

令和元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：小澤 真名緒（農林水産省動物医薬品検査所）

研究協力者：嶋崎 洋子（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：赤間 亮子（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）

研究協力者：古谷 ゆかり（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。

令和元年度は、平成28年度～29年度のと畜場及び食鳥処理場由来大腸菌及びサルモネラと、平成29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、食鳥処理場由来のサルモネラの血清型は、食品由来のサルモネラと同じ傾向が認められた一方、ヒト由来のサルモネラの血清型は食鳥処理場由来及び食品由来に比べて多様であり、鶏又は食品を介したものの他に多様な原因がある関連性が示唆された。

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 µg/mL以上の株についてコリスチン耐性遺伝子 (*mcr-1*～*mcr-8*)の保有状況を確認したところ、*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 (JA

NIS) 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。また、と畜場及び食鳥処理場由来大腸菌及びサルモネラ、病畜由来サルモネラについて、国立感染症研究所において作成されたソフトを用いて、引き続きアンチバイオグラムを作成することとした。

JVARM で収集されたサルモネラについては、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。

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ており、新たなプラスミド性コリスチン耐性遺伝子 *mcr-2*～*9* 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した。

B. 研究方法

(1) と畜場及び食鳥処理場由来株等におけるアンチバイオグラムの作成

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、と畜場及び食鳥処理場由来の大腸菌及びサルモネラ、病畜由来のサルモネラの 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と食鳥処理場の鶏由来のサ

ルモネラの各血清型の割合と血清型毎の薬剤耐性率を比較した。なお、昨年度は鶏由来のサルモネラについては平成 26 年～27 年の値を用いたが、今年度は他と合わせて平成 27 年～29 年値を用いた。

(3) と畜場及び食鳥処理場由来大腸菌及びサルモネラ、病畜由来サルモネラ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 年度及び 29 年度の MIC が 2 µg/mL 以上の株について DNA を抽出し、各コリスチン耐性遺伝子 *mcr-1* から *mcr-8* 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) と畜場及び食鳥処理場由来株等におけるアンチバイオグラムの作成

平成 28～29 年度のと畜場及び食鳥処理場由来大腸菌及びサルモネラ、病畜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。平成 28 年度と 29 年度を比較して、いずれも耐性の傾向に大幅な変動は認められなかった。

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

サルモネラの血清型について、食鳥処理場由来と食品（約 9 割は国産鶏肉）由来及びヒト由来の比較（図 4）では、食鳥処理場由来のサルモネラと食品由来サルモネラでは、割合が大きかった上位 5 つの血清型が同じであった。内訳は異なるものの、その 5 つの血清型が全体においてそれぞれ 98% 及び 84% を占め、食鳥処理場由来のサルモネラと食品由来サルモネラで関連性があることが示唆された。一方、ヒト由来株では血清型は食鳥処理場及び食品由来に比べて多様であり、食鳥処理場及び食品由来の上位 5 血清型の占める割合は 24% であった。ヒト由来の

サルモネラは鶏及びその食品を介したものの他に多様な原因がある可能性が示唆された。

食鳥処理場由来の大半を占める上位 2 血清型の *Schwarzengrund* 及び *Infantis* について耐性率を比較した結果、*Schwarzengrund* では鶏由来と食品由来は KM、SM、TC で同等の耐性率を示した一方、ヒト由来は KM、CP に対しては鶏由来及び食品由来に比べ低い耐性率を示した（図 5）。また、CTX 耐性はヒト由来で高かった。*Infantis* では、各薬剤について鶏由来と食品由来では同等の耐性率を示した一方、ヒト由来はほとんどの薬剤でそれらよりも低い耐性率を示した。両血清型ともに鶏由来と食品由来での類似性が確認されるが、ヒト由来株では耐性率が食品・食鳥処理場と異なる点があることから、ヒトにおける両血清型の由来は鶏及びその食品由来以外にもある可能性が示唆された。

