

平成30年度食品の安全確保推進研究事業

「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」

分担課題名：家畜由来腸内細菌の疫学的研究：JVARMとJANISの連携について

分担研究者：川西 路子（農林水産省動物医薬品検査所）

研究協力者：木島 まゆみ（農林水産省動物医薬品検査所）

研究協力者：松田 真理（農林水産省動物医薬品検査所）

研究協力者：白川 崇大（農林水産省動物医薬品検査所）

研究要旨

薬剤耐性(AMR)対策アクションプランの戦略2.5 ヒト、動物、食品、環境等に関する統合的なワンヘルス動向調査の実施の取組において、「ヒト、動物、食品における薬剤耐性に関する動向調査・監視に関するデータ連携の実施」が項目として記載されている。また、同戦略に「食品中の薬剤耐性に関する動向調査・監視体制の確立にむけた調査研究の実施」が記載されており、本研究事業において、愛媛県立衛生環境研究所の四宮所長らによりヒト及び食品由来の検体からサルモネラを対象として全国調査が進められているところである。

平成30年度は、平成25年度～28年度の病畜由来サルモネラのアンチバイオグラムを作成し、国立感染症研究所と情報を共有するとともに動薬検HPで公表し、ヒト、食品及び家畜由来サルモネラ属菌の血清型割合と血清型毎の薬剤耐性率を比較した。その結果、由来によって検出される血清型とその割合が異なること、食品と健康鶏から多く分離されるInfantis及びSchwarzengrundにおいては食品、病気鶏、健康鶏で耐性率も類似していることが確認された。

また、ヒト用医薬品として注射剤が承認され、医療上重要な抗菌性物質として再認識されているコリスチンについて、平成29年度に食鳥処理場及びと畜場で分離された大腸菌のうち、コリスチンのMICが $2\mu\text{g/mL}$ 以上の株についてコリスチン耐性遺伝子(*mcr-1*～*mcr-5*)の保有状況を確認したところ、*mcr-2*、*mcr-3*、*mcr-4*は検出されず、*mcr-1*及び*mcr-5*遺伝子は検出されたが低率（各年、動物種毎に、いずれも5%以下）であった。

A. 研究目的

家畜に由来する薬剤耐性菌が畜産食品を介して人に伝播し、人の健康に危害を与える可能性について評価するため、国内では動物由来薬剤耐性菌モニタリング(JVARM)が構築されている。

一方、医療の分野においては、医療機関における院内感染の発生状況、薬剤耐性菌の分離状況および薬剤耐性菌による感染症の発生状況を調査すること

で、我が国の院内感染の概況を把握し、医療現場への院内感染対策に有用な情報の還元等を行うことを目的に、厚生労働省院内感染対策サーベイランス(JANIS)が構築されている。

本研究では、薬剤耐性(AMR)対策アクションプランの戦略2.5 ヒト、動物、食品、環境等に関する統合的なワンヘルス動向調査の実施の取組において、「ヒト、動物、食品における薬剤耐性に関する動向

調査・監視に関するデータ連携の実施」のため、JVARMデータの整備作業を継続した。昨年度国立感染症研究所において、食品由来のサルモネラについてアンチバイオグラムを作成するためのソフトが作成されたことから、当該ソフトにJVARMの農場由来サルモネラのデータを入力しアンチバイオグラムを作成することとした。

また、JVARMで収集されたサルモネラについて各血清型の割合及び血清型毎の各薬剤の耐性率を本研究事業において愛媛県立衛生環境研究所の四宮所長らが報告しているヒト、食品と比較することとした。

また、ヒト用医薬品として注射剤が承認され、医療上重要な抗菌性物質として再認識されているコリスチンについては伝達性耐性遺伝子 *mcr-1* が国産の鶏肉からも検出されおり、新たなプラスミド性コリスチン耐性遺伝子 *mcr-2*、*mcr-3*、*mcr-4*、*mcr-5* が国内外で報告されていることから、家畜で使用されるコリスチンのヒト医療への影響について評価するために家畜におけるプラスミド性コリスチン耐性遺伝子の保有状況を把握することを目的とする。

B. 研究方法

(1) と畜場及び食鳥処理場由来株の大腸菌についてアンチバイオグラムを作成

国立感染症研究所において開発されたアンチバイオグラム作成ソフトに抗菌剤の種類及び薬剤測定 range をJVARMに合うよう改修し、農場由来株のサルモネラのMIC値を入力し、アンチバイオグラムを作成した。

(2) ヒト、食品及び家畜由来サルモネラ属菌の血清型割合と血清型毎の薬剤耐性率の比較

本研究事業において愛媛県立衛生環境研究所の四宮所長より報告された平成27年～29年に全国の地方衛生研究所より分離されたヒト及び食品由来のサルモネラ属菌と平成26年～27年に農場の病気動物及び食鳥処理場の鶏由来のサルモネラ属菌の各血清型の割合と血清型毎の薬剤耐性率を比較した。

(3) と畜場及び食鳥処理場由来大腸菌におけるプラスミド性コリスチン耐性遺伝子の保有状況

について確認した。

平成28年度のMIC $2\mu\text{g/mL}$ 以上の株について遺伝子を抽出し、各コリスチン耐性遺伝子 *mcr-1* から *mcr-5* について、鈴木らが本研究事業において報告しているマルチプレックスPCR法に基づき、遺伝子を検出した。

C. 研究結果

(1)農場由来のサルモネラについてアンチバイオグラムを作成

平成24～28年度農場由来サルモネラのアンチバイオグラムをCLSI2012のSIR基準により作成し(例; 図1～3:その他の年はHP参照)、動物医薬品検査所HP

(http://www.maff.go.jp/nval/yakuzai/yakuzai_p3-1.html)に掲載した。また、入力データを国立感染症研究所と共有した。

(2) ヒト、食品及び家畜由来サルモネラ属菌の血清型割合と血清型毎の薬剤耐性率の比較

血清型 *Infantis*、*Schwarzengrund* はヒト、食品、農場由来の病菌の鶏、食鳥処理場由来の健康な鶏から分離され、食品と健康な鶏から分離されたサルモネラに占める両血清型の割合はいずれも25%以上であった。(図4)。Enteritidisはヒト及び病気の鶏由来から10%程度、Manhattanはヒト、食品及び健康な鶏から分離された。一方、Saintpoulはヒト由来、Agonaは食品由来 *Cholerasuis*、*Derby*、*Braenderup*、*Newport*、*Mbandaka*、*Dublin* については家畜からのみ分離された。なおAgonaは2014年から2015年には分離されなかったが、家畜から分離されることもある血清型である。

また *Infantis* の耐性率を比較したところ、食品と健康鶏は各薬剤ともに同等の耐性率を示した一方、ヒト由来はKM、SM、TCは食品及び家畜に比べ、低い耐性率を示した。

Schwarzengrund は、食品と健康鶏は各薬剤ともに同等の耐性率を示した一方、ヒト由来はABC、CPに対しては食品由来及び家畜由来に比べ、低い耐性率を示した。(図5)

Manhattanは、ヒト、食品、家畜由来間で同等の耐性率を示し、Enteritidisは、家畜からの分離は少なく、

耐性も異なった。(図6)

(3)と畜場及び食鳥処理場由来大腸菌におけるプラスミド性コリスチン耐性遺伝子の保有状況について *mcr-2*、*mcr-3* 及び *mcr-4* 遺伝子についていずれの菌株からも分離されなかった。*mcr-1* は牛由来株から2株(0.6%：割合は、各年の各動物種由来株全株に対するもの)、豚由来株から4株(3.3%)、鶏由来株から、3株(1.5%)検出された。また、*mcr-5* 遺伝子は牛由来株は2株(0.6%)、豚由来株は1株(0.8%)分離され、鶏由来株からは検出されなかった。平成24年から28年までの経年変化を図7に示す。

D. 考察

食品由来株については、全国の地方衛生研究所において収集されたサルモネラについてモニタリングが開始されたことから、JVARMの農場由来のサルモネラについてCLSI2012のSIR基準によるアンチバイオグラムを作成し動物医薬品検査所HPに掲載するとともに、入力データを国立感染症研究所と共有した。今後「薬剤耐性ワンヘルス動向調査報告書」及び「ワンヘルス Web サイト」に活用することが可能であると考えられる。

農場の病気動物及び食鳥処理場の鶏由来のサルモネラ属菌と愛媛県立衛生環境研究所の四宮所長より報告された全国の地方衛生研究所より分離されたヒト及び食品由来のサルモネラ属菌の各血清型の割合と血清型毎の薬剤耐性率を比較したところ、食品と健康鶏から分離されたサルモネラにおいて、*Infantis*、*Schwarzengrund*の占める割合が高く、両血清型の各薬剤の薬剤耐性率が同等であった。一方、ヒト由来株においては同血清型におけるヒト由来株の薬剤耐性率は少し異なる傾向を示した。そのため、ヒトの両血清型のサルモネラについては他の感染源がある可能性も考えられた。

Manhattanはヒト、食品、健康な鶏から10%前後分離され同等の耐性率を示したことから、鶏、食品、ヒトは同じ感染源である可能性が示唆された。

一方、ヒトで分離されるEnteritidisは、食品、家畜からの分離は少なく、耐性も異なることから、異なる感染源である可能性が示唆された。

なお、Saintpoulはヒト由来、Agonaは食品由来

Cholerasuis、Derby、Braenderup、Newport、Mbandaka、Dublinについては家畜由来からのみから検出されており、血清型によっては、宿主の特異性が認められた。

今回、各由来株の血清型の割合と血清型毎の耐性率を示したが、感染ルート、由来などについての科学的な根拠を得るためには、性状や遺伝子解析による比較などを実施する必要があると考えられる。

また、プラスミド性コリスチン耐性遺伝子の動向を把握するため、と畜場及び食鳥処理場由来大腸菌における*mcr-1*～*mcr-5*遺伝子の保有状況について確認したところ、*mcr-2*、*mcr-3*、*mcr-4*遺伝子は検出されず、*mcr-1*及び*mcr-5*遺伝子は検出されたが低率であった。白井らの日本の一部の豚由来株における報告(2017 Int J Antimicrob Agents)においても、病畜由来株からは*mcr-1*、*mcr-3*、*mcr-5*が検出されているが、農場における健康な豚由来からは今回の調査と同様に*mcr-1*及び*mcr-5*のみが低率に分離されている。

なお、コリスチン耐性については食品安全委員会におけるリスクの程度は「中等度」との評価を受けて、農林水産省では動物用医薬品としては、これまでに食品安全委員会が「中等度」と評価した医療上重要度の高いフルオロキノロン製剤などと同様、平成30年4月以降コリスチンを第二次選択薬として位置づけ、飼料添加物としては同年7月に指定を取り消すリスク管理措置を講じた。

そのため来年度以降もコリスチンにおけるリスク管理措置の効果を検証し、ヒト医療への影響について評価するためにも引き続きと畜場及び食鳥処理場由来大腸菌におけるプラスミド性コリスチン耐性遺伝子を調査していく必要があると考える。

E. 結論

農場由来のサルモネラについてアンチバイオグラムを作成し動物医薬品検査所HPに掲載した。また、ヒト、食品、動物由来サルモネラ属菌の血清型割合と血清型毎の薬剤耐性率を比較し、由来によって検出される血清型とその割合が異なること、食品と健康鶏から多く分離される*Infantis*及び*Schwarzengrund*においては食品、病気鶏、健康鶏で耐性率が類似していることが確認された。と畜場及

び食鳥処理場由来大腸菌におけるプラスミド性コロスチン耐性遺伝子の検出試験の結果、昨年度と同様に *mcr-2*、*mcr-3*、*mcr-4* 遺伝子は検出されず、*mcr-1* 及び *mcr-5* 遺伝子は検出されたが低率であった。

F. 健康危害情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

(1) 木島 まゆみ、川西路子、白川崇大、松田真理：動物由来薬剤耐性モニタリング (Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring; JVARM) における最近の取組み, 獣医学雑誌

2. 学会等発表

- (1) 白川崇大、成嶋理恵、小澤真名緒、阿保均、永尾暢子、松田真理、川西路子、木島まゆみ「家畜由来細菌における抗菌剤の最小発育阻止濃度 (MIC) とディスク阻止円径の関係」第 161 回日本獣医学会学術集会 (2018 年 9 月、つくば)
- (2) 川西路子「薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプランに基づく JVARM (Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring System) の強化について—愛玩 (伴侶) 動物のモニタリングの取組—」第 8 回日本医師会・日本獣医師会による連携シンポジウム「家庭内ワンヘルスの取組み—人と動物における薬剤耐性 (AMR) の実態と課題」(平成 30 年 11 月; 日本医師会館大講堂)
- (3) 木島まゆみ「NVAL と FAMIC -AMR に関する活動と OIE コラボレーティングセンターとしての地域への貢献—」薬剤耐性対策の今を知る

会～世界の動き、日本の動き～(2018 年 12 月、東京大学)

- (4) 川西路子「動物由来薬剤耐性菌モニタリング (JVARM) の概要と薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプランへの対応」平成 30 年度日本獣医師会 獣医学術年次大会(シンポジウム) (2019 年 2 月、新横浜プリンスホテル)

3. 業界関係者向け説明会

- (1) 松田真理「豚における薬剤耐性菌の動向」平成 30 年度家畜衛生講習会 (豚疾病特殊講習会) (2017 年 7 月、つくば)
- (2) 白川崇大「鶏における薬剤耐性菌の動向」平成 30 年度家畜衛生講習会 (鶏疾病特殊講習会) (2018 年 6 月、つくば)
- (3) 川西路子「薬剤耐性対策アクションプランへの対応及び JVARM の成績」第 39 回 飼料の安全性に関する検討会 (2018 年 7 月、つくば)
- (4) 木島まゆみ「薬剤耐性菌問題について-薬剤耐性(AMR)対策アクションプラン (2016-2020) における取組みを中心に-」動物医薬品協同組合夏期研修会 (2018 年 8 月、東京)
- (5) 白川崇大、川西路子、成嶋理恵、永尾暢子、阿保均、松田真理、小澤真名緒、木島まゆみ「最近の動物医薬品検査所における薬剤耐性に係る研究業績」第 59 回全国家畜保健衛生業績発表会 (2018 年 9 月、ヤクルトホール; 東京)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

※ JVARM 事業を通して菌株の提供等ご協力いただきました全国の家畜保健衛生所の諸先生方に深謝いたします。

図1 2012年 農場由来株

Salmonella spp. 畜種 (牛 N=82)

■ 感性(S) ■ 中間(I) ■ 耐性(R)

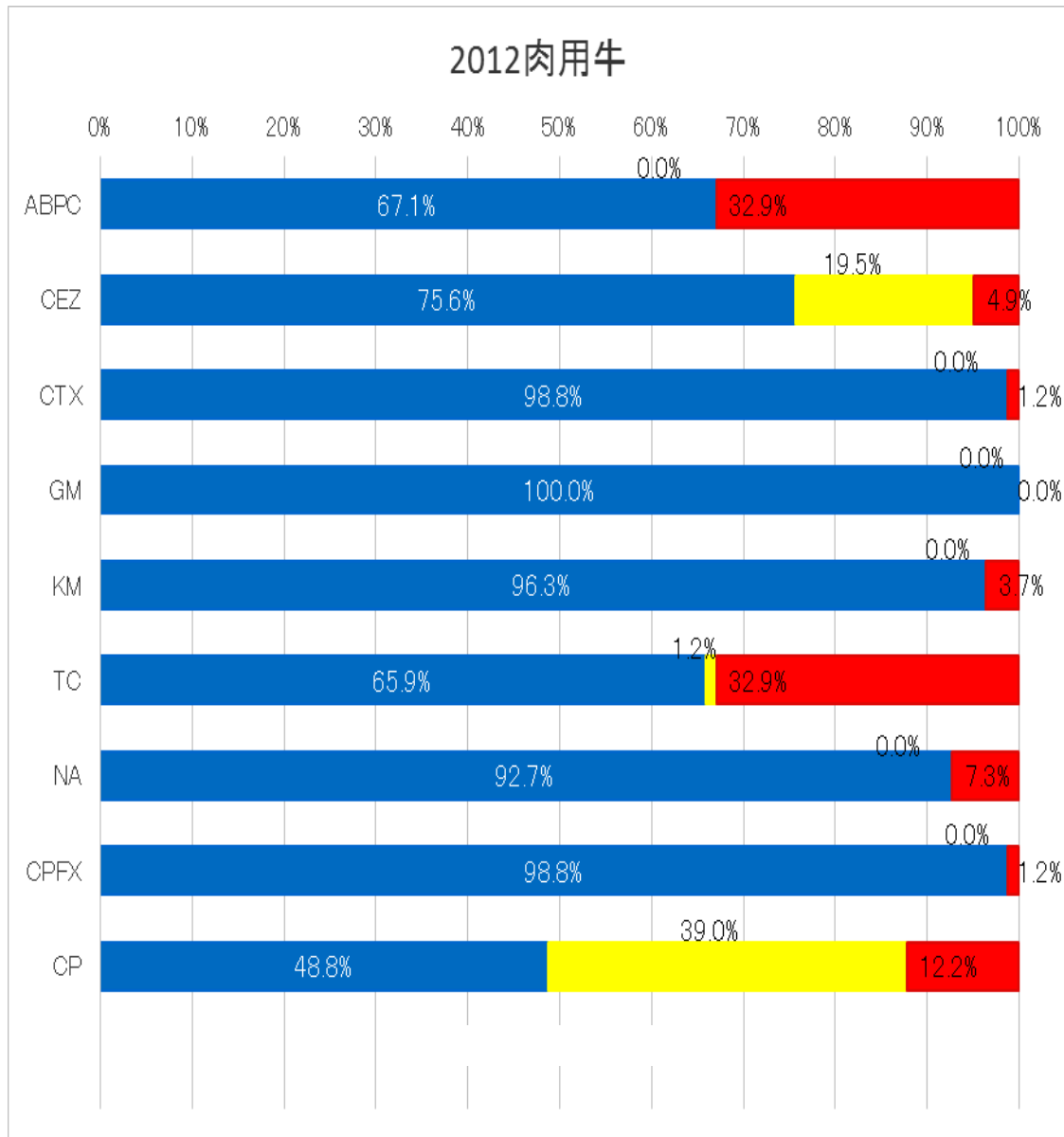


図2 2012年 農場由来株

Salmonella spp.
畜種 (豚 N=83)

■ 感性(S) ■ 中間(I) ■ 耐性(R)

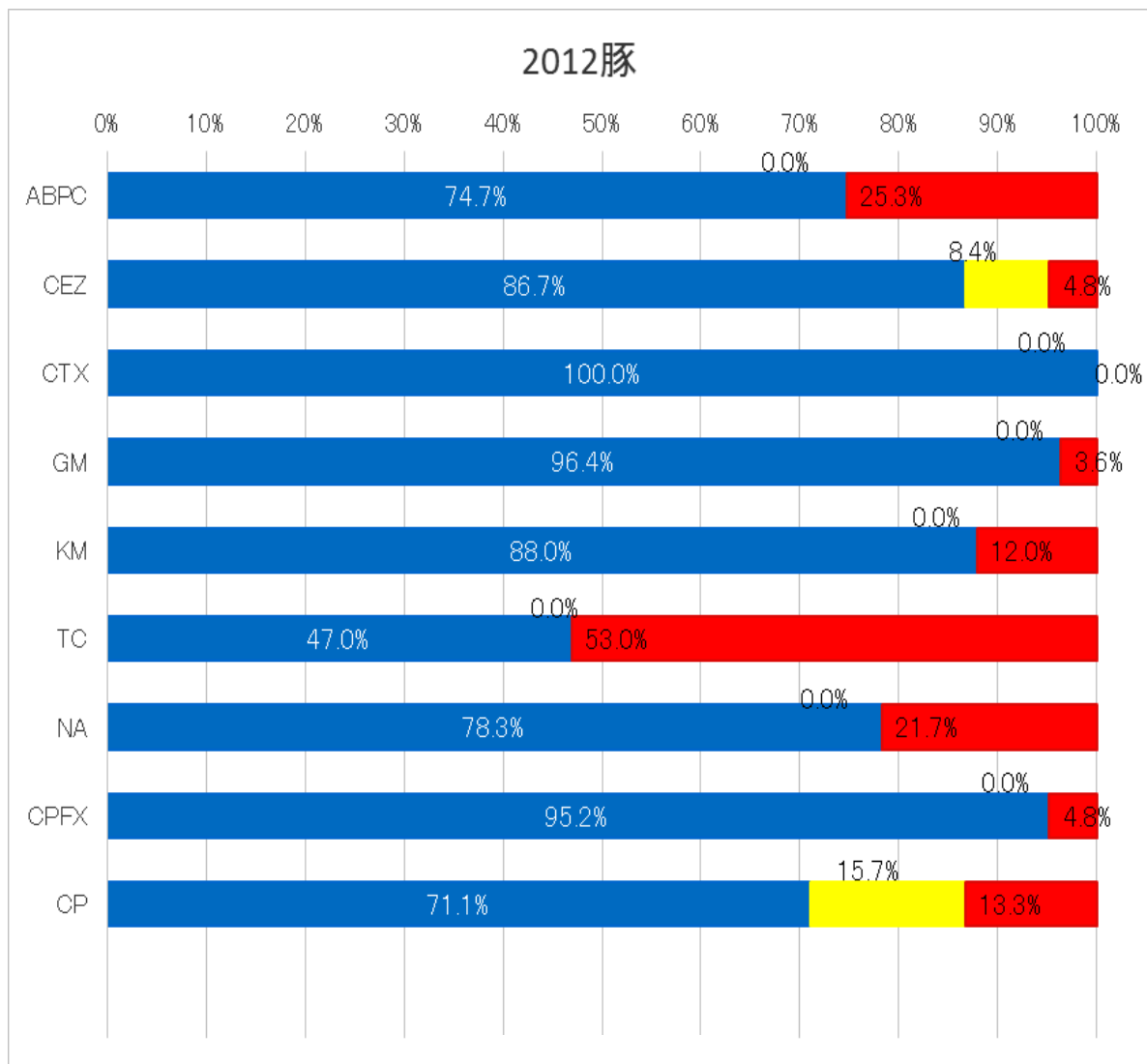
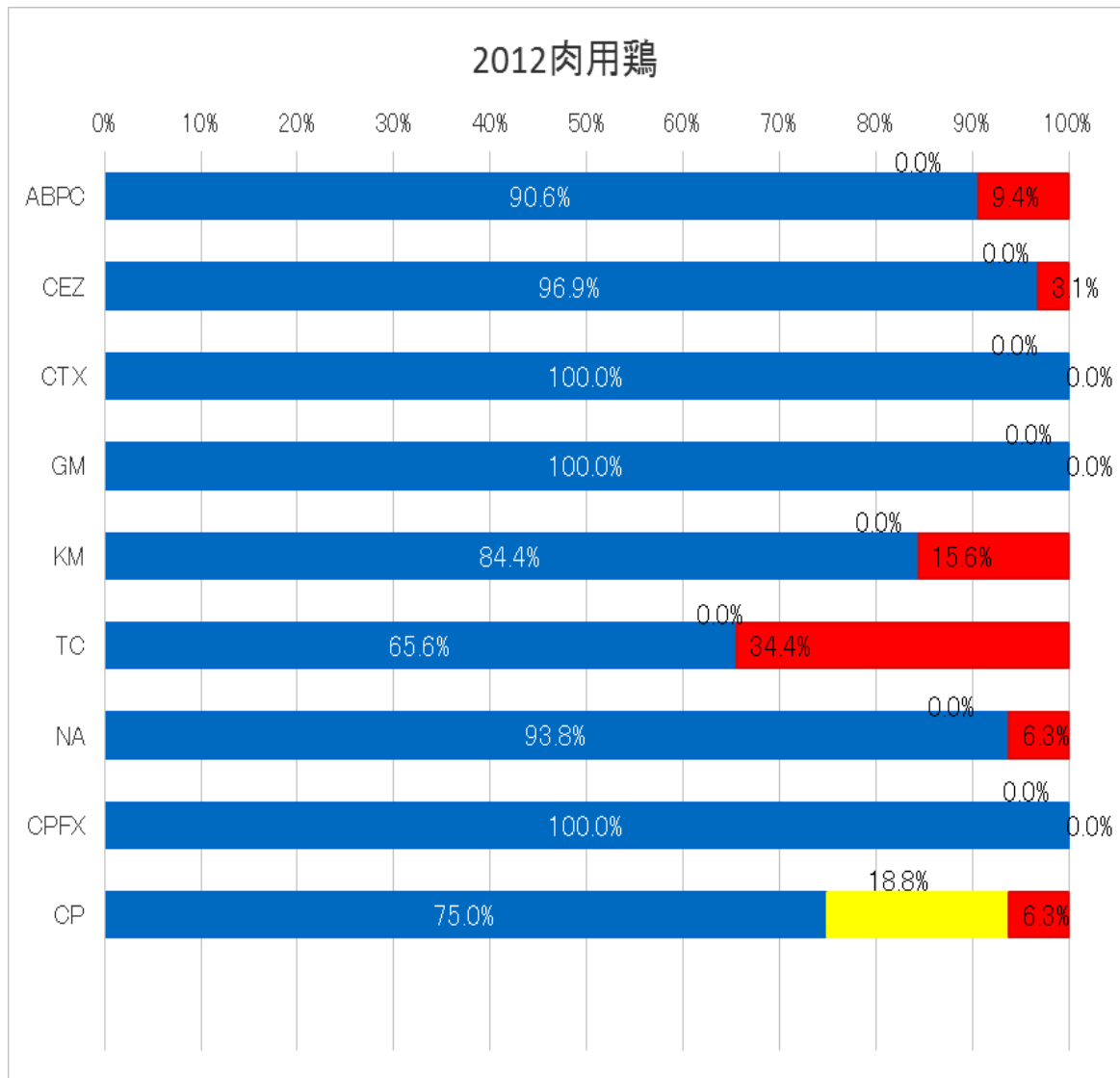


図3 2012年 農場由来株

Salmonella spp.

畜種 (肉用鶏 N=32)

■ 感性(S) ■ 中間(I) ■ 耐性(R)



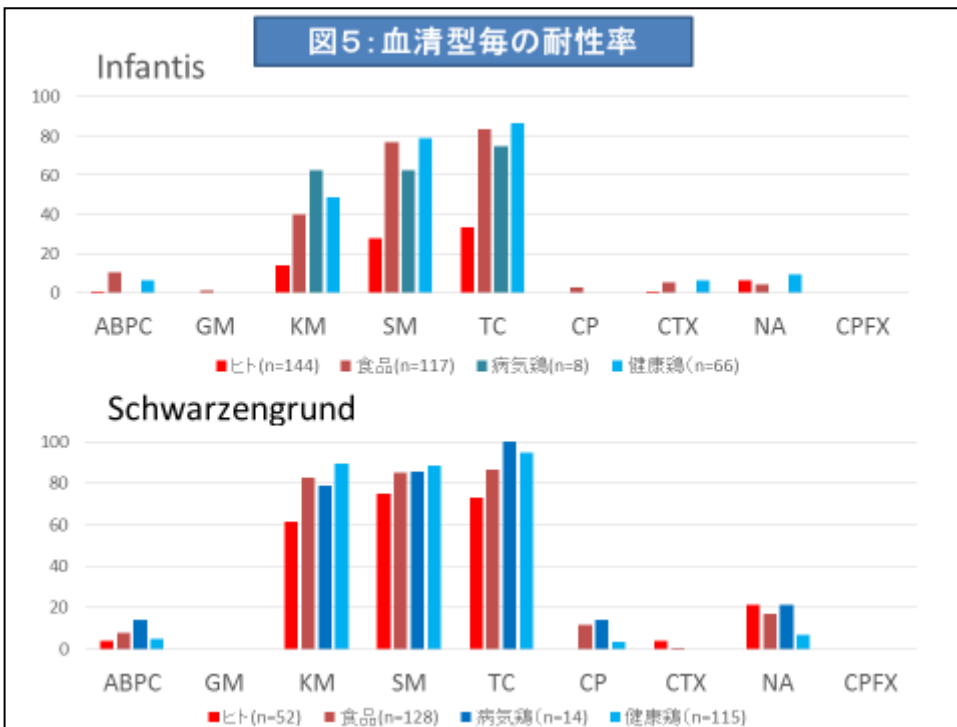
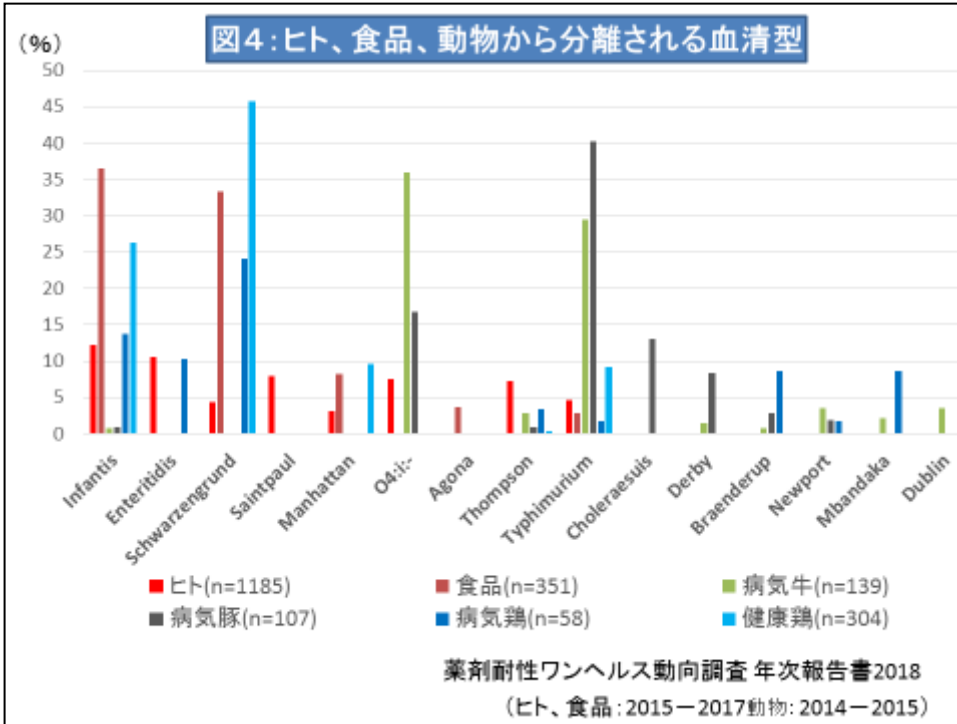


図6：血清型毎の耐性率

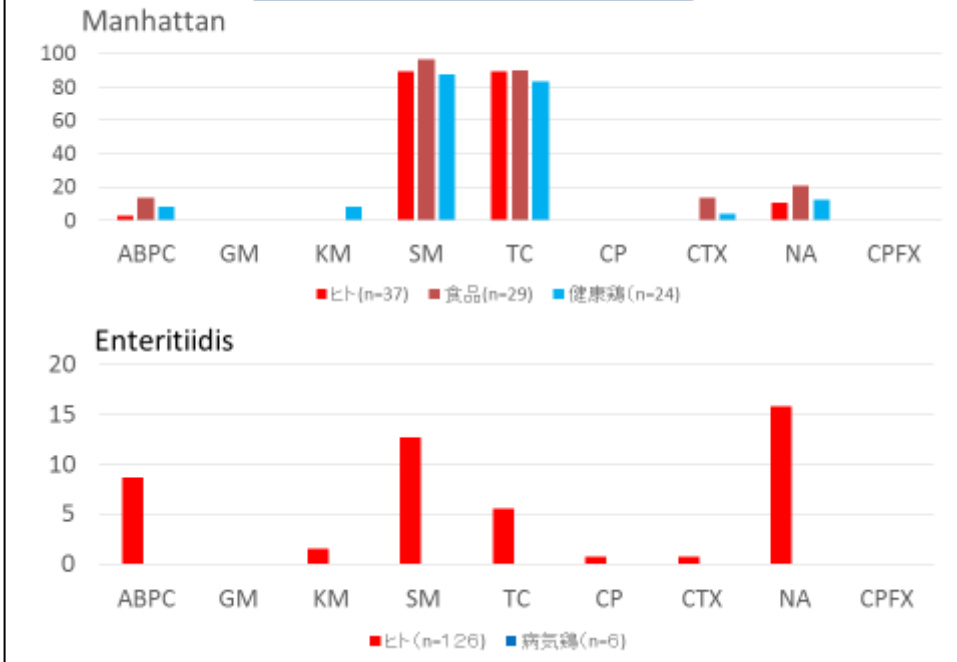


図7：と畜場及び食鳥処理場由来大腸菌
プラスミド性コリスチン耐性遺伝子 (*mcr-1* ~ *mcr-5*) の検出

