

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

食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究

(H30-食品-一般-006)

令和元年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 渡邊 治雄

令和2(2020)年 3月

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

令和元年度 総括・研究分担報告書

目次

I. 令和元年度 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

研究代表者 渡邊 治雄 国立感染症研究所 1

II. 令和元年度 分担研究報告書

1. 地研ネットワークを利用した食品およびヒトから分離されるサルモネラ、大腸菌、カンピロバクター等の薬剤耐性の動向調査

研究分担者 四宮 博人 愛媛県立衛生環境研究所 9

2. 食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究

研究分担者 菅井 基行 国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター..... 38

3. 無症状保菌者由来サルモネラの薬剤感受性プロファイル解析に関する研究

研究分担者 大西 真 国立感染症研究所 43

4. 食品由来サルモネラ、大腸菌、カンピロバクター等の耐性分布と遺伝特性に関する研究

研究分担者 朝倉 宏 国立医薬品食品衛生研究所 51

5. 家畜由来腸内細菌の疫学的研究：JVARMとJANISの連携について

研究分担者 小澤 真名緒 農林水産省動物医薬品検査所 60

6. 食品及びヒト由来カンピロバクター、大腸菌の薬剤耐性菌出現状況の把握

研究分担者 小西 典子 東京都健康安全研究センター 69

7. 食品中の耐性菌汚染、と畜場等における交差汚染の役割解析

研究分担者 浅井 鉄夫 岐阜大学大学院連合獣医学研究科 81

8. 食品等から分離される腸内細菌の薬剤耐性調査と遺伝学的伝播様式の解析

研究分担者 富田 治芳 群馬大学大学院医学系研究科 91

9. ヒト・家畜・食品等由来耐性菌が保有する薬剤耐性伝達因子の解析及び伝達過程の関連性の解明

研究分担者 石井 良和 東邦大学医学部微生物・感染症学講座..... 119

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 124

令和元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：

NAPによると、我が国の薬剤耐性菌の発生動向調査は、ヒト由来耐性菌は JANIS、動物由来耐性菌は JVARM が担当しているが、食品由来細菌の耐性状況は研究班でのデータを使用することとなっている。本研究班としては、今後、恒常的に把握する体制を構築する試みとして、食中毒の検査業務を担当している全国地方衛生研究所のネットワークを利用することに注目した。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、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。それらの結果を JVARM で得られた動物由来株を含めて比較をした。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。サルモネラの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、ヒト由来は特に KM、ST 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。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。カンピロバクターにおいては、*C. jejuni* と *C. coli* はともに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、食品由来耐性菌とヒト由来耐性菌との関連が強く示唆された。地方衛生研究所のルートによる耐性動向調査の有用性が判明した。これらの情報は、国の「ワンヘルス AMR 年次報告書」に利用された。更に、WHO の GLASS にも情報提供し国際的な貢献をした。最近問題となってきたコリスチン耐性大腸菌の調査も行った。動物由来および健康人由来の大腸菌からのもコリスチン耐性菌が分離されており、今後の動向に注意する必要がある。

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：

AMR National Action Plan (NAP) では、ヒト、動物（家畜含）、食品、環境を含めたワンヘルス・アプローチによる薬剤耐性サーベイランス体制の構築が掲げられている。我々は、ヒト由来細菌のサーベイランス JANIS と家畜由来細菌のサーベイランス JVARM の結果を、JANIS 様式のもとで一元的

に比較解析できるシステムを構築した。次の段階としては、そこに食品由来細菌の薬剤耐性に関するデータを取り込み、家畜—食品—ヒト間の耐性菌の流れを一元的に把握し、その動向を把握するとともに、家畜・食品由来耐性菌（耐性遺伝子）が人由来の耐性菌にどのように影響を与えているのかの解析することにより、得られた成果を対策に活かすことが求められている。以下の3課題において成果を上げることが大きな目標にする；1)食品由来細菌の耐性状況を恒常的に把握する体制を構築することである。NAPには研究班として行うことが記載されているが、恒常性を考慮すると食品由来耐性菌のモニタリングの責任部署を決めておくべきであろう。その部署として、現在のところ全国地方衛生研究所のネットワークを利用することが最適であると思われる。今まで、実際に各都道府県の地方衛生研究所に協力を求め、市販されている食品中の汚染菌の同定およびその菌の耐性状況を調査してきた。その体制の良し悪しについての考察を行う。2)大腸菌、サルモネラ、カンピロバクター等を中心に、全国地方衛生研究所等の協力のもとで得られる食品由来細菌の薬剤耐性に関するデータを集計、解析して、国の「ワンヘルスAMR年次報告書」に挙げる。また、WHOのサーベイランスGLASSに定期的に報告する。これはNAPに掲げられていることでもある。3)家畜、食品、ヒトから分離された薬剤耐性菌（大腸菌を対象にする）／耐性遺伝子の解析を行い、それらの伝播様式を解明する。菌の伝播に関しては家畜、食品、ヒトから分離される菌のWhole genome sequencing(WGS)のデータの比較解析することにより推測する。

B. 研究方法：

① 地方衛生研究所（地研）を主とする食品由来菌耐性サーベイランス：サルモネラ、病原大腸菌、カンピロバクターについて、これまでに確立したプロトコールにしたがって、CLSI ディスク拡散法による薬剤感受性検査を実施した（まずそれぞれの菌を薬剤選択無しで分離しその中の耐性菌の割合を調べる）。検査に用い

る感受性ディスク等の試薬、ディスクディスペンサーやノギス等の器具は全ての地研で共通のものを用いた。寒天・血液寒天平板上の感受性ディスクの配置は、阻止円が融合しないように配置した。阻止円径を測定し、結果表に記入した。協力地衛研としては、地理的分布も考慮し、全国から23か所を選定した。（四宮、渡邊、小西）

- ② 家畜—食品—人由来耐性菌のデータの比較：上記によって分離された全食品由来菌株の耐性率データを、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した。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た。およびWHOのGlobal Action Planの一環として実施されているGLASS(Global Antimicrobial Resistance Surveillance System)にも報告した。（菅井、小澤、四宮、小西）
- ③ 遺伝子レベルの解析：研究班内のサーベイランス間で共通している薬剤や同系統の薬剤の耐性率の比較、および研究班内で得られた耐性菌（人、家畜、食品由来株）の薬剤耐性菌／耐性遺伝子の詳細解析を行い、どのように伝播しているのかを総合的に解析した。遺伝子解析は短鎖型シークエンサーであるMiniSeq/MiSeq/HiSeq/NovaSeqシステム（Illumina社）、長鎖型シークエンサーであるMinION（Oxford Nanopore Technologies社）を併用して完全ゲノム配列を構築、およびプラスミドの配列比較を行った。（菅井、朝倉、石井）
- ④ 健康者由来薬剤耐性大腸菌出現状況の把握：健康者糞便由来大腸菌について薬剤感受性試験を行い、耐性菌保持状況を把握した。（小西、大西）
- ⑤ 国産および輸入鶏肉から分離される全大腸菌を対象に薬剤感受性試験を実施し、耐性率の比較：食品由来菌がどの程度、健康人由来大腸菌の耐性率に影響を及ぼしているかを把握する目的で、セフ