(3)と畜場及び食鳥処理場由来大腸菌及びサルモネラ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

大腸菌では、*mcr-1* 及び *mcr-5* 遺伝子が確認された（図 6）。H29 年分離株では、*mcr-1* は牛由来株から 1 株（0.4%：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 3 株（3.6%）、鶏由来株から 5 株（3.3%）検出された。また、*mcr-5* 遺伝子は鶏由来株は 1 株（0.7%）検出され、牛及び豚由来株からは検出されなかった。食鳥処理場由来サルモネラからは、*mcr* 遺伝子は検出されなかった。大腸菌における平成 24 年から 29 年までの経年変化を図 6 に示す。

D. 考察

大腸菌に引き続き、昨年度、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たが、今年度は食鳥処理場由来サルモネラについてもアンチバイオグラムを作成した。これらのアンチバイオグラムを動物医薬品検査所 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「薬剤耐性ワンヘルス Web サイト」において、ヒト由来、食品由来、動物由来での比較等に活用することが可能であると考え

られる。

食鳥処理場の鶏由来のサルモネラと全国の地方衛生研究所において分離されたヒト及び食品由来のサルモネラ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、鶏と食品から分離されたサルモネラにおいて、*Schwarzengrund* 及び *Infantis* の占める割合が高く、鶏と食品由来の両血清型における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、両血清型における薬剤耐性率は鶏と食品由来株と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、鶏と食品以外の他の感染源がある可能性も考えられた。今後、より具体的な由来間の関連性については、全ゲノム解析等による比較を行う必要があると考えられる。

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及びサルモネラにおける *mcr-1* ~ *mcr-8* 遺伝子の保有状況について確認したところ、*mcr-1* 及び *mcr-5* 遺伝子は検出されたが、昨年度と同様に平成 29 年度も低率であった。

家畜におけるコリスチンの使用が食品を通じてヒトの健康に影響を与えるリスクについては、食品安全委員会におけるリスク評価の結果リスクの程度は「中等度」とされている。この結果を受け、農林水産省では、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 月以降動物用医薬品としての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。現在のところ健康家畜由来大腸菌におけるコリスチンの MIC 及び *mcr* 遺伝子の保有率に変動はなく、食鳥処理場由来サルモネラから *mcr* 遺伝子は検出されていない。しかし、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及びサルモネラ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

と畜場及び食鳥処理場由来の大腸菌及びサルモネラ、病畜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。いずれも耐性の傾向に大幅な変動は認められなかった。また、ヒト、食品、動物由来サルモネラ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、食品と鶏から多く分離される *Infantis* 及び *Schwarzengrund* においては食品由来と鶏由来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及びサルモネラにおけるプラスミド性コリスチン耐性遺伝子の検出試験の結果、昨年度と同様に *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) Kijima M., Shirakawa T., Uchiyama M., Kawani shi M., Ozawa M., Koike R. Trends in the serovar and antimicrobial resistance in clinical isolates of *Salmonella enterica* from cattle and pigs between 2002 and 2016 in Japan J Appl Microbiol 127:1869-1875, 2019.

2. 学会等発表

- (1) 川西路子 「AMR アクションプランに基づく JVARM の強化、今後の JVARM」第 46 回動物用抗菌剤研究会シンポジウム「JVARM20 周年を迎えて」(2019 年 4 月；日本獣医生命科学大学)
- (2) 白川崇大、関塚剛史、黒田誠、小澤真名緒、阿保均、古谷ゆかり、赤間亮子、松田真理、木島まゆみ、嶋崎洋子、川西路子「ブロイラー由来第 3 世代セファロスポリン耐性大腸菌が保有する *bla*CMY-2 陽性 *IncI1*、*IncB/O/K/Z* 及び *IncA/C2* の海外由来株との比較解析」第 162 回

日本獣医学会学術集会 (2019 年 9 月、つくば)

