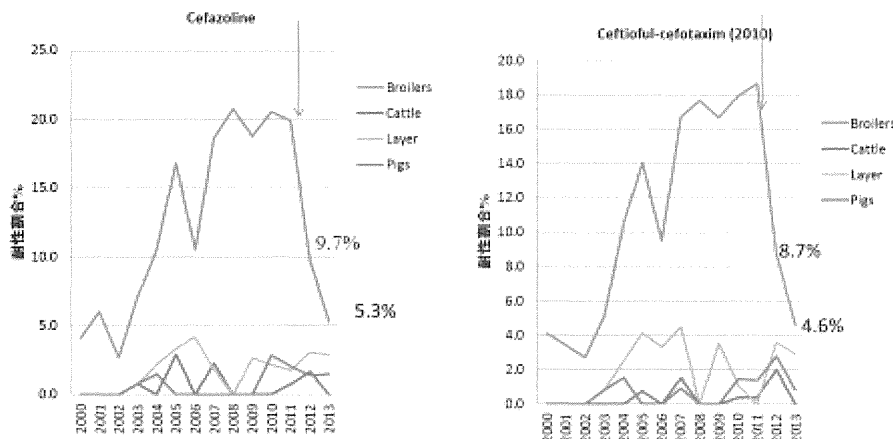
図2. *E. coli* β-ラクタム剤耐性率推移



*E. coli* β-ラクタム剤耐性：ヒト由来株と肉用鶏のセファロスポリン耐性率に2011年まで相関があったが、2012年以降ギャップが出てきた。その理由は何か？

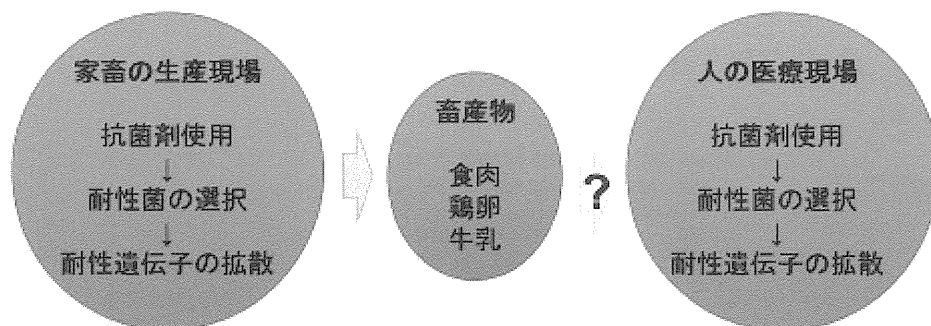
### 図3. 家畜由来株セファロスポリン耐性の推移

ふ化場において自発的にセフティオファールの使用を2010~2011年から禁止している。その後急速に鶏由来(ブロイラー)の大腸菌のセファロスポリン耐性率が低下してきた。選択圧の減少により耐性率の減少が起こる



前図において、ヒトのセファロスポリン耐性率が減少していないのは何故か？今後徐々に低下するのか？一端増加したものはヒトの腸管の中で維持されるのか？

### 図4. 薬剤耐性菌の選択と伝播、動向調査の統合化とコントロール対策への貢献



まとめ:

- 1) 家畜現場での抗菌薬の使用が耐性菌を選択している。それがヒトの現場における耐性菌に影響を及ぼしているが、単に菌の伝播だけではなく耐性遺伝子の伝播が重要である可能性高い。
- 2) 家畜、食品、ヒトの抗菌薬耐性の動向を一元的に解析できるサーベイランス体制を確立させる。その結果を関係機関(WHO等)に提供し、耐性菌対策に活かす