エム系薬剤，フルオロキノロン，コリスチンに対する耐性株については耐性遺伝子保有状況を調べ比較した。(富田、小西、浅井)

- ⑥ 基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL)/AmpC 型 β -ラクタマーゼ遺伝子伝達因子の解析：食肉あるいは食用動物を汚染する薬剤耐性菌がヒトの健康へ与える影響を解明するため、ESBL あるいは AmpC 産生大腸菌の全ゲノム解析により菌株遺伝子型ならびにそれらの遺伝子を搭載するプラスミドの構造比較解析を行った。(石井、菅井)

C. 研究結果:

- ① 地方衛生研究所 (地研、全国 23 の地研が参加) を中心にした食品由来株の耐性菌サーベイランス；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 2018~2019 年分離株 (ヒト由来株 1425 株及び食品由来株 433 株) について各薬剤 (TC、SM、ABPC、EM、KM、NA、ST、CTX、CAZ、CFX、GM、AMK、CPFX、NFLX、FOM、IPM、MEPM) に対する薬剤感受性検査を実施した。さらに、カンピロバクターについても、本研究班において、国立衛研、都安研 (本研究班分担者) と協力して新たに共通のプロトコールを作成した。その耐性菌の割合のデータを我が国の「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書 2019」 (<https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/000571551.pdf>) に提供した。WHO の Global Action Plan の一環として実施されている GLASS (Global Antimicrobial Resistance Surveillance System) にも報告した。結果は WHO のホームページ (<https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/279656/9789241515061-eng.pdf?ua=1>) で公開された。また、2016-2017 年度のと畜場由来大腸菌、食鳥処理場由来大腸菌、食鳥処理場由来サルモネラ属菌の薬剤感受性試験成績について、動物医薬品検査所 HP (JV RAM) に掲載した

(http://www.maff.go.jp/nval/yakuza/yakuzai_p3-3.html)。

- 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。サルモネラの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、ヒト由来は特に KM、ST 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。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 (例えば、カメなどの両生類等) にもある可能性が示唆された。
- ③ 2018 年~2019 年分離の *C. jejuni* と *C. coli* はともに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、食品由来耐性菌とヒト由来耐性菌との関連が強く示唆された。
- ④ 動物由来株のコリスチン耐性について調査を行った。その結果、大腸菌では、*mcr-1* 及び *mcr-5* 遺伝子が確認された。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。

- ⑤ JVARM と JANIS (入院患者全検体由来) の 2018 年までのデータを比較した。人では 2018 年に分離された全大腸菌の中でフルオロキノロン耐性は 40.9%、セフトキシム耐性は 27.5%で、近年上昇傾向が続いているが、一方で家畜では 2015 年時点で鶏、豚、牛などではいずれも 10%未満と比較的低い状況が続いている。これらのことから、大腸菌では家畜分野とヒト分野での耐性菌の直接的な伝播は限定的と考えられた。
- ⑥ 市販流通する鶏肉から分離された全大腸菌を対象に薬剤感受性試験を行った結果、国産鶏肉由来株の方が高い耐性率を示したのは KM (国産 35.7%, 輸入 8.3%), TC (国産 46.9%, 輸入 19.4%), ABPC (国産 42.3%, 輸入 27.8%), CP (国産 22.8%, 輸入 5.6%), ST 合剤 (国産 29%, 輸入 19.4%), SM (国産 37.3%, 輸入 30.1%) であった。一方、輸入鶏肉で耐性率が高かったのは NA (国産 19.9%, 輸入 36.1%), GM (国産 5%, 輸入 19.4%) であった
- ⑦ 2019 年に健康者糞便から分離された大腸菌 311 株を対象に 19 薬剤を用いた薬剤感受性試験を行った結果、いずれか 1 薬剤以上に耐性を示した株は 39.2%であった。2015 年以降のフルオロキノロン系薬剤に対する耐性率は 10%程度、CTX 耐性率は 5%程度で推移していることが明らかとなった。IPM, MEPM 耐性株は認められなかった。プラスミド性コリスチン耐性遺伝子保有株 2 株 (いずれも *mcr-1* 陽性) が確認された。
- ⑧ 2019 年度の国内市販鶏肉 129 検体について、薬剤含有培地直接選択法で ESBL 産生大腸菌の分離 (ESBL 大腸菌を直接選択している方法) を行ったところ、調べた鶏もも肉の内 76.7%、鶏むね肉の内 66.0%の肉が ESBL 大腸菌を持っており、その最大菌数は 3.0logCFU/g 以上であった。かなりの鶏肉は ESBL で汚染されていることになる。鶏肉の大腸菌がそのままヒトの腸内に定着しているわけではないが、健康人由来大腸菌の 4.8%が ESBL 遺伝子保持菌であることから考え

ると、日常的に耐性遺伝子がヒトの常在細菌叢に入り込んでいると想定される。

- ⑨ 環境由来サンプルとして広島市下水処理施設下水サンプル他から大腸菌を分離する準備を進めた。広島市下水処理施設下水サンプルから大腸菌を分離し、全大腸菌に占める ESBL 保有大腸菌の割合を算出したところ 4%~25%を示し、広島市内の 4 箇所でもその割合が大きく異なることが判明した。

D. 考察

研究班では、各地研が食中毒の原因微生物調査事業の業務の一環として食品等から菌の分離を行っていること、および全国地研ネットワークがあるので我が国全体の食品由来細菌の耐性データを得ることができるの理由で、地研に対応を依頼している。しかし、今後も研究班として維持していくためには種々の問題点がある。本来は JANIS (感染研), JVARM (動薬検) のように対応する組織を決め、事業として行うべきであろうが、現在は各地方衛生研究所の協力のもとで遂行している。研究班では愛媛衛研に各地研 (現在は 2 3 地研) のまとめ役をお願いしているが、このような一地研がまとめ役を行う対応がいつまで継続できるかは不明である。各地研の業務の一環として食品由来耐性菌モニタリングを位置付けられるのか、およびそのデータの集計・解析をどの機関が行うのかは今後の検討課題である。