- (3) 嶋崎洋子、川西路子「薬剤耐性(AMR)対策アクションプランに基づく動物由来薬剤耐性菌モニタリング(JVARM : Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring System)の強化について」第 31 回日本臨床微生物学会シンポジウム「日本の薬剤耐性に関するナショナルサーベイランス」(2020 年 2 月、石川県立音楽堂)

3. 業界関係者向け説明会

- (1) 白川崇大「鶏における薬剤耐性菌の動向」平成 31 年度家畜衛生講習会 (鶏疾病特殊講習会) (2019 年 6 月、つくば)
- (2) 松田真理「豚における薬剤耐性菌の動向」平成 31 年度家畜衛生講習会 (豚疾病特殊講習会) (2019 年 7 月、つくば)
- (3) 嶋崎洋子「薬剤耐性対策アクションプランと JVARM の取り組み」第 40 回 飼料の安全性に関する検討会 (2019 年 8 月、さいたま新都心)
- (4) 嶋崎洋子「薬剤耐性に関する最近の動き」令和元年度第 1 回東海地域生乳安全安心協議会 (2019 年 8 月、名古屋)
- (5) 白川崇大「ブロイラー由来第 3 世代セファロスポリン耐性大腸菌が保有する *bla*CMY-2 保有 *IncI1*、*IncB/O/K/Z* 及び *IncA/C2* の海外由来株との比較解析」令和元年度家畜衛生研修会 (2019 年 10 月、つくば)

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 2017年 と畜場由来株

大腸菌 畜種（肉用牛 N=252）

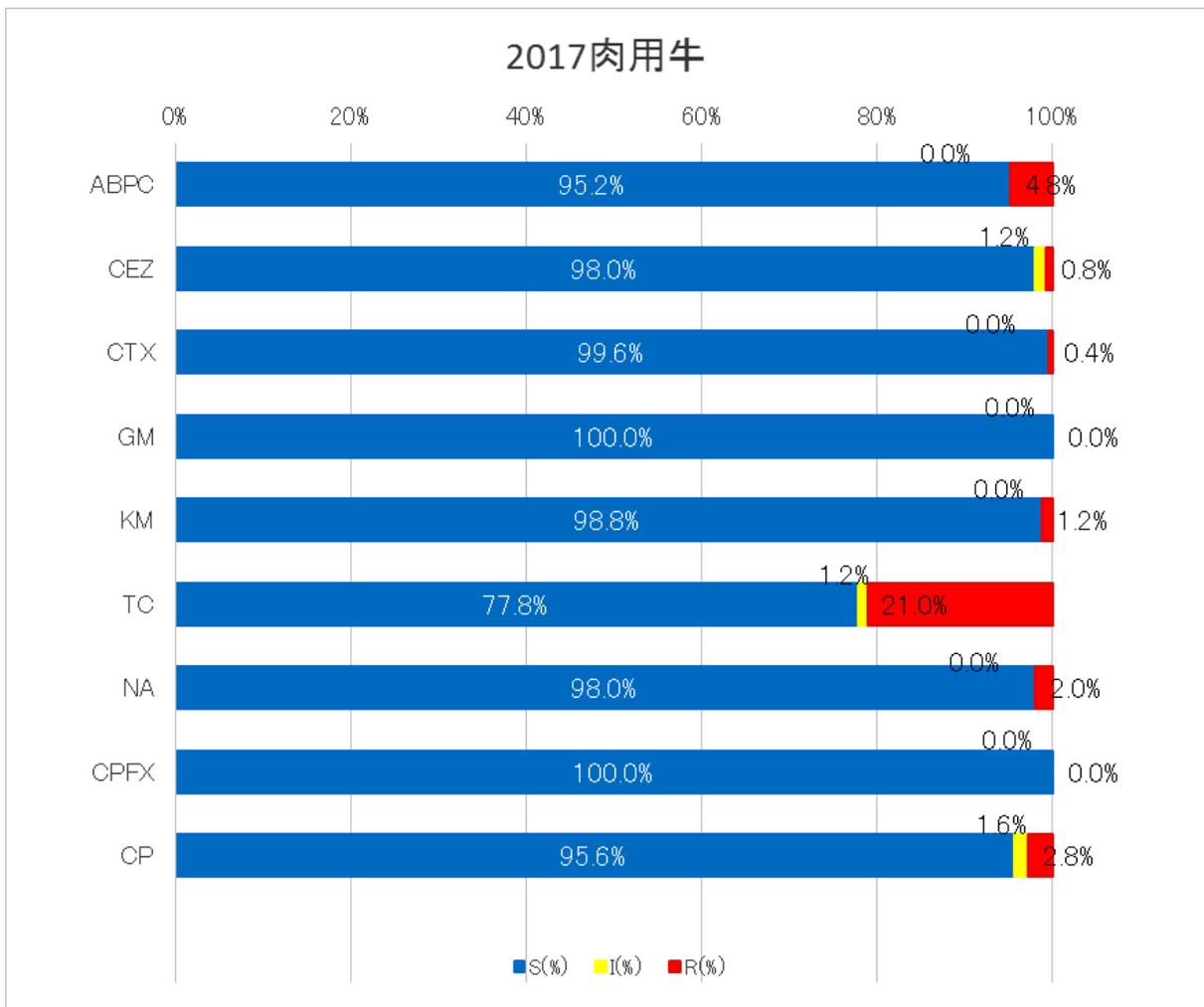


図2 2017年 と畜場由来株

大腸菌 畜種 (豚 N=83)

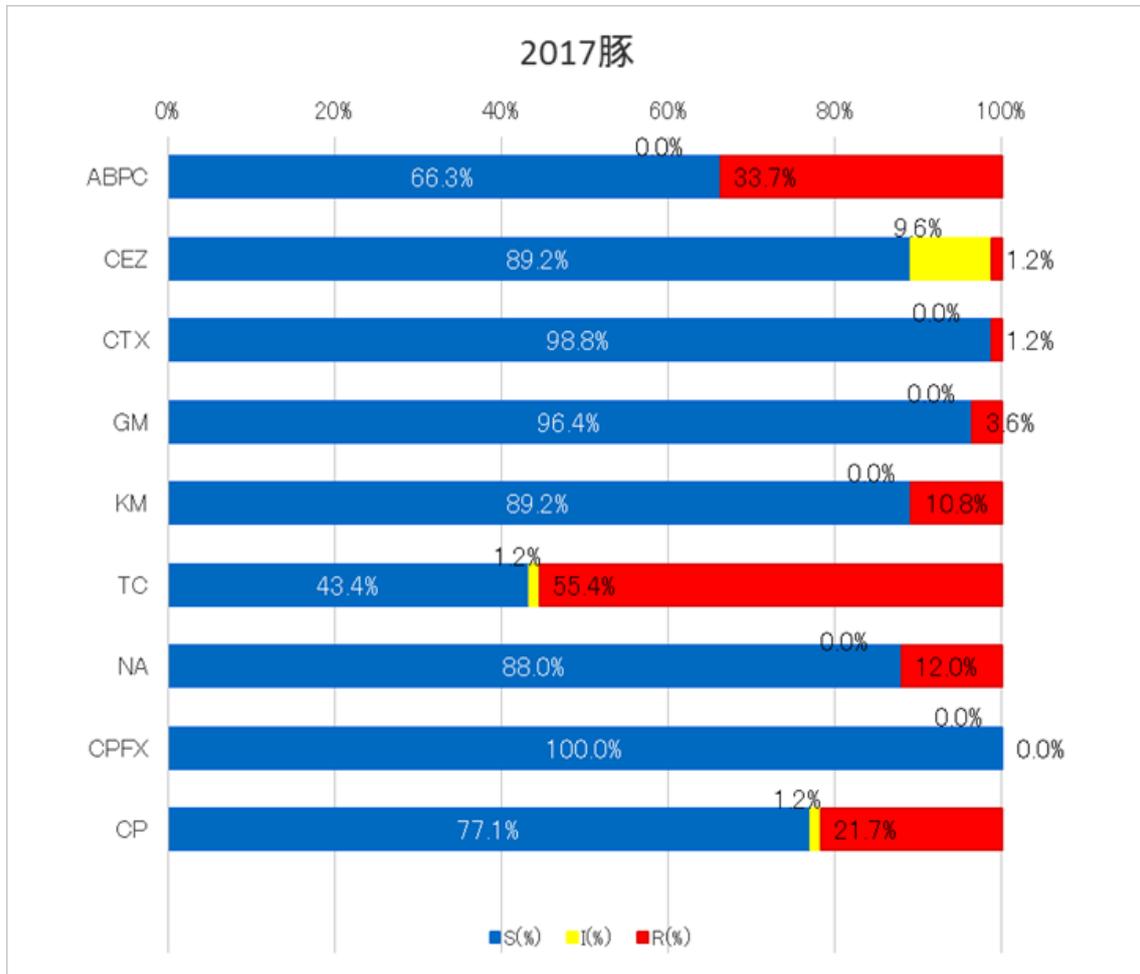


図3 2017年 食鳥処理場由来株

Salmonella spp. 畜種（肉用鶏 N=112）

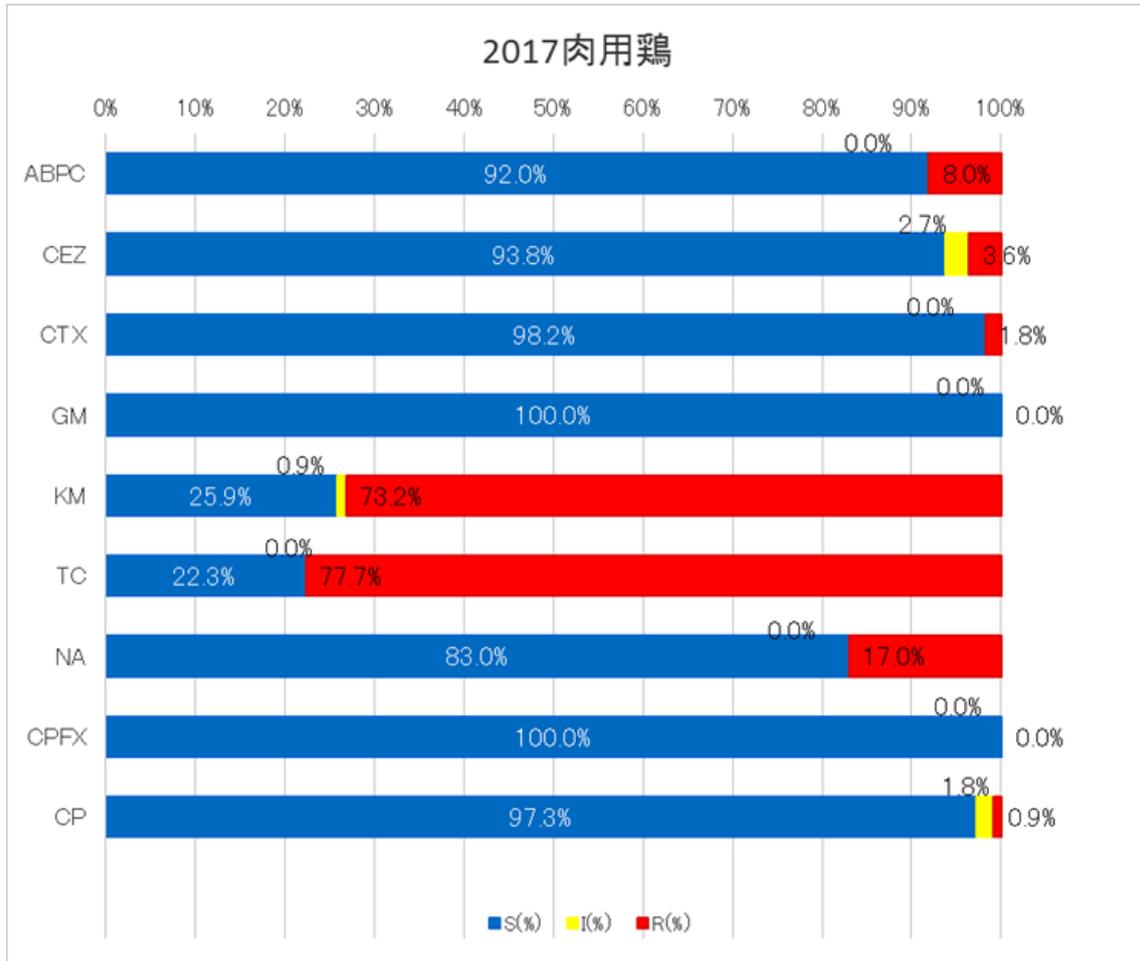


図4 食鳥処理場由来 *Salmonella enterica* の上位5 血清型の食品及びヒト由来における割合 (2015-2017)

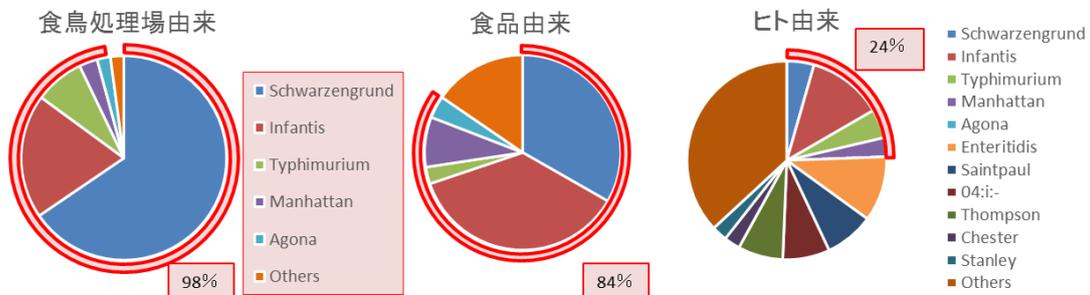


図5 ヒト、食品及び食鳥処理場由来 *S. Infantis* 及び *S. Schwarzengrund* の耐性率 (2015-2017)

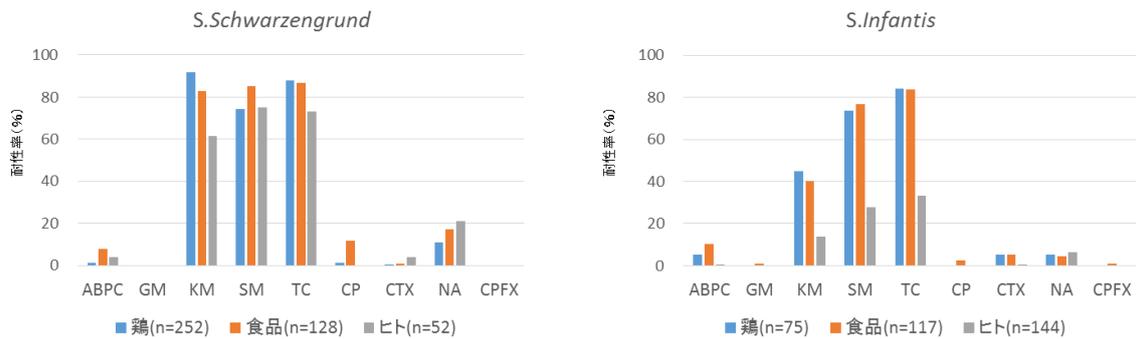


図6 と畜場及び食鳥処理場由来大腸菌コリスチン耐性遺伝子の検出