平成 24-26 年度 厚生労働省 食品の安心確保推進研究事業

「食品由来細菌の薬剤耐性サーベイランスの強化と国際対応に関する研究」

「ヒト由来腸内細菌の薬剤耐性の遺伝学的研究」

分担研究報告書

研究分担者 泉谷秀昌

国立感染症研究所 細菌第一部

研究要旨：本研究班では、ヒトの健康への脅威となる食品由来細菌感染症に関して、主として薬剤耐性菌に着目し、薬剤耐性食中毒菌による健康被害の発生動向を把握するための監視体制に関して、ヒト、食品、環境および家畜といった多方面からの情報整備をすることを目的とする。そのための基礎研究として上記耐性菌を含め、さまざまな菌の解析手法を開発しサーベイランスシステムに組み込むことで上記情報整備の拡充、高度化を図る。また、グローバル化する薬剤耐性の問題に対応するため、サーベイランス体制の国際化への対応のための基礎的な情報収集を行うことも本研究の要素の一つである。本分担研究においては、特に、サルモネラ等の腸管系細菌をはじめ、食品汚染を介した細菌感染症に着目して上記目的のための解析法ならびに新規要素の検討を行った。

#### A. 研究目的

薬剤耐性の問題がグローバル化する中で、サーベイランスにおけるギャップを把握し、埋めていくことは、よりよいサーベイランス体制構築に欠かせない。

サルモネラは 2,500 種以上の血清型を含み、全世界に渡りさまざまな流行を繰り返している。わが国では 1990 年代と比較してサルモネラによる食中毒は減少しているが、*Salmonella enterica* serovar Infantis (SI) などが鶏肉から高頻度に分離され、また、ヒトから分離される血清型でも上位に位置している。SI はサルモネラの中でも比較的多剤耐性の傾向が顕著であると考えられており、本研究ではその遺伝学的背景を知るために、分離菌株の解析を行った。

グローバル化する薬剤耐性の問題について、

海外における食水系感染症も重要な要素の一つである。Tham らは海外渡航歴のある下痢症患者を対象に薬剤耐性大腸菌の検査を実施したところ、24%から基質拡張型β-ラクタマーゼ産生性大腸菌が検出され、そのうち 90%が *bla*<sub>CTX-M</sub> 遺伝子陽性を示した (Scand. J. Infect. Dis, 2010; 42:275-280)。そこで、本研究では海外渡航者由来の下痢原性大腸菌コレクションを対象に、アジスロマイシンに着目し耐性株の検査を実施した。アジスロマイシンは近年腸チフスの治療でも使われており、今後、耐性の出現が懸念される薬剤の一つである。

最後に、シガ毒素産生性大腸菌 (STEC) の薬剤耐性について、経年変化を追った。STEC 感染症は現在わが国で最も重要な食品由来感染症の一つであり、その耐性の傾向は 1 つの指標となりうる。また、WHO-GFN が実施して

いる外部精度管理試験において使用されているブレイクポイントの変遷と、結果に与える影響を調べた。

(倫理面への配慮)

食中毒事例に関し、ヒトの臨床情報等を扱う場合には、事前に研究倫理委員会の承認を得た上で、個人情報の取り扱いに注意し、研究を遂行する。分離した菌株に関しては、匿名化を図り、特定の個人に不利益が生じないように配慮する。

## B. 研究方法

1. 薬剤感受性試験：BD社のセンシディスクを用いて、CLSIに準拠した方法により試験し判定を行った。使用した薬剤はアンピシリン (A)、ストレプトマイシン (S)、テトラサイクリン (T)、シプロフロキサシン (Cip)、カナマイシン (K)、セフォタキシム (Ct)、クロラムフェニコール (C)、ST合剤 (Sx)、スルフィソキサゾール (Su)、ゲンタマイシン (G)、ナリジクス酸 (N)、セファロチン (Cf)、ホスホマイシン (F)、セフォキシチン (CFX)、セフォタタン (CTT)、アミカシン (AMK)、イミペネム (IPM) およびメロペネム (MEPM) の18剤であった。最小発育阻止濃度 (MIC) はEtestもしくは微量液体希釈法を用いた。(ただし、上記サブテーマによって試験していない薬剤もある。) ニトロフラントインについてはEtestもしくは20 mg/ml 溶液 15 $\mu$ l (300 $\mu$ g) をディスクにしみこませて試験した。