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。

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が期待される。

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

E. 発表

(1) 国内 合計1件

- 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」、動物用抗菌剤研究会会報

(2) 海外 合計7件

- ① Suzuki, K., Yossapol, M., Sugiyama, M., Asai, T. Effects of antimicrobial administration on the prevalence of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* in broiler flocks. *Jpn. J. Infect. Dis.* 72(3):179-184, 2019.
- ② Watahiki M, Suzuki M, Aoki M, Kawahara R, Uchida K, Norimoto S, Matsumoto Y, Kumagai Y, Masuda K, Fukuda C, Harada S, Semba K, Suzuki M, Mari Matsui, Suzuki S, Shibayama K, Shinomiya H. Multiplex Polymerase Chain Reaction in a Single Tube for Detecting Genes Encoding Carbapenemase of *Enterobacteriaceae*. *Jpn J Infect Dis* 2019, in press

めてきた。しかし、依然としていくつかの問題点がある。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。これらの National surveillance における精度管理の在り方は今後も解決していくべき課題である。

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。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、今回の調査では動物由来のコリスチン耐性大腸菌が少なからず分離された。また、健康人の糞便中にも検出された。食品等を通して人の腸管に入り込んでいることが想定される。今後の動向調査は重要である。

- ③ Morita M, Shimada K, Baba H, Morofuji K, Oda S, Izumiya H, Ohnishi M. GenomeSequence of a *Salmonella enterica* Serotype Senftenberg Strain Lacking Salmonella Pathogenicity Island-1 and Isolated in Japan. *Microbiol Resour Announc.* 2019 Aug 15;8(33). pii: e00653-19.
- ④ Chiba N, Tanimoto K, Hisatsune J, Sugai M, Shibayama K, Watanabe H, Tomita H. Detection of *mcr-1*-mediated colistin resistance in *E. coli* isolate from imported chicken meat from Brazil. *J Glob Antimicrob Resist.* 2019;16:249-250.
- ⑤ Hashimoto Y, Taniguchi M, Uesaka K, Nomura T, Hirakawa H, Tanimoto K, Tamai K, Ruan G, Zheng B, Tomita H, Novel multidrug-resistant enterococcal mobile linear plasmid pELF1 encoding *vanA* and *vanM* gene clusters from a Japanese vancomycin-resistant enterococci

isolate. Front Microbiol. 2019;10:2568.

- ⑥ M. Kijima, T. Shirakawa, M. Uchiyama, M. Kawanishi, M. Ozawa and R. Koike : Trends in the serovar and antimicrobial resistance in clinical isolates of *Salmonella enterica* from cattle and pigs between 2002 and 2016 in Japan. Journal of Applied Microbiology. 2019: 127, 1869-1875.
- ⑦ Kitagawa H, Ohge, Yu L, Kayama S, Hara T, Kashiyama S, Kajihara T, Hisatsune J, Sueda T, Sugai M. *Aeromonas dhakensis* is not a rare cause of *Aeromonas* bacteremia in Hiroshima, Japan. J Infect Chemother. 2019 Sep 27. pii: S1341-321X(19)30270-3.

(3) 学会発表

1) 学会発表 計 13 件

- ① 浅井鉄夫 Antimicrobial-resistant bacteria in animals (第 93 回日本感染症学会総会、2019 年 4 月 5 日、名古屋、動物分野の One Health アプローチとその課題について概説した)
- ② 浅井鉄夫 JVARM とリスク管理措置 (動物用抗菌剤研究会、2019 年 4 月 20 日、東京、国内の薬剤耐性菌のリスク管理の取組について概説した)
- ③ 浅井鉄夫 畜産分野における薬剤耐性菌の対策と課題 (第 89 回日本感染症学会西日本地方学術集会・第 62 回日本感染症学会中日本地方学術集会・第 67 回日本化学療法学会西日本支部総会、2019 年 11 月 8 日、静岡県浜松市、畜産分野における薬剤耐性菌対策の現状と今後の課題について概説した)
- ④ 第 93 回日本細菌学会総会、2020 年 2 月 19 日 (水) ~21 日 (金)、名古屋・ウイック愛知、輸入トリ肉から分離された FONA 産生 *Serratia fonticola* についての研究発表 (予定)
- ⑤ 第 93 回日本細菌学会総会、2020 年 2 月 19 日 (水) ~21 日 (金)、名古屋・ウイック愛知、鶏肉より分離したリネゾリドに対して低度耐性を示す腸球菌の解析についての発表 (予定)
- ⑥ 第 46 回動物用抗菌剤研究会シンポジウム 2019 年 4 月 20 日 (土)、日本獣医生命科学大学、AMR アクシオンプランに基づく JVARM の強化、今後の JVARM
- ⑦ 第 31 回日本臨床微生物学会 2020 年 2 月 2 日、石川県立音楽堂、薬剤耐性 (AMR) 対策アクシオ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
- ⑧ Shibayama K. National Surveillance of Antimicrobial Resistance in Japan, 第 15 回全国抗感染薬物臨床薬理学会議、第 3 回全国細菌薬剤耐性監視大会、第 2 回北京大学医学感染症フォーラム。(英語、口頭) 2018 年 6 月北京.
- ⑨ Shibayama K. National Surveillance of Antimicrobial Resistance in Japan, Tokyo AMR One-Health Conference (英語、口頭) 2019 年 2 月 20 日、東京.
- ⑩ 柴山恵吾、厚生労働省院内感染対策サーベイランス (JANIS) からみた評価と課題、日本感染症学会学術集会総会、2019 年 4 月名古屋
- ⑪ 柴山恵吾、JANIS にみる薬剤耐性菌の推移、日本化学療法学会総会、2019 年 5 月東京
- ⑫ Shibayama K. National Surveillance of Antimicrobial Resistance in Japan, 第 15 回全国抗感染薬物臨床薬理学会議、第 3 回全国細菌薬剤耐性監視大会、第 2 回北京大学医学感染症フォーラム。(英語、口頭) 2018 年 6 月北京.
- ⑬ Shibayama (Carbapenemase gene acquisition of IncN-pST5 plasmid carrying *bla*_{CTX-M-2}, 11th Joint Seminar on Biomedical Sciences , 13-15 November 2019 , Deevana Plaza Aonang, Krabi)

2) 業界関係者向け説明会 計 4 件

- ① 浅井鉄夫 動物由来の薬剤耐性菌について (アルボースセミナー、2019 年 10 月 23 日 大阪・10 月 24 日 名古屋・

11月12日 福岡・11月28日 東京、250名、株式会社アルボース、動物由来薬剤耐性菌の現状と対策について概説した)

- ② 家畜衛生講習会（鶏疾病特殊講習会）
2019年6月6日、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門、約50名、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門、鶏における薬剤耐性菌の動向
- ③ 家畜衛生講習会（豚疾病特殊講習会）
2019年7月11日、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門、約50名、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門、豚における薬剤耐性菌の動向
- ④ 第40回飼料の安全性に関する検討会
2019年8月2日、さいたま新都心合同庁舎検査棟、約20名、国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構動物衛生研究部門、薬剤耐性対策アクションプランへ及びJVARMの取組み

F. 健康危機情報

ヒトでは2018年に分離された全大腸菌の中でフルオロキノロン耐性は40.9%、セフトキシム耐性は27.5%で、近年上昇傾向が続いているが、一方で家畜では2015年時点で鶏、豚、牛などではいずれも10%未満と比較的低い状況が続いている。これらのことから、大腸菌では家畜分野とヒト分野での耐性菌の直接的な伝播は現在では限定的と考えられた。ヒト由来大腸菌の耐性菌は、ヒトの腸内細菌層にいったん定着後は、ヒトにおける抗菌薬の使用による選択圧が優位に働いているのであろう。耐性率を低くするためにはヒトにおける抗菌薬使用の適正使用を促進していくことが重要である。

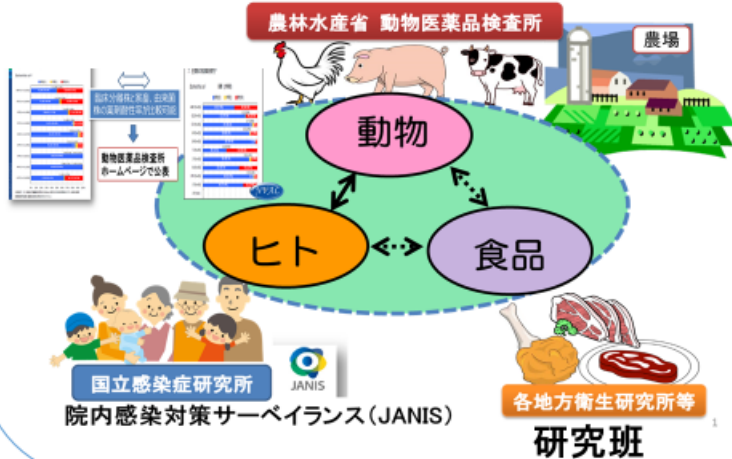
厚生労働省科学研究費(令和元年度)

食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究

大腸菌・サルモネラ等
耐性菌・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)



ワンヘルス
動向調査報告書作成・報告



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

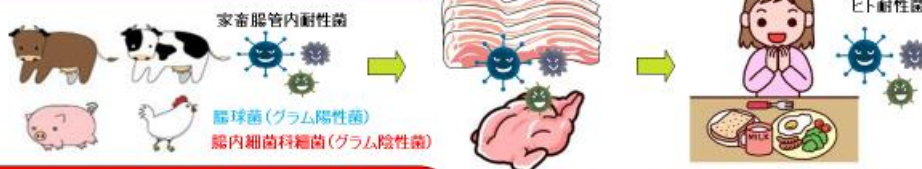
研究目的:

- ① 地方衛生研究所のネットワークを中心に、大腸菌、サルモネラ、カンピロバクター等の食品由来細菌の薬剤耐性に関するデータを収集する。
- ② JANIS, JVARMおよび食品由来耐性菌のワンヘルスアプローチによる相互のデータの比較を行う、および「ワンヘルスAMR動向調査年次報告書」、「WHOの薬剤耐性のグローバルサーベイランス(GLASS)」にデータを提出する
- ③ 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

食肉を介した耐性菌の人への伝播・拡散?



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データを収集した
- 2) その解析データを「年次調査報告書2019」「WHO-GLASS」に提供し、我が国の動向を国内・国外に報告した。
- 3) JVARM, JANISおよび食品由来耐性菌の割合を一元的に解析できるプラットフォームが確立した。
- 4) 市販流通する国外産の鶏肉から分離された大腸菌の耐性率を明らかにし、国内産と同レベルの耐性率であることを明らかにした。
- 5) 健康者由来大腸菌の4.8%がCTX耐性、5.8%がOPFX耐性であり、かなり高い率の耐性菌が腸内細菌叢に存在することが明らかになった

食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究
分担課題 地研ネットワークを利用した食品およびヒトから分離される
サルモネラ、大腸菌、カンピロバクター等の薬剤耐性の動向調査

研究分担者

四宮博人 (愛媛県立衛生環境研究所)

研究協力者

調 恒明 (山口県環境保健センター)
小川恵子、大野祐太、三津橋和也、 (北海道立衛生研究所)
宮島祥太、池田徹也、森本 洋
山上剛志、高橋洋平、武差愛美 (青森県環境保健センター)
佐藤千鶴子、小林妙子 (宮城県保健環境センター)
倉園貴至 (埼玉県衛生研究所)
小西典子 (東京都健康安全研究センター)
間 京子、榎本啓吾 (千葉県衛生研究所)
古川一郎、政岡智佳 (神奈川県衛生研究所)
松本裕子、小泉充正 (横浜市衛生研究所)
柳本恵太 (山梨県衛生環境研究所)
綿引正則、磯部順子 (富山県衛生研究所)
東方美保、永田暁洋、横山孝治、児玉 佳 (福井県衛生環境研究センター)
柴田伸一郎 (名古屋市衛生研究所)
坂田淳子、梅川奈央、西嶋駿弥、下中晶子 (大阪健康安全基盤研究所)
若林友騎、河原隆二
福田弘美、東野和直 (堺市衛生研究所)
吉田孝子 (奈良県保健研究センター)
齋藤悦子、荻田堅一、坂野 桂 (兵庫県立健康科学研究所)
川瀬 遵、小谷麻祐子 (島根県保健環境科学研究所)
狩屋英明 (岡山県環境保健センター)
清水裕美子、山本泰子、青田達明 (広島市衛生研究所)
福田千恵美 (香川県環境保健研究センター)
大羽広宣、藤崎道子、有川衣美 (北九州市保健環境研究所)
鈴木仁人、松井真理、鈴木里和、甲斐明美 (国立感染症研究所)
山下育孝、浅野由紀子、木村千鶴子 (愛媛県立衛生環境研究所)
阿部祐樹

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。昨年度に引き続き、地研ネットワークの協力により、ヒト及び食品由来サルモネラ、大腸菌、カンピロバクターについて薬剤耐性状況を調査した。今期（2019年）分離株と合わせ、サルモネラに関しては、2015年～2019年に分離されたヒト由来1,755株中の699株(39.8%)、及び食品由来583株中の527株(90.4%)株が、17剤中の1剤以上に耐性を示した。年次毎の耐性率はほぼ同様であり、現在の日本の状況を反映していると考えられる。2015年～2019年分離のサルモネラについて血清型別の詳細な解析を行ったところ、食品由来株では血清型別

の耐性傾向に共通する部分が多いがそれぞれに特徴的な点も認められ、ヒト由来株においては血清型別に特徴的な耐性傾向が認められた。また、ヒト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* 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、食品由来耐性菌とヒト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年～2019年分離のヒト由来1,488株中の535株(36.0%)、及び食品由来75株中の43株(57.3%)が1剤以上に耐性を示した。腸管出血性大腸菌(EHEC)以外の下痢原性大腸菌の耐性率がEHECよりも2倍以上高かったが、多剤耐性状況は両者で類似していた。その他の大腸菌(病原因子陰性株など)は6剤以上の多剤耐性株が多く、下痢原性大腸菌よりも高度の多剤耐性傾向を示した。カンピロバクターについては、昨年度の本研究班で作成した全国地研で共通のプロトコル及び判定表を基に、感受性検査と判定を行った。2018年～2019年分離の*C. jejuni*と*C. coli*はともに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、食品由来耐性菌とヒト由来耐性菌との関連が強く示唆された。以上の薬剤感受性検査に加えて、2015年～2018年分離のサルモネラと大腸菌を対象に、基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ(ESBL)産生遺伝子、AmpC型β-ラクタマーゼ(AmpC)遺伝子、コリスチン耐性遺伝子(*mcr1-10*)の検出を行った。食品由来菌の薬剤耐性調査に関して、統一された方法による組織だった全国規模の調査は、本研究班で実施されている。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」及びWHOのGLASSに提供されている。また、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も本研究班で可能となり、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。

A. 研究目的

薬剤耐性(AMR)の問題は医療現場に限定されるものではなく、環境—動物—食品—ヒトなどを包括するワンヘルス・アプローチが重要であるという認識が共有され、WHOは「AMRに関するグローバルアクションプラン」を採択し、我が国においても「AMR対策アクションプラン」が策定された。このうち、動物については農林水産省で実施しているJVARM(Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring System)による耐性菌モニタリングシステムがあり、病院内の耐性菌については厚生労働省で行われているJANIS(Japan Nosocomial Infections Surveillance)によるサーベイランスがある。一方、食品由来耐性菌については、これらのシステムではモニタリングされていない。

地方衛生研究所(以下、地研)は、従来から食中毒原因菌等の食品由来細菌の検査を実施しており、当分担任は、全国の地研において収集されているヒト及び食品由来細菌の薬剤耐性の動向調査を担当している。

今年度は、昨年度に引き続き、ヒト及び食品から分離されたサルモネラ、大腸菌、カンピロバクターの薬剤耐性状況を、全国で統一された

プロトコルや判定表に基づいて実施し、食品由来耐性菌に関する情報収集体制をさらに強固にすることを旨とする。得られたデータは、WHOグローバルアクションプランの一環として展開されている、GLASS(Global Antimicrobial Resistance Surveillance System)に報告する日本のデータベース構築に提供されるとともに、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、延いては、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。

B. 研究方法

1. 薬剤耐性調査対象菌株

薬剤感受性検査としては、2019年にヒト(患者)及び食品から分離され、サルモネラ属菌、大腸菌、カンピロバクター・ジェジュニ/コリと判定された菌株を対象とした。ヒト由来株は、感染性胃腸炎や食中毒の患者検体から分離されたものを対象とし、検体情報として、性別、年齢、症状、検体の種類、分離年を可能な範囲で求めた。食品由来株は、分離した食品の種類、分離年月日を求め、食品が食肉の場合は、国産、輸入(国名)、不明の情報を記載した。薬剤耐性遺伝子の検出については、2015年～2018年

に薬剤感受性検査を実施した菌株を対象とした。

2. 薬剤感受性検査

協力 23 地研においてサルモネラ属菌、大腸菌、カンピロバクター・ジェジュニ/コリと判定された菌株を用い、平成 29 年度（サルモネラ、大腸菌）、平成 30 年度（カンピロバクター）の研究報告書に記載した方法により感受性試験と判定を実施した。以上の菌株について、検査に用いる感受性ディスク等の試薬、ディスクディスペンサーやノギス等の器具は全ての地研で共通のものを用いた。寒天・血液寒天平板上の感受性ディスクの配置は、阻止円が融合しないように配置した。阻止円径を測定し、結果表に記入した。

3. 結果の報告・集計と解析

サルモネラ及び大腸菌については、検体情報と菌株情報（血清型）を記載した。大腸菌はさらに病原因子やマーカー遺伝子の有無から、下痢原性大腸菌（腸管出血性大腸菌 EHEC、腸管毒素原性大腸菌 ETEC、腸管侵入性大腸菌 EIEC、腸管病原性大腸菌 EPEC、腸管凝集付着性大腸菌 EAggEC、他の下痢原性大腸菌）とその他の大腸菌（病原因子陰性株及び病原因子未検査株）に分類した。カンピロバクターについては検体情報と菌株情報（*C. jejuni*, *C. coli*）を記載した。以上の菌株について、感受性ディスク阻止円径と SIR 判定結果を感受性検査結果表に記載し、研究分担者である愛媛県立衛生環境研究所に送付し、集計・解析を行った。なお、コリスチンについては、CLSI ディスク拡散法の SIR 判定表がないため、阻止円径のみを記載した。

4. サルモネラの血清型別薬剤耐性解析

2015 年～2019 年分離のサルモネラを対象に、血清型別に各種抗菌剤に対する耐性率を解析し、血清型間で比較した。

5. β -ラクタマーゼ関連遺伝子の検出

基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (Extended-Spectrum β -Lactamase, ESBL) 産生遺伝子及び AmpC 型 β -ラクタマーゼ (AmpC) 遺伝子について、2015 年～2018 年分離サルモネラ及び大腸菌のうち、CTX, CAZ, CFX の 1 剤以上に耐性を示す菌株を対象に、末尾に添付した「渡邊班地研グループ耐性遺伝子

検査プロトコル」にしたがって検出を実施した。

6. コリスチン耐性遺伝子の検出

上述のように、コリスチンについては感受性試験のみから SIR 判定ができないため、コリスチン耐性遺伝子(*mcr-1*～*10*)のマルチプレックス PCR 法を開発し、2015 年～2018 年分離のサルモネラ株及び大腸菌のうちコリスチン阻止円径が 12 mm 以下の菌株を対象にコリスチン耐性遺伝子の検出を行った（途中経過）。

倫理面への配慮

本研究課題は、分担者を研究代表者、協力地研担当者を研究協力者として、愛媛県立衛生環境研究所倫理審査委員会で審査され、承認された。本審査にしたがい、全ての分離株及び調査情報は個人を特定できる情報を含まない状態で収集し、本研究に用いた。

C. 研究結果

1. ヒト及び食品から分離されたサルモネラの内訳と血清型

2019 年に収集されたサルモネラは、ヒト由来 268 株、食品由来 123 株、総計 391 株で、それぞれの内訳と耐性率を表 1 及び表 2 に示す（株数は 2020 年 2 月 27 日までに集計された暫定的なものである）。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 33.6%、食品由来株 89.4%で、前回の本研究班で 2015 年～2018 年に収集された菌株の結果と同様であった。2019 年に収集されたサルモネラの H 抗原を含めた血清型別の割合とヒト由来株の上位 10 血清型及び食品由来株の上位 5 血清型を図 1 に示す。図中の「その他」についても大部分は型別されている。

2. ヒト及び食品から分離されたサルモネラの薬剤耐性状況

2015 年～2019 年に収集されたヒト由来 1,755 株及び食品由来 583 株の 17 剤に対する耐性率を年次別に示す（表 3, 4）。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 がそれらに続く耐性率であったが、KM, SM, TC, ST は食品由来株で耐性率が高い傾向が見られた。セフェム系薬 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。一方、アミノグリコシド系薬 GM, AMK、キノロン系薬 CPF, NFLX、ホスホマイシン系薬 FOM に

に対する耐性率は低いか、0%であった。カルバペネム系薬 IPM、MEPM に対する耐性菌は認められなかった。全体として、年次別に顕著な違いは認められなかった。

2019 年分離のサルモネラ中の 6 剤以上に耐性を示した多剤耐性株（ヒト由来 6 株、食品由来 6 株）を図 2 に示す。また、ESBL 産生菌及び AmpC 産生菌との関連が示唆される、CTX, CAZ, CFX の 1 剤以上に耐性である菌株（ヒト由来 5 株、食品由来 5 株）を図 3 に示す。食品では、国産鶏肉においても高度な耐性菌が認められた。

3. ヒト及び食品から分離されたサルモネラの血清型別の耐性率の比較

2015 年～2019 年に収集されたサルモネラについて血清型別の詳細な解析を行った。食品由来株（583 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。*S. Infantis* 及び *S. Schwarzengrund* の各種抗菌剤に対する耐性率を年次別に示す（表 5, 6）。また、2019 年に収集された *S. Infantis*, *S. Schwarzengrund*, *S. Manhattan* の計 103 株の耐性率を図 4 に示す。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。このような傾向は、昨年度の報告書で示した、2015 年～2018 年分離株での傾向と同様であった。

一方、ヒト由来株の上位 5 位を占める、*S. Infantis*, *S. Enteritidis*, *S. Thompson*, *S. 4:i:-*, *S. Saintpaul* の各種抗菌剤に対する耐性率を年次別に示す（表 7, 8, 9, 10, 11）。それぞれの血清型で多少の年次間の増減は認められるが、全体的傾向として血清型別の耐性率に興味深い特徴が認められた。上記 5 種の血清型に *S. Schwarzengrund* を加えた 6 種の血清型株（2019 年分離 124 株）について相互に比較した（図 5）。*S. 4:i:-* は国産鶏肉からの検出率は低いヒト由来株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かった。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 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 耐性率は低く、本調査において食品からは分離されなかった *S. Saintpaul* 及び *S. Thompson* においても SM, TC 耐性率は低かった。このような傾向は、昨年度の報告書で示した、2015 年～2018 年分離株での傾向と同様であった。

次に、2019 年分離株について、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、各種抗菌剤に対する耐性率を比較すると（表 12、図 6）、両血清型ともヒト由来株と耐性傾向が非常に類似していた。この点についても、昨年度の報告書で示した、2015 年～2018 年分離株での傾向と同様であった。

4. ヒト及び食品から分離された大腸菌の薬剤耐性状況

本研究における大腸菌の分類を表 13 に示す。2015 年～2019 年分離のヒト由来大腸菌 1,488 株のうち、17 剤中の 1 剤以上に耐性を示した株は 535 株で、耐性率は 36.0%であった（表 14）。大腸菌株の分類別耐性率は、EHEC 27.2%、EHEC 以外の下痢原性大腸菌 69.9%、その他 71.3%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、食品（牛肉、鶏肉など）由来株 75 株のうち、43 株が 1 剤以上に耐性で、耐性率は 57.3%であった。分類別耐性率は、EHEC 33.3%、EHEC 以外の下痢原性大腸菌 63.3%であった。

5. ヒト及び食品から分離された大腸菌の多剤耐性状況及び各種抗菌剤に対する耐性率について

ヒト由来株のうち、17 剤中の 1 剤以上に耐性を示した EHEC 以外の下痢原性大腸菌の頻度は EHEC より 2 倍以上高かったが（表 14）、多剤耐性傾向については両者間で大きな差がなく、一方、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（図 7）。各種抗菌剤に対する耐性率では、ABPC, ST, CTX, NA 及びキノロン系薬 CFX, NFLX に対して、EHEC 以外の下痢原性大腸菌株が EHEC 株よりも耐性率が高く、その他の大腸菌株はセフェム系薬、キノロン系薬、カルバペネム系薬 MEPM 等に耐性を示し、高度の耐性傾向を示した（図 8）。

6. ヒト及び食品から分離されたカンピロバ

クター株の薬剤耐性状況

カンピロバクター株については、*C. jejuni*、*C. coli* 共に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、食品由来耐性菌とヒト由来耐性菌との関連が強く示唆された（表 15、図 9）。*C. coli* は菌株数が多くないが、ヒト由来株、食品由来株とも、EM, CPF, NA に対する耐性率が *C. jejuni* よりも高い傾向を示した。

7. サルモネラ及び大腸菌における ESBL 産生遺伝子及び AmpC 遺伝子保有状況

2015 年～2018 年分離ヒト由来サルモネラ 26 株及び食品由来 31 株中の ESBL 産生遺伝子及び AmpC 遺伝子を図 10 に示す方法で検出すると、ヒト由来株では ESBL 産生遺伝子保有が多く、食品由来株では AmpC 遺伝子保有が多い傾向が認められた（図 11）。ESBL 産生遺伝子では、ヒト由来株、食品由来株とも、CTX-M-1 グループの保有が最も多く、TEM 型が次に多かった。

一方、大腸菌では、サルモネラと異なり、AmpC 遺伝子の保有がほとんど認められず、ESBL 産生遺伝子が主として検出された。さらに、種類毎に保有する ESBL 産生遺伝子が異なり、その他の大腸菌では CTX-M-9 グループ、CTX-M-2 グループ、TEM 型が多く検出され、他方、EHEC では CTX-M-1 グループ、TEM 型は検出されたが、CTX-M-9 グループ、CTX-M-2 グループは検出されなかった（図 12）。

8. サルモネラ及び大腸菌におけるコリスチン耐性遺伝子保有状況

コリスチン耐性遺伝子 *mcr-1-10* を検出するための multiplex PCR 法を開発した（図 13）。この方法を用いて、2015 年～2018 年分離ヒト由来株及び食品由来株中でコリスチンに対する阻止円径が 12 mm 以下の菌株（表 16）を対象にコリスチン耐性遺伝子を検出する予定である。

D. 考察

昨年度の本研究班での調査に引き続き、全国 23 地研の協力を得て、ヒト（有症者、大部分は便検体）及び食品（大部分は国産鶏肉）から、2019 年に分離されたサルモネラの薬剤耐性状況を調査した。ヒト由来株（268 株）は 33.6%、食品由来株（123 株）は 89.4%が、1 剤以上の抗菌剤に耐性を示した。2015 年～2019 年の年次毎の耐性率はほぼ同様で、現在の日本におけ

る状況を反映していると考えられる。ヒト由来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 種類の型が約 90%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。

多剤耐性状況については、6 剤以上に耐性を示す高度耐性株も、ヒト由来株中に 6 株、食品由来株中 6 株認められた。高度の多剤耐性株ではプラスミドのゲノム解析やその伝達リスクについて調査する必要がある。

2015 年～2019 年に分離されたサルモネラを対象に血清型別の耐性率パターンを解析すると、食品由来（主として国産鶏肉）株として主要な *S. Infantis*, *S. Schwarzengrund*, *S. Manhattan* では、各種抗菌剤に対する耐性率に共通する部分が多いが、血清型に特徴的な点も認められた。例えば、*S. Manhattan* では KM 耐性が全く認められなかった。このような違いは養鶏場等での使用抗菌剤の種類を反映しているのかもしれない。一方、ヒト由来株においては、血清型別の耐性率に特徴的な点が認められた。それぞれの血清型において、ヒトの感染に至るまでの生息環境における抗菌剤への暴露の違いを反映しているのかもしれない。鶏肉から分離される *S. Infantis* 及び *S. Schwarzengrund* は耐性率が高い傾向であった。今回の調査で鶏肉から分離されないか、分離が少ない血清型、*S. Enteritidis*, *S. Thompson*, *S. 4:i:-*, *S. Saintpaul* では、*S. 4:i:-*を除いて各種抗菌剤に対する耐性率があまり高くない傾向であったが、*S. 4:i:-*は ABPC, SM, TC に対して耐性率が高く、抗菌剤を投与される食用鶏以外の保菌動物の存在が示唆される。

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。*S. Schwarzengrund* と *S. Manhattan* では耐性率そのものも近似であり、より直接的に感染源になっている可能性が高い。*S. Infantis* ではヒト由来株の耐性率は食品由来株の 6 割程度で、鶏肉だけでなく、複数の感染経路があるのかもしれない。今回の結果は、いくつかの血清型について感染経路を具体的に推測させるもので、今後の研究と相まって、ワンヘルス・アプローチに基づく感染制御に繋

ることが期待される。

ヒト及び食品由来大腸菌においても興味ある知見が得られた。EHEC, EHEC 以外の下痢原性大腸菌株、その他の大腸菌株の間で、抗菌剤に対する耐性率が相当に異なることが明らかにされた。生息環境の違いによって、抗菌剤に対する選択圧や薬剤耐性遺伝子の伝達頻度が異なることが可能性として示唆される。

カンピロバクターについても、昨年度に感受性検査プロトコルと判定基準を決定し、全ての協力地衛研が統一された方法で検査を実施した。*C. jejuni*, *C. coli* とも、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、食品由来耐性菌とヒト由来耐性菌との関連が強く示唆された。また、*C. coli* は菌株数が多くないが、ヒト由来株、食品由来株とも、EM, CPM, NA に対する耐性率が *C. jejuni* よりも高い傾向が認められた。

以上の薬剤感受性検査に加えて、耐性遺伝子 (ESBL 産生遺伝子、AmpC 遺伝子、コロスチン耐性遺伝子) の保有状況を調べると、サルモネラでは、ヒト由来株と食品由来株に共通して、ESBL 産生遺伝子の CTX-M-1 グループと TEM 型、及び AmpC 遺伝子の CIT 型が多く検出され、食品株が感染源になっている可能性が示唆されるが、CTX-M-9 グループのようにヒト由来株のみで検出された遺伝子もあり、ヒトに於いて伝達される可能性も示唆された。一方、大腸菌株ではその種類毎に保有する ESBL 産生遺伝子が異なり、生息環境による耐性獲得の相違が示唆された。

JANIS 及び JARM には食品由来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。また、ヒト便検体由来サルモネラ株の耐性データについても地研での集積が大きいと言われている。JANIS 及び JARM は、それぞれ病院及び動物由来耐性菌データベースであるが、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。

E. 結論

全国 23 地研の協力を得て、2019 年に分離されたヒト及び食品由来のサルモネラ株、大腸菌株、カンピロバクター株について薬剤耐性状況を調査し、2015 年～2018 年分離株とあわせ耐性データを解析した。食品由来菌の薬剤耐性調査に関して、統一された方法による組織だった全国規模の調査は、本研究班で実施されている。地研における薬剤耐性データを JANIS や JARM 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も本研究班で可能となり、環境-動物-食品-ヒトを包括するワンヘルス・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。

F. 健康危険情報

(総括研究報告書にまとめて記載)

G. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表

- 1) Keiko Semba, Yuki Abe, Sachiyo Sonobe, Manabu Aono, Komei Shirabe, Akei Kai, Keigo Shibayama, Makoto Onishi, Haruo Watanabe and Hiroto Shinomiya: Monitoring of antimicrobial resistance in *Salmonella* spp. of food origin from 2015–2017 in Japan. 第 92 回日本細菌学会総会、2019.4.23-25、札幌
- 2) 四宮博人、浅野由紀子、木村千鶴子、阿部祐樹、森本 洋、高橋洋平、小林妙子、倉園貴至、小西典子、榎本啓吾、政岡智佳、吉野友章、柳本恵太、加藤智子、東方美保、一瀬佳美、柴田伸一郎、高橋佑介、福田弘美、吉田孝子、秋山由美、川瀬 遵、狩屋英明、清水裕美子、福田千恵美、中山志幸、大羽広宣、調 恒明、甲斐明美：2015 年～2018 年に全国で分離されたヒト及び食品由来各種大腸菌株の薬剤耐性状況、第 23 回腸管出血性大腸菌感染症研究会、2019.11.14-15、松山
- 3) 阿部祐樹、木村千鶴子、浅野由紀子、山下育孝、四宮博人：地方衛生研究所におけるヒト及び食品由来薬剤耐性菌のモニタリング、シンポジウム「地方衛生研究所との連携強化」第 94 回日本感染症学会総会、

2020.4.16-18、東京（予定）

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

渡邊班地研グループ ESBL 遺伝子検査プロトコル

1 検査概要

(1) 検査項目

ESBL 遺伝子検査 (TEM 型, SHV 型, 及び CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-9, CTX-M-8/25 各グループ)

(2) 方法

マルチプレックス PCR 法

(3) 検体の種類・適用範囲

2015～2018 年分離サルモネラ属菌株及び大腸菌株のうち、CTX, CAZ, CFX の 1 剤以上に耐性を示す菌株

2 試薬等 (全てヌクレアーゼフリーの遺伝子検査用を使用)

- ・ dH₂O
- ・ Qiagen Multiplex PCR kit Cat No./ID : 206151/206152 キアゲン(株)
- ・ Mix 2μM プライマー (表 1)
- ・ Chelex 100 Resin #142-1253 Bio-Rad(株)
- ・ TE バッファー
- ・ Mix 陽性コントロール (表 2)
- ・ 陰性コントロール (dH₂O)
- ・ アガロースゲル (100~1kbp 程度の分子量用)
アガロース(低電気浸透、高ゲル強度),(微粉末) 商品コード : 02468-66 カライテック(株) 同等品
- ・ 電気泳動用 Buffer
- ・ EtBr 溶液

表 1 ESBL 遺伝子検査用プライマー一覧

遺伝子型	Primer	size(bp)
TEM型	TEM-410F GGTCGCCGCATACACTATTCTC	372bp
	TEM-781R TTTATCCGCCTCCATCCAGTC	
SHV型	SHV-287F CCAGCAGGATCTGGTGGACTAC	231bp
	SHV-517R CCGGGAAGCGCCTCAT	
CTX-M-1型	ctxm1-115F GAATTAGAGCGGCAGTCGGG	588bp
	ctxm1-702R CACAAACCAGGAAGCAGGC	
CTX-M-2型	ctxm2-39F GATGGCGACGCTACCCC	107bp
	ctxm2-145R CAAGCCGACCTCCCGAAC	
CTX-M-8/25型	ctxm8g25g-533F GCGACCCGCGGATAC	186bp
	ctxm8g25g-718R TGCCGGTTTTATCCCCG	
CTX-M-9型	ctxm9-16F GTGCAACGGATGATGTTTCGC	475bp
	ctxm9-490R GAAACGTCTCATCGCCGATC	

表 2 ESBL 遺伝子検査用陽性コントロール一覧

分類	遺伝子型	濃度	調整方法
ESBL	TEM型	40ng/μL	6種のDNAを等量混合
	SHV型	40ng/μL	
	CTX-M-1 group	40ng/μL	
	CTX-M-2 group	40ng/μL	
	CTX-M-8 group	40ng/μL	
	CTX-M-9 group	40ng/μL	

3 検査手順

(1) 鋳型 DNA の調整

ア 1.5mL チューブに 5% Chelex TE を 100μL ずつ分注する。

イ ディスポニードルを用いて、平板上の単コロニーを釣菌し、アのチューブに懸濁する。

ウ 100°C 10 分加熱し、10,000rpm 10 分遠心、上清を鋳型 DNA とする。

(Chelex 粒子は PCR を阻害するため、沈査を吸い上げないように注意！)

鋳型 DNA は 4°C で保存する (長期保存は -20°C)。

* 通常の TE/水懸濁後、熱処理 (遠心不要) でも可。ただし、菌摂取量は少量にすること。

(2) PCR 反応液の調整

ア PCR マスターミックスの調整

(ア) Qiagen Multiplex PCR Plus kit を用いる。

(イ) 以下の分量で PCR マスターミックスを調整する。

(ウ) 調整した PCR マスターミックスを PCR 用チューブに 24μL ずつ分注する。

	最終濃度	1 反応液
2×Multiplex PCR Master mix (μL)	× 1	12.5
プライマーミックス (μL)	0.2μM	2.5
Q-Solution		2.5
Coral Load Dye, ×10		2.5
dH ₂ O		4
合計液量 (μL)		24

イ 鋳型 DNA 等の添加

(ア) PCR マスターミックスを分注した PCR 用チューブに陰性コントロール (dH₂O)、鋳型 DNA、陽性コントロールを各 1μL 添加する。

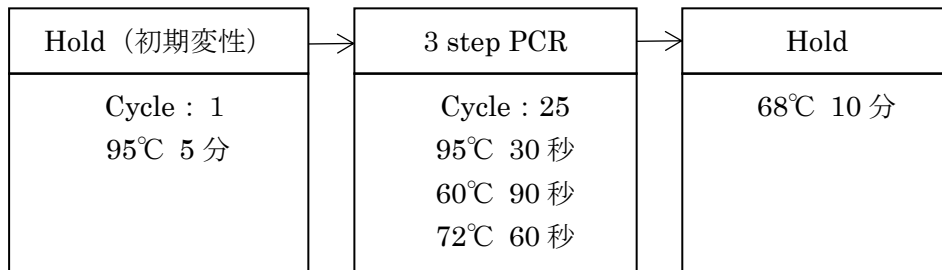
* 送付した陽性コントロールをそのまま使用されますと、バンドがシャープにならず、エキストラバンドかなり濃くでます。適宜 TE 等で希釈して使用してください。

(イ) PCR を行う。

(3) PCR

以下の条件で PCR を開始する。

(PCR 時間：1 時間 51 分程度 Bio-Rad T100 使用)



(4) 増幅産物の電気泳動

2%アガロースゲルで電気泳動 (100V 30~40 分程度) を実施し、EtBr 染色を行う。

4 検査結果報告方法

結果報告は別添ファイル (ESBL+AmpC 遺伝子検査報告用) に入力して報告する。

5 参考文献

Quoc Phong Le, Shuhei Ueda, Thi Ngoc Hue Nguyen, Thi Van Khanh Dao, Thi Ai Van Hoang, Thi Thuy Nga Tran, Itaru Hirai, Tatsuya Nakayama, Ryuji Kawahara, Thai Hung Do, Quang Mai Vien, Yoshimasa Yamamoto. Characteristics of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Retail Meats and Shrimp at a Local Market in Vietnam. *Foodborne Pathog Dis* 2015; 12(8):719-725.

6 備考

サブタイプの決定には別途 PCR とシーケンスなