

平成 30 年度厚生労働科学研究費補助金食品安全確保推進研究事業
総括研究報告書

食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究

代表研究者 渡邊治雄 国立感染症研究所

研究要旨：

薬剤耐性菌を制御するためには、環境 動物 食品 ヒトを包括するワンヘルス・アプローチが重要である。ヒト由来株の耐性菌データ (JANIS) と家畜由来の耐性菌データ (JVARM) の一元的解析ができるようなシステムの構築が確立してきた。今回の研究班では汚染食品由来菌株の耐性菌のモニタリング体制の構築を行った:日本全国 23 の地方衛生研究所の協力のもと、食品 (主に鶏肉) を汚染しているサルモネラ、大腸菌、カンピロバクターの分離および薬剤耐性の測定を標準化された方法を用いて実施した。サルモネラに関しては、2015~2018 年に分離された患者由来の 40.3%、及び食品由来の 89.6%が、18 剤中の 1 剤以上に耐性を示した。ヒト患者由来株のうち食品からも分離された血清型、*S. Infantis*、*S. Schwarzengrund*、*S. Manhattan* 株ではヒト患者由来株と食品由来株の耐性傾向に強い類似性があり、食品由来耐性菌とヒト患者由来耐性菌との関連が強く示唆された。一方、大腸菌については、2015~2018 年分離のヒト患者由来の 36.3%、及び食品由来の 56.3%が 1 剤以上に耐性を示した。カンピロバクター株については、共通のプロトコール及び判定表を新規に作成し、統一した方法で感受性検査と判定を行った。*C. jejuni* 株ではヒト患者由来株と食品由来株の耐性傾向に強い類似性があり、食品由来耐性菌とヒト患者由来耐性菌との関連が強く示唆された。さらに、健康者由来の大腸菌 360 株を対象に 17 薬剤に対する薬剤感受性試験を実施した。いずれか 1 薬剤以上に耐性を示した株は 37.5%であった。その中には CTX 耐性は 5.3%、フルオロキノロン耐性は 9.4%が存在した。健康者由来の大腸菌もかなりの高い耐性率を示した。これらのデータは、我が国の「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書」に提供されている。食品由来の耐性菌データも JANIS や JVARM など既存の薬剤耐性データベースと統合し一元化することが可能となり、ワンヘルス・アプローチに基づく感染制御に繋がることが期待される。

分担研究者：

四宮博人	愛媛県立衛生環境研究所
菅井基行	国立感染症研究所薬剤耐性 研究センター
大西 真	国立感染症研究所細菌第一部
朝倉宏	国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部
川西路子	農水省動物医薬品検査所
小西典子	東京都健康安全研究センター 微生物部
浅井鉄夫	岐阜大学大学院連合獣医学 研究科
富田治芳	群馬大学大学院医学系研究科
石井良和	東邦大学医学部微生物・ 感染症学

A. 研究目的：

耐性菌の問題は健康危機管理としても重要な国際的課題である。WHO は、世界における耐性菌の実態を明らかにするため Advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance (AGISAR) を設立し、食中毒菌などの薬剤耐性の国際的なサーベイランス体制の確立や検査法の統一を図ってきている。また、WHO は耐性菌の世界的なコントロールをめざし、Global Action Plan を示し、サーベイランスの強化を進めており、Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) で各国の耐性菌データの収集を図っている。我が国も 2016 年に National Action Plan を作成した。それらは、“One Health” の観点から耐性菌

のサーベイランスの構築を目指すことを掲げている。本研究においては農林省で動物を対象に行われている耐性菌モニタリングシステム JVARM と厚労省で行われているヒトにおける院内感染症耐性菌サーベイランス JANIS のデータを一元的に閲覧し、評価できる手法を開発することと、今まで体系的に集められていない食品由来細菌の耐性データの収集体制の整備とそのデータを取り込める体制を構築することを目的とした。食品由来耐性細菌については全国地方衛生研究所協議会に主な役割を担当してもらい、恒常的にデータの収集をする仕組みを整える方向性を付けることを目的としている。これらの体制により、国内で分離された臨床、食品および家畜由来耐性菌の動向の把握と、相互の比較解析から耐性菌のグローバルな循環を明らかにし、リスク評価および行政対策に供することができるようになることが期待できる。また、耐性菌分離状況の WHO GLASS への報告ができる体制も構築する。

B. 研究方法：

1) データの解析・公開：

大腸菌等の薬剤耐性について、JANIS で集計されている入院患者全検体由来のデータと JVARM で集計されている牛、豚、鶏由来のデータを比較し、情報をホームページ等で公開および食品由来細菌の薬剤耐性のデータを JANIS 集計プログラムに入れ込み、一元的に解析できるようにする。WHO のグローバルサーベイランス(GLASS)については、JANIS データベース等から必要なデータを抽出し、GLASS が求める集計様フォーマットに変換し、提出できるようにする。

2) 食品由来耐性菌サーベイランス：

a. 地方衛生研究所ネットワーク（協力地衛研としては、地理的分布も考慮し、全国から 20-30 か所を選定する）を使い、ヒト及び食品由来のサルモネラおよび病原大腸菌について、既に確立しているプロトコルにしたがって継続的に薬剤感受性検査(17 薬剤：ABPC, CTX, CAZ, GM, KM, SM, TC, ST 合剤, CP, FOM, NA,

CPFEX, NFLX, OFLX, AMK, IPM, MEPM), を実施する(平成 30~32)。大腸菌については、プラスミド性コリスチン耐性遺伝子(*mcr-1* および *mcr-2*) 保有状況を把握する。

- b. ヒト及び食品由来のカンピロバクター等については、上記プロトコルがそのまま適応できないため、国立衛研、都安研と協力して新たに共通のプロトコルを作成する(平成 30 年)。その方法に基づき、協力地衛研において、カンピロバクター等の薬剤感受性検査(5 薬剤：ABPC, TC, EM, NA, CPFEX)を実施する(平成 30~32)。
- c. 上記によって得られた食品由来菌株の耐性データを、既に作成している相互変換ソフトを用いて、JANIS(臨床由来株)および JVARM(家畜由来株)とのデータベースと相互比較し、生態系における耐性菌・耐性遺伝子の流れについて考察する。
- d. 地衛研において分離・収集されるヒトおよび食品由来耐性菌の適切な保管、ならびにそれらの有効利用について、倫理審査を含めてコンセンサスを確立する。
- e. これらの耐性菌データを、我が国のワンヘルス動向調査の年次報告書に提供し、WHO の GLASS(Global Antimicrobial Resistance Surveillance System) への報告にも提供する(平成 30~32 年)。

3) 国内産食肉、および国外産輸入食肉の比較

国内産食肉は国内 3ヶ所の食肉衛生検査所(群馬、宮崎、鹿児島)から鶏肉検体をそれぞれ 30~40 検体(合計約 100 検体)収集し、国外産食肉は該年度の各国からの輸入鶏肉量比に合わせた検体数になるように 2ヶ所の輸入検疫所(横浜、神戸)から食肉検体を収集し、耐性状況を比較検討する。

4) と畜場・食鳥処理場由来株の解析：

農場由来株のサルモネラ、大腸菌についてアンチバイオグラムを作成し、ヒト・食品由来株と比較検討する。畜場及び食鳥処理場由来大腸菌並びに食鳥処理場

由来サルモネラ属菌についてコリスチン耐性遺伝子 *mcr-1* ~ *mcr-5* を multiplex PCR で検出する。

5) 市販肉の交差汚染経路の解析

牛及び豚の食肉処理施設において、「と畜場における枝肉の微生物汚染実態調査」により枝肉等のふき取り材料から分離された細菌の菌種同定と薬剤感受性を実施し、同一菌種について分子疫学的解析を行って、交差汚染の状況とその要因を明らかにする。

6) 耐性菌の遺伝学的解析

ヒト、家畜、食品から分離された第3世代セファロスポリン系薬 (3GC) に耐性を示した大腸菌について、短鎖型シーケンサーである MiniSeq/ MiSeq/ HiSeq/ NovaSeq システム (Illumina 社) による細菌ゲノムの解析、MLST (multilocus sequence typing) による菌株遺伝型の型別、ResFinder による薬剤耐性遺伝子の検出、および Plasmid Finder による保有プラスミドの型別解析を行い、菌株のメタデータと組み合わせた分子疫学解析を行う。各耐性株の代表株を選別し、長鎖型シーケンサーである MinION (Oxford Nanopore Technologies 社) を併用して完全ゲノム配列を構築し、BLAST と ACT (Artemis Comparison Tool) によるプラスミドの配列比較を行う。プラスミド性コリスチン耐性遺伝子 *mcr* についても、国内で収集された家畜由来または食肉由来 *mcr* 遺伝子保有コリスチン耐性腸内細菌科細菌株に置いて *mcr* 遺伝子保有プラスミドを含むゲノム解析を行い、国際的な分子疫学関係を明らかにし、耐性菌/耐性遺伝子の伝播経路を推察する。

C. 研究結果:

1) 担当者間の協議。大腸菌のアンピシリン、セファゾリン、セフォタキシム、フルオロキノロンについて、JANIS のデータと JVARМ のデータを用いて耐性率の比較データを公開することとした。腸球菌については、JVARМ 側で菌種同定がされていないため単純比較すると misleading とな

る恐れがあるため公開しないこととした。比較データについては、国立国際医療研究センターが運営する AMR ワンヘルス動向調査のホームページで公開された (<https://amr-onehealth.ncgm.go.jp>)。大腸菌においてはいずれの薬剤も、ヒト由来株の方が家畜由来株より耐性率が高い傾向があった。年次推移では明らかな相関は認められなかったが、引き続き注視していく必要がある。

2) WHO のグローバルサーベイランス

(GLASS) : 2016 年、2017 年の大腸菌、*Klebsiella pneumoniae*、*Acinetobacter baumannii*、黄色ブドウ球菌、肺炎球菌、サルモネラのデータ、ならびに 2017 年の淋菌、赤痢菌のデータを集計し、GLASS 指定のデータ形式のファイルを作成して提出した。なお、GLASS は薬剤感受性試験を実施した全ての菌株について、同一の薬剤のセットで試験を実施することを求めている。しかし、JANIS では医療機関はそれぞれで様々な薬剤感受性試験パネルを採用しているため、薬剤ごとに感受性試験を実施した株数が異なる。この集計手法が異なる点について GLASS 責任者と複数回の協議を行い、最終的に JANIS データベースから作成するデータを GLASS に合わせることにした。日本ならびに各国の集計結果は WHO のホームページで公開された。

(<https://www.who.int/glass/resources/publications/early-implementation-report-2017-2018/en/>)

3) 地方衛生研究所の成果：平成 30 年度から開始された本分担研究において、協力地衛研で分離・収集されるヒトおよび食品由来耐性菌株の適切な利用について、倫理審査を実施し許可を得た。サルモネラおよび病原大腸菌について、既に確立しているプロトコールにしたがって平成 30 年分離株について薬剤感受性検査を実施した。

a. ヒト及び食品から分離されたサルモネラ株の内訳と血清型
2018 年に収集されたサルモネラ株は、ヒト由来 240 株、食品由来株 82 株、

総計 322 株で、1 剤以上に耐性を示した菌株の割合（耐性率）は、ヒト由来株 35.8%、食品由来株 89.0%で、

b. ヒト及び食品から分離されたサルモネラ株の薬剤耐性状況

2015 年～2018 年に収集されたヒト由来株 1425 株及び食品由来株 433 株の 18 剤に対する耐性率は、ヒト由来株、食品由来株ともに、TC、SM に対する耐性率が最も高く、ABPC、KM、NA、ST がそれらに続く耐性率であった。CTX、CAZ、CFX 耐性も数%認められ、食品由来株でやや高い傾向であった。

c. ヒト及び食品から分離されたサルモネラ株の血清型別の耐性率の比較

食品由来株（433 株）において、*S. Infantis*、*S. Schwarzengrund*、*S. Manhattan* は、これらで全体の約 8 割を占め、国産鶏肉から検出される主要な血清型と考えられる。これらの菌株には共通する点が多いが、それぞれの血清型に特徴的な点も認められた。すなわち、*S. Schwarzengrund* では CTX、CAZ、CFX 耐性が低く、*S. Manhattan* では KM 耐性が認められず、ST 耐性も低かった。一方、ヒト由来株（1425 株）の上位 5 位を占める、*S. Infantis*、*S. Enteritidis*、*S. Thompson*、*S. 4:i:-*、*S. Saintpaul* の計 627 株の各種抗菌剤に対する耐性率は、*S. 4:i:-* は国産鶏肉からの検出率は低いですがヒトでは主要な血清型の一つで、ABPC、SM、TC に対する耐性率が最も高く、国産鶏肉由来株の主な血清型である *S. Infantis* と *S. Schwarzengrund* では ABPC 耐性率は低いですが SM、TC 耐性率は高かった。一方、鶏肉よりも鶏卵から分離される *S. Enteritidis* では SM、TC 耐性率は低かった。

次に、ヒト由来株と食品由来株の両方で認められ、かつ食品由来株の主要な血清型である *S. Infantis*、*S. Schwarzengrund*、*S. Manhattan* について、ヒト由来株と食品由来株の各種抗菌剤に対する耐性率を比較すると、両血清型ともヒト由来株と耐性傾向が非

常に類似しており、*S. Schwarzengrund* と *S. Manhattan* では耐性率そのものもヒト由来株と近似であった。

d. ヒト及び食品から分離された大腸菌株の薬剤耐性状況

2015～2018 年分離のヒト由来大腸菌 1034 株のうち、18 剤の 1 剤以上に耐性を示した株は 375 株で、耐性率は 36.3%であった。大腸菌株の分類別耐性率は、EHEC27.6%、EHEC 以外の下痢原性大腸菌 73.5%、その他 69.0%であり、EHEC 以外の下痢原性大腸菌株の耐性率が EHEC 株よりも 2 倍以上高かった。一方、非病原性大腸菌を含むその他の大腸菌株では下痢原性大腸菌株と比べて 7 剤～12 剤の多剤耐性株の頻度が高かった。その他の大腸菌株は CTX、CAZ、CFX、キノロン系薬及びカルバペネム系薬 MEPM 等に耐性を示し、高度の耐性傾向であった。ESBL 産生菌及び AmpC 産生菌との関連が示唆される CTX、CAZ、CFX に耐性の株が、ヒト由来株中に 49 株が見いだされた。外国産食品及び国産食品から分離された大腸菌株の各種抗菌剤に対する耐性率を比較すると、GM、AMK、CTX、キノロン系薬 CPMX、NFLX 等に対して、外国産食品由来株の耐性率が国産食品由来株よりも高く、国産、外国産間で異なる傾向が見られた。

4) カンピロバクターの耐性菌出現状況の

把握: 2017 年に散発患者から分離された *C. jejuni* 115 株および *C. coli* 8 株について薬剤耐性菌出現状況を調べた。フルオロキノロン系薬剤に耐性を示した割合は *C. jejuni* が 43.8%、*C. coli* が 62.5%であり 2016 年 (*C. jejuni* 52.2%、*C. coli* 35.7%) と比較して *C. jejuni* の耐性率は減少、*C. coli* では増加していた。カンピロバクター腸炎治療の第一選択薬であるエリスロマイシンに対する耐性率は *C. jejuni* が 1.7%、*C. coli* が 25%であった。ヒト及び食品由来のカンピロバクター等については、耐性測定のプロトコールがそのまま適応できないため、国立衛研、都安研と協力して新

たに共通のプロトコールを作成した（各分担者の報告書を参照）

- 5) 健康者由来大腸菌の耐性菌出現状況：
2018年に健康者360名から分離された360株の大腸菌を対象に17薬剤に対する薬剤感受性試験を実施した。いずれか1薬剤以上に耐性を示した株は135株(37.5%)であった。この割合は2016年(37.6%)、2017年(36.5%)と比較してほぼ横ばいである。薬剤ごとに耐性率をみると、最も高いのはABPCおよびTCで23.6%、次いでNAが21.9%、SMが17.2%であった。CTX耐性は19株(5.3%)、フルオロキノロン耐性は34株(9.4%)であった。
- 6) 国内・外国産鶏肉から分離された大腸菌の耐性菌出現状況：
- a. 外国産鶏肉25検体のうち大腸菌が検出されたのは22検体(88%)であった。大腸菌が検出された22検体由来の35株について薬剤感受性試験を実施した結果、22株(65.7%)が1薬剤以上に耐性を示した。CTX耐性株およびフルオロキノロン耐性株は各1株(2.9%)であった。コリスチン耐性遺伝子である*mcr-1*および*mcr-2*に耐性を示す株は認められなかった。
- b. 国内産鶏肉を100検体(鹿児島30検体、宮崎30検体、群馬40検体)、外国産鶏肉86検体(ブラジル産55検体、タイ14検体、米国9検体、デンマーク4検体、アルゼンチン3検体、フィリピン1検体)の合計186検体を収集し、解析を行った。ESBL/AmpC産生腸内細菌科細菌は、国内産100検体中62検体(62%)、輸入鶏肉からは86検体中25検体(29.1%)から検出された。国内産からの耐性株の70%、輸入からの耐性株の84.4%が大腸菌であった。収集した鶏肉検体からは伝達性高度コリスチン耐性遺伝子*mcr*を保持する耐性菌は検出されなかった。ブラジル産鶏肉1検体からVanA型VRE(*E. faecium*)株が検出された。国内産鶏肉からのVREの検出は認めなかった。
- 7) と畜場・食鳥処理場由来株の解析：

- a. 生産段階における汚染分布及び遺伝特性に関する検討
採卵鶏41農場で飼養された若齢鶏(114-280日齢)及び老齢鶏(336-701日齢)41羽の鶏糞からのESBL/AmpCラクタマーゼ産生大腸菌の検出状況を検討した。全体では約43%(35/82)が陽性を示し、若齢鶏の陽性率は約56%(23/41)と、老齢鶏(約29%, 12/41)に比べ高い傾向を示した。分離株の薬剤耐性遺伝子保有状況として、CTX-M-1が約40%(27/68)と最も多く、次いでCMY-2が約31%(21/68)であった。
- b. 食鳥処理段階における交差汚染に関する検討
同一鶏群由来の鶏肉及び盲腸内容におけるESBL産生大腸菌汚染実態を比較検討した。鶏肉の約58%(7/12)、盲腸内容の約92%(11/12)で同菌は陽性を示し、分離株の薬剤耐性遺伝子保有状況は、CTX-M-2(鶏肉:42.9%(6/14)、盲腸内容物:81%(17/21))が最も多く、CMY-2(鶏肉:約29%(4/14)、盲腸内容物:19%(4/21))がこれに続いた。分離株の遺伝特性から、盲腸内容と鶏肉に分布する当該菌は同一のものであることが示された。上記検出状況から当該菌の鶏肉汚染は食鳥処理加工を通じた腸管内容の交差汚染によるものであることが改めて示された。
- c. 鶏肉等における薬剤耐性サルモネラ及びカンピロバクターの汚染実態に関する検討
本年度は小規模ながら、6食鳥処理場で処理包装された市販鶏むね肉18検体における薬剤耐性カンピロバクター及びサルモネラの汚染実態を調査した。サルモネラ属菌は、16検体(89%)で陽性となり、17株が分離された。分離株の血清型構成は*S. Schwarzengrund*(n=6)、*S. Infantis*(n=5)、*S. Manhattan*(n=5)、*S. Anatum*(n=1)であり、その成績は食鳥処理場に依存していた。全分離株はSM耐性であったほか、16株はTC耐性を示した。CTX耐性は5株の*S. Infantis*で認

められたが、これらは同一農場由来の鶏肉であった。KM 耐性 *S. Schwarzengrund* 3 株は 3 つの異なる処理場の検体より分離された。カンピロバクターは、15 検体 (83%) で陽性となり、15 株が分離された。分離株の菌種構成は、14 株が *C. jejuni*、1 株が *C. coli* であった。7 株の *C. jejuni* は CPF_X 耐性であり、耐性率と食鳥処理場との間に明確な相関性は認められなかった。

d. 平成 28 年度に分離されたコリスチン MIC₂ μ g/mL 以上のと畜場及び食鳥処理場由来大腸菌 31 株及び食鳥処理場由来サルモネラ属菌 57 株についてコリスチン耐性遺伝子 *mcr-1*~*mcr-5* を multiplex PCR で検出した。大腸菌より *mcr-1*: 9 株、*mcr-5*: 3 株が分離され、サルモネラ属菌より *mcr-1*: 1 株が検出されたが、その他の遺伝子は検出されなかった。

8) 市販肉の交差汚染経路の解析

a. 愛知県下の施設 (A 施設) の環境 (まな板、処理ライン) のふき取り材料の検査において汚染 13 検体のうち、優勢に分離された菌種は、*Enterobacter cloacae* complex (5 検体)、*Serratia liquefaciens* group (4 検体)、*Raoultella planticola* (3 検体)、*Enterobacter gergoviae* (2 検体)、*Buttiauxella agrestis* (1 検体)、*Enterobacter amnigenus* (1 検体)、*Klebsiella pneumoniae* (1 検体)、*Escherichia coli* (1 検体) であった。同一日の複数のふき取り材料から同じ菌種が分離された。

b. B 施設の枝肉ふき取り材料からは、*Acinetobacter baumannii* complex (10 検体)、*Acinetobacter junii* (4 検体)、*Escherichia coli* (3 検体)、*Aeromonas salmonicida* (1 検体)、*Enterobacter amnigenus* (1 検体)、*Enterobacter cloacae* complex (1 検体)、*Pseudomonas aeruginosa* (1 検体)、*Stenotrophomonas maitophilia* (1 検体)、*Yersinia intermedia* (1 検体) であった。

c. 薬剤感受性試験では、ほとんどの薬剤

に対して感受性を示す株が多く認められた。

9) 耐性菌の遺伝学的解析

a. 臨床分離 ESBL 陽性菌株については新たな収集を行うために必要な倫理審査を進めた。また、今までに収集済みの臨床分離 ESBL 陽性腸内細菌科細菌株の分子疫学的解析を目的にドラフトゲノム解析を行い、菌株 (大腸菌、肺炎桿菌など) および ESBL 遺伝子の型別を進め、プラスミドを含む完全ゲノム解析を行う菌株の選定を行った。

獲得性ポリミキシン耐性遺伝子 *mcr* の保有菌株の食肉における伝播状況を探るため、今年度は検査系の確立を行なった。コリスチン耐性大腸菌株 300 株超を用いて、*mcr-1* から 8 まで全ての亜型を同時に検出可能な multiplex PCR を開発した。

b. MiSeq による WGS 解析を実施した大腸菌 (臨床由来 11 株および鶏あるいは犬由来 19 株) は *bla*_{CTX-M-14} が臨床由来の 11 株から、*bla*_{CMY-2} および *bla*_{CTX-M-2} が鶏および犬由来からそれぞれ 10 株および 6 株から検出された。臨床由来株から検出されたプラスミド不和合性 (Inc type) は 5 種類で、IncFII が 11 株、Col が 9 株、IncFIA が 8 株、IncFIB が 2 株、IncQ1 が 2 株から検出された。同様に、鶏あるいは犬由来株からは 15 種類の Inc type が検出され、主要な Inc type では、IncFIB が 15 株、IncFII が 10 株、IncI1 が 8 株、IncFIC が 7 株、IncA/C が 6 株、IncFIA が 6 株、IncN が 5 株から検出された。MiSeq のデータに MinION のデータを追加して詳細に解析することにより、薬剤耐性遺伝子が搭載されるプラスミドの完全長塩基配列が明らかになる見込みである

D. 考察

1) GLASSへの報告

GLASSが求めるデータフォーマットでは、菌株のデータを入院外来別、年齢群別、性別、検体別に層別化している。一方、JANISでは通常入院患者のみを対象とし

て、年齢、性別、検体を分けていない。GLASSの集計で、検体や入院外来別で薬剤耐性率に違いがあることが明らかになった。今後JANISにおいてもGLASSに準じた集計を進めていく必要があると考えられる。

2) 食品由来耐性菌サーベイランスの構築

全国 23 地方衛生研究所の協力のもと、日本全国から分離されたヒト（有症者、大部分は便検体）及び食品（大部分は国産鶏肉）由来のサルモネラ、大腸菌の薬剤耐性の調査が精度管理された手法に基づき行える体制が構築された。その結果、ヒト由来サルモネラ株の血清型は非常に多様で多くの型が含まれていたが、食品由来株は 5 種類の型（*S. Infantis*、*S. Schwarzengrund*、*S. Manhattan* 等）が 85% を占め、ある程度限定された血清型が養鶏場等で定着している可能性が示唆された。食品由来耐性菌とヒト由来耐性菌の両方で認められる *S. Infantis*、*S. Schwarzengrund*、*S. Manhattan* では、ヒト由来株と食品由来株の耐性傾向に強い類似性があり、食品由来株がヒトサルモネラ症の感染源になっていることが示唆される。その中で *S. Infantis* ではヒト由来株の耐性率は食品由来株の 4 割程度で、鶏肉だけでなく、複数の食材の感染経路がある可能性がある。サルモネラ感染は、ヒトおよび食材由来の血清型間で薬剤耐性パターンの差異がみられ、それらは感染経路の違いによることが推察され、ワンヘルス・アプローチに基づく調査が感染制御に繋がることを期待される。

3) ワンヘルス・アプローチの継続性の重要性

JANIS 及び JVARM には食品由来薬剤耐性菌の情報は含まれないことから、環境動物 食品 ヒトを包括するワンヘルス・アプローチにおいて、地研における食品由来菌の耐性データは重要である。本研究班で開発された相互変換ソフトウェアによって、地研での薬剤耐性菌のデータをこれらと合わせ一元化することが可能となった。今後、三者のデータをナショナルサーベイランスとして充実させ、ワンヘルス・アプローチに基づ

く薬剤耐性制御に繋げていくためには、地研による食品由来耐性菌のモニターを継続して実施していくネットワーク整備が必要である。将来的には JANIS や JVARM のように事業として対応することが望ましい。その人的・資金的サポート面を含め、どのように進めるべきかの議論を深めていくことが重要である。

4) 家畜 食品 ヒト由来菌の耐性菌測定上のバイアスおよび問題点；

家畜 食品 ヒト由来耐性菌の耐性率の比較を可能にするため、耐性検査の使用薬剤や検査方法のプロトコールの標準化を進めてきたが、すべてを同一にするのは現在のところ難しい問題がある。JANIS においては、各病院で行われている耐性検査に依存しており、一元的精度管理の下で行われているわけではない。JVARM においては、一元化された精度管理の下で行われている。食品においては、今回の地方衛生研究所における調査においては同一プロトコールで行う体制を確立した。統一的精度管理に関しては、薬剤耐性においては多くの機関（公的、民間の機関など）が関与しているので、大変な課題も多いが、少なくとも *National surveillance* においてはきちんとすべきで、本研究班においてできる範囲の対応を進める予定である。

5) 耐性菌保菌者を介しての人 人伝播による拡散；

今回の調査でも、健康人の糞便（飲食店従事者）から ESBL 大腸菌が約 5 % 分離されている。健康保菌者が人 人伝播にどれくらい関与しているかの正確なデータは我が国においては把握されていない。耐性菌の母親から乳児への伝播、耐性菌の健康保菌の家族内伝播の重要性は文献的には指摘されてきたところである。今後、健康保菌者の耐性菌伝播に果たすリスク解析を菌株のゲノムレベルで行っていく予定である。リスクの程度が判明すれば、人 人伝播を防止する介入手法の検討に結びつけられるであろう。

6) コリスチン耐性株の伝播；

コリスチン耐性株は最近報告され、世界的に注目されている。今回の調査においても、我が国においても家畜、食品等から分離されることが明らかになった。コリスチンは長らく家畜等に感染予防的に使用されてきているが、人にはその毒性のため使用されてきていなかった。耐性が認められるような状況において、コリスチン耐性菌の拡散が危惧されている。我が国においては平成30年にコリスチンの家畜への飼料添加物としての指定を取り消し、使用を禁止したが、海外からの食品を

性が家畜の環境内で選択され、それが食肉に拡散していることは明らかであろう。健康人の腸内細菌叢の中に耐性遺伝子が既に入り込んでいることが文献的には報告されているので、食肉等を介しての遺伝子の伝播が起こっていると想定される。CREの治療にコリスチンの使用しての流入があるので、発生動向の継続とヒトへの拡散ルートの解析を引き続き行っていくことが重要である。

厚生労働省科学研究費(平成30年度～平成32年度)

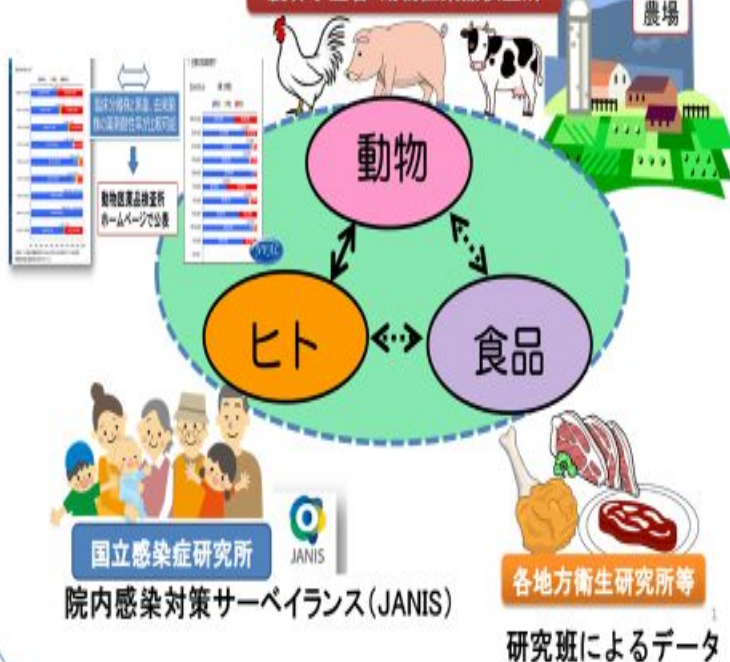
食品由来薬剤耐性菌の発生動向及び衛生対策に関する研究

大腸菌・サルモネラ
コリスチン耐性遺伝子

薬剤耐性サーベイランス体制

動物由来薬剤耐性菌モニタリング(JVARM)

農林水産省 動物医薬品検査所



貢献:ワンヘルス

動向調査報告書作成、
WHO・GLASSへの報告、薬剤
耐性菌施策等への利用



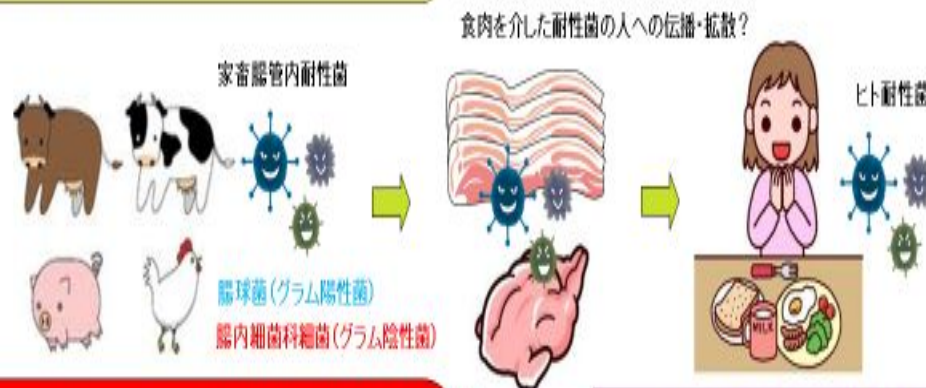
研究課題: 食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究

研究目的:

- ①大腸菌、腸球菌、サルモネラ、カンピロバクターを中心に、ヒト由来・家畜由来細菌に加え、食品由来細菌の薬剤耐性に関するデータを集計、統合及び解析して、ワンヘルスアプローチによる相互のデータの比較を行える体制の構築、また、WHOの薬剤耐性のグローバルサーベイランス(GLASS)に提出するデータの作成
- ②家畜、食品、ヒト由来薬剤耐性菌/耐性遺伝子の分子的解析を行い、それらの伝播様式を解明。

期待される成果

- 1) 食肉由来の薬剤耐性菌分離状況の把握
- 2) 食肉由来菌と家畜・臨床分離菌との因果関係の解明
- 3) 食肉を介した耐性菌のヒトへの伝播、拡散の制御
- 4) 家畜・ヒト等への抗菌薬適正使用のための科学的根拠



研究概要・方法

- 1) 食肉検体(国内産食肉、輸入食肉)の収集
- 2) 食肉からの各種耐性菌(ESBL, AmpC, Mcr等)の検出
- 3) 食品由来耐性菌データの収集・統合・分析
- 3) と畜場・食鳥処理場汚染および由来耐性株の解析
- 4) 市販肉の交差汚染経路の解析
- 5) 各種耐性遺伝子と伝播経路の分子遺伝学的解析

今年度のこれまでの成果

- 1) 地方衛生研究所のネットワークで鶏肉等の食品由来耐性菌の分離・解析を行っている
- 2) 採卵鶏の鶏糞の43%からESBL/AmpC産生大腸菌が検出された
- 3) 食鳥処理段階での調査では、... 盲腸内容の約92%、鶏肉の約58%からESBL/AmpC産生大腸菌が分離された
- 4) 国内産鶏肉の62%、輸入鶏肉の29.1%からESBL/AmpC産生腸内細菌科細菌(主に大腸菌)が検出された
- 5) 健康者由来大腸菌の5.3%がCTX耐性、9.4%がOPFX耐性であった
- 6) 鶏、鶏肉、臨床由来ESBL産生菌のWGS解析を行っている