2. MAMA-PCRによるSNP解析：SI9株を次世代シーケンサー・イルミナにより解析し、共通なコアゲノムの比較から single

nucleotide polymorphism (SNP) を見出した。そこから代表的な部分を選択し、各箇所のSNPアレルが2種類 (例：AかT、GかCなど) であったことから、PCRによる mismatch amplification mutation assay (MAMA) が可能となるようにプライマーを設計した。Conventional PCRによっていずれのアレルであるか決定した。

3. 一濃度スクリーニング：アジスロマイシン、シプロフロキサシン、セフォタキシム、およびホスホマイシンを、それぞれ50、0.1、1および50 mg/L含むLB寒天培地を調製した。上記4種の培地に試験菌株を植菌し、明らかに生息してきたものをR、わずかに生えてきたものをrとした。

4. AZM耐性遺伝子のスクリーニング：既報に従い、*mphA*, *ermA*, *ermB*, *ermC*遺伝子の有無をPCRによって試験した (Emerg Infect Dis. 2009;15(10):1648-50.)。

5. プラスミドの解析：供試菌株からプラスミドを抽出し、大腸菌 K-12 株 (DH5 $\alpha$  等) に形質転換を行った。当該耐性に基づく培地を使い形質転換体を選択した。形質転換体からパルスフィールドゲル電気泳動法用のプラグを調製した。当該プラグをS1ヌクレアーゼ処理しPFGEにかけ、プラスミドと推定されるバンドを切り出し、DNAを精製した。精製DNAをIllumina NEXTERA XT kitにてライブラリーを作製した。Miseq シークエンサーにて解読後、情報解析を行った。

## C. 研究結果および考察

### 1. サルモネラに関する研究

#### 1-1. SI ゲノム解析：

SI 国内分離株 9 株に関してイルミナによりゲノム解読を行った。これと公開されている参照 SI 株のゲノム情報 (1 株) とを比較した。その結果、コアゲノムの ORF 上に存在する SNP が 825 箇所同定された。解析した分離株は、ヒト由来株が 3、鶏肉など非ヒト由来株が 6 であった。ヒト由来 1 株および非ヒト由来 6 株はいずれも 4 剤以上に耐性を示した。残りのヒト由来 2 株は A 耐性および感受性であった。前者 7 株 (grR) に共通で、他の 2 株 (+ゲノム参照株) (grS) に共通でない SNP を抽出したところ、16 箇所が当該条件を満たした (図 1-1 および表 1-1)。このうち、*nfsA* および *nhnB* 遺伝子は、grR 株において終止コドンへの置換があった。*nfsA* および *nhnB* はともに nitroreductase をコードしており、ニトロフラントインなどのニトロフラン系抗菌剤への感受性に影響しうることが示唆されていた。

#### 1-2. ニトロフラントイン感受性試験：

上記結果から、SI grR 株と grS 株とではニトロフラン系抗菌剤への感受性に違いがあることが考えられた。そこで、ディスク法によりニトロフラントインへの感受性を試験した。その結果、grS 株では 19mm および 23mm の阻止円が観察されたのに対し、grR 株では 10-11mm の阻止円が観察された。供試菌株数を、計 98 株に増やして試験を行った結果、阻止円の大きさが 17mm 以上 (grS が含まれる) と 14mm 以下 (grR が含まれる) の 2 つのグループに大別された (表 1-2)。

#### 1-3. MAMA-PCR による SNP 解析：

上記 grS-R 間で異なる SNP のうち、*nfsA* および *nhnB* を含めた 7 か所に関して、これらを識別する MAMA-PCR 用のプライマーを設計した。参照株 + grS 株と同じ遺伝子型を G1、grR 株と同じ遺伝子型を G2 とした。上記 98 株中、海外参照株 1 株を除き、7 か所すべてが G1 か、G2 かのどちらかのタイプとなった (G1 は 34 株、G2 は 63 株)。これと感受性試験の結果を合わせると、G1 は grS に、G2 は grR に一致した (表 1-2)。

上記の結果から、SI にはニトロフラントインに対する感受性を指標に 2 つのグループがあり、これらはゲノム上の複数の SNP ともリンクし、少なくとも 2 つの系統があることが示唆された。

### 2. 渡航者由来大腸菌に関する研究

#### 2-1. AZM 耐性株のスクリーニング

渡航者下痢症由来大腸菌コレクション 63 株の AZM に対する MIC の分布は 0.125 ~ >256 であった (図 2-1)。便宜的に break point を 32 とし、3 株が耐性と考えられた。

#### 2-2. 耐性遺伝子の検索

上記耐性株 3 株 (#42, 81, 99) に対し、AZM 耐性に関係している報告のある *mphA*, *ermA*, *ermB*, *ermC* 遺伝子の有無を PCR により検索した。その結果、3 株とも *mphA* が陽性であることが判明した。*mphA* 遺伝子は macrolide 2' - phosphotransferase をコードしており、これは AZM を修飾して不活化すると考えられている。

#### 2-3. プラスミドの解析

上記 3 株より市販キットにてプラスミド DNA を抽出し、DH5a 等の大腸菌 K-12 株に形質

転換を行った。#81 及び #99 については AZM 耐性形質転換体を得ることができた。#42 についてはアンピシリン耐性の形質転換体を、#99 についてはさらにテトラサイクリン耐性の形質転換体を得た。

これらの形質転換体から PFGE 用のプラグを調製し、S1 ヌクレアーゼ消化後に PFGE でプラスミド DNA を分離した (図 2-2)。分離されたプラスミドと推定されるバンドを切り出し、Miseq により解析を行った。その結果、表 2-1 に示すように、28~68kb の大きさのプラスミドの配列が得られた。*inc* タイプは FII、FII-FIC もしくは K であった。形質転換体を選択した際に使用した薬剤に対応した耐性遺伝子が確認された。AZM 耐性を示したプラスミドには *mphA* 遺伝子が確認され、その周囲のコアな遺伝子構造は #81、#99 とも同様であったが、さらに周辺の遺伝子構造は異なっていた (図 2-3)。両者は大きさも 68kb、28kb と大きく異なっており、#99 プラスミドには *bla* に加え、*aad* および *su11* 遺伝子も見出された。

#81 および #99 の保有する病原性遺伝子は *aggR* であり、所謂 EAEC (Enteroaggregative *E. coli*) に分類される。EAEC に関しては、2011 年にドイツで発生した STEC 0104 集団事例の株も、EAEC から派生してきているものと考えられており、当該菌も AZM ではないが、CTX に耐性を持っていた。今回、EAEC13 株中 2 株で AZM 耐性株が確認され、一方 ETEC46 株からは AZM 耐性株を確認できなかった。このことから EAEC が耐性を獲得しやすいことが窺える。また、AZM は腸チフス・パラチフスでの治療にも使われることから、本耐性の

動向には注意を払う必要があると考えられた。

### 3. STEC 薬剤耐性に関する研究

#### 3-1. シガ毒素産生性大腸菌 (STEC) 薬剤耐性の傾向

1998 年から 2013 年までの分離株から各年 150-500 株程度選択し、ディスク法による感受性試験を行った。

結果を表 3-1 に示す。各カラムには約 30% を最大の網掛けとした帯グラフを賦してある。耐性が多くみられる薬剤は、スルフィソキサゾール、ストレプトマイシン、テトラサイクリン、アンピシリンであり、15 年間の平均はそれぞれ、20.5、20.1、14.6、13.6%であった。これらに次いで、セファロチン、ST 合剤、カナマイシン、クロラムフェニコールに対して 2-5%程度の耐性率を示した。

年ごとに若干の変動はあるものの、その耐性率に顕著な減少もしくは増加を示す薬剤は見られなかった。

STEC および他の腸管系細菌において特に注視すべき薬剤ホスホマイシン、セフォタキシム、シプロフロキサシンの 3 剤については 1% 以下であり、これらについても大きな変動は見られなかった。また、セフォテタン、アミカシン、イミペネム、メロペネムについては中間および耐性は見られなかった。

#### 3-2. STEC2013 年株のスクリーニング

上で述べたように、ホスホマイシン、セフォタキシム、シプロフロキサシンの 3 剤の耐性率は非常に低かった。本 3 剤と昨年度赤痢菌について試験したアジスロマイシンは今後、その耐性出現が懸念される。そこで、この 4 剤について STEC2013 年株について一濃度ス



クリーニング法を試行した。

結果を表 3-2 に示す。最も R が多かったのがアジスロマイシンで 1.9%、ついでセフトキシムが 1.5%、ホスホマイシンが 1.1%であった。シプロフロキサシンが 0.5%と最も低かった。

これら R 株について O 血清群の分布を見たところ、シプロフロキサシンを除いた 3 剤については 026 の割合が最も大きかった (図 3-1)。これは、耐性獲得要因の主たる経路がシプロフロキサシンに関しては染色体性なのに対し、他がプラスミド性であることが関連していると推測される。

#### 4. WHO-GFN における外部精度管理について

WHO - Global Foodborne Infections Network (GFN) では、毎年サルモネラ、赤痢菌等について薬剤感受性試験の外部精度管理試験 (EQA) を実施している。

GFN-EQA において挙げられている薬剤は、アンピシリン、テトラサイクリン、シプロフロキサシン、セフトキシム、クロラムフェニコール、ST 合剤、サルファ剤、ゲンタマイシン、ナリジクス酸、セフトジジム、セフトリアキゾン、トリメトプリムの 12 薬剤である。後者 3 薬剤が本研究では含まれていない。

また、セフェム系およびニューキノロン系薬剤については GFN-EQA において独自のブレイクポイントを設定している。これは EUCAST の epidemiological cut-off value (ECOFF) に関連していると考えられる。例えば、シプロフロキサシンに関して、CLSI のディスク法の間接判定は 16-20mm (15mm 以下で耐性、21mm 以上で感受性) であるが、GFN-EQA では

21-30mm となっている。これはチフス菌などの腸管外感染サルモネラに適用される基準である。

セフトキシムに関しては、同じく CLSI における中間判定域が 23-25mm なのに対し、GFN-EQA では 27mm 以下で耐性、27mm より大で感受性 (ここでは便宜的に中間 27.5mm とする)。結果 1 の 2012-13 年株について、それぞれの基準で耐性・中間・感受性をまとめたものを表 4-1 に示す。CLSI 基準 (CTX23-25) による R は 0.7%、GFN-EQA (CTX27.5) による基準では R が 2.6%となる。参考までにセファロチンの阻止円がない (CF6) ものは 1.0%であり、CTX27.5 における耐性率よりも低くなる。セファロチンとセフトキシムの阻止円径の分布を見ると、CTX23-25 における中間もしくは感受性領域 (23mm 以上) と、CTX27.5 における耐性領域の重なり部分、すなわち 23-27mm 部分に該当する株は CF6 に該当していないことがわかる (表 4-2)。これらの株が野生株 (感受性株) と異なる表現型を示すのは、ESBL に関連する遺伝子以外の遺伝子もしくは遺伝子変異に起因することが考えられる。今後こうした表現型の遺伝的背景を明らかにし、精度管理における補助的なマーカーを開発していく必要があると思われる。

耐性出現を極力広く探知するため、耐性の基準が年々変化してきている。セフトキシムは 2010 年以前は中間領域が 15-22mm であったが、現在は 23-25mm である。上記のように GFN ではさらに広げられており、薬剤耐性サーベイランスにおいて精度管理の担保はますます重要性を帯びていると考えられる。

#### D. 結論

本研究で SI について複数の系統の存在が示唆された。国際的なサーベイランスではゲノム解析をどこまで行うか、今後議論の余地があるが、薬剤耐性の伝播の背景を知るうえで、ゲノム解析の重要性は増していくと考えられる。

渡航者による海外からの薬剤耐性の移動が本研究からも示唆された。これは、当該地域の食品によるものであると考えられるが、その薬剤耐性に関する調査のギャップを埋めていくことは肝要であると考えられる。

STEC 薬剤耐性の傾向は過去 15 年において目立った変化は起きていないと思われる。一方でアジスロマイシン、セフトキシム、ホスホマイシン、シプロフロキサシン耐性が一定頻度で見られ、今後も注視していく必要がある。

薬剤耐性サーベイランスにおいて判定基準は重要であり、基準の変化に柔軟に対応していかなくてはならない。そのために精度管理を充実させる必要がある。また、精度管理を安定させる一つの因子として、上述したようにゲノム解析を中心とした遺伝学的背景などの情報収集も重要であると考えられる。

#### E. 研究発表等

Izumiya H, Terajima J, Yamamoto S, Ohnishi M, Watanabe H, Kai A, Kurazono T, Taguchi M, Asai T, Akiba M, Matsumoto Y, Tamura Y. Genomic analysis of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium definitive phage type 104. *Emerg Infect Dis.* 2013 May;19(5):823-5.

Matsumoto Y, Izumiya H, Sekizuka T, Kuroda M, Ohnishi M. Characterization of *bla*<sub>TEM-52</sub>-carrying plasmids of extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Salmonella enterica* isolates from chicken meat with a common supplier in Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014 Dec;58(12):7545-7.

泉谷秀昌：WHO-AGISAR について。動物用抗菌剤研会報、第 34 巻、13-18、2012 年 11 月。

泉谷秀昌：食品を介した抗生物質耐性菌の世界的感染拡大について。日本食品微生物学会、第 31 巻第 2 号、57-62、2014 年 6 月。

泉谷秀昌：WHO-AGISAR について。獣医畜産新報、第 68 巻第 2 号、92-96、2015 年 2 月。

#### F. 知的財産権の出願・登録状況

なし

※解析に使用した菌株を提供していただいた地方衛生研究所、動物医薬品検査所、動物衛生研究所等の諸先生方に深謝いたします。

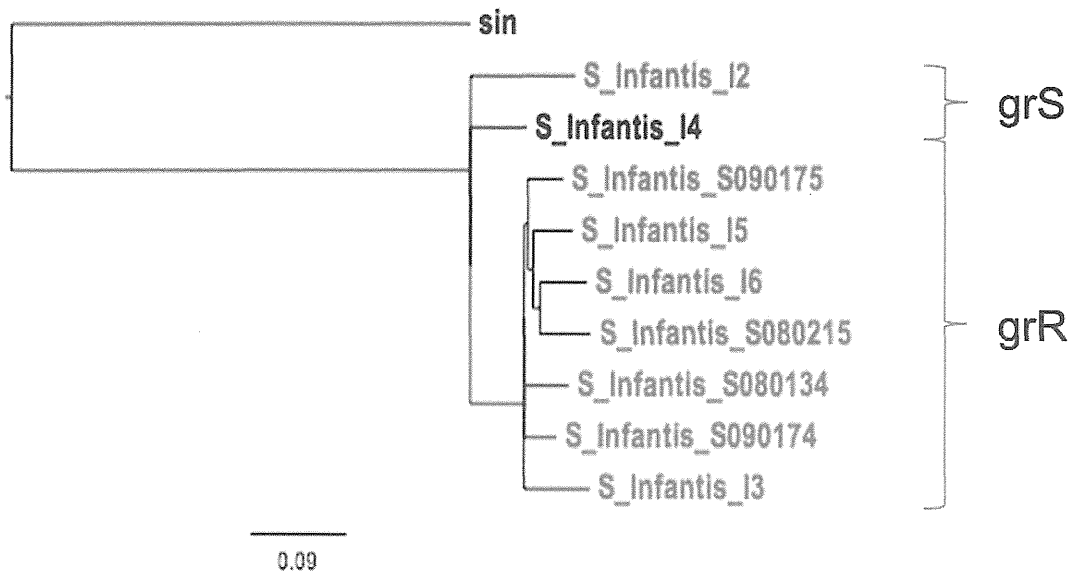


図 1-1. SI SNP 系統解析

表 1-1. grS-grR 間で異なる SNP

gene	product	grS	grR	mama target
ybbO	short chain dehydrogenase	L	P	y
nhnB	dehydropteridine reductase	Q	*	y
nfsA	nitroreductase A	W	*	y
ybjN	sensory transduction regulator	D	E	y
ycbW/zapC	duf1379 family	W	L	
	NADH dehydrogenase	D	N	
PBP	penicillin-binding protein	D	N	
	methyl-accepting chemotaxis protein II	V	G	
pduS	propanediol utilization ferredoxin	A	T	
menF	isochorismate synthase	L	Q	y
nrdE	ribonucleotide-diphosphate reductase subunit alpha	A	V	
alaS	alanyl-tRNA synthetase	D	N	
sitA	Iron transport protein periplasmic-binding protein	T	R	
recC	exonuclease V subunit gamma	D	A	
yifB	ATP-dependent protease	T	S	y
tyrB	aromatic amino acid aminotransferase	G	E	y

表 1-2. ニトロフラントイン感受性と MAMA-PCR による SNP 型別

感受性試験(ディスク法300ug)														
Genotype	9	10	11	12	14	17	18	19	20	21	23	26	27	総計
G1						2	7	4	11	7	1	1	1	34
G2	10	31	16	5	1									63
1111222*	1													1
総計	11	31	16	5	1	2	7	4	11	7	1	1	1	98

MAMA-PCR の対象は *tyrB*, *yifB*, *menF*, *ybjN*, *nfsA*, *nhnB*, *ybbO* (表 1 右カラムを参照)。

\*, 海外参照株

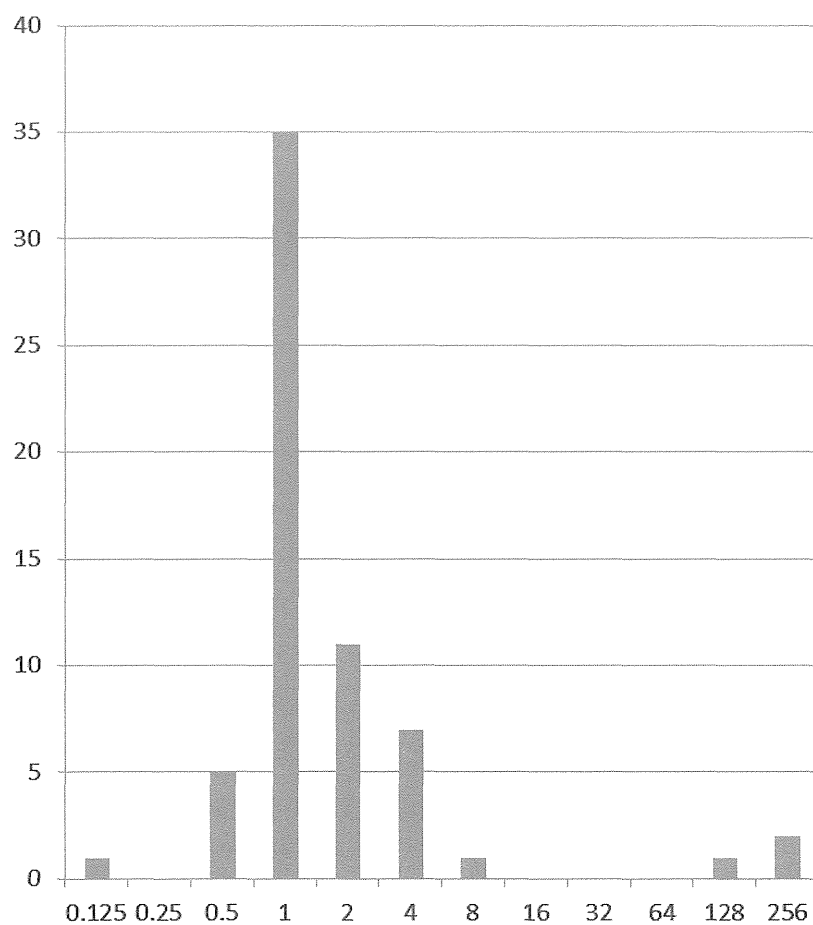


図 2-1. 渡航者由来大腸菌の AZM に対する MIC 分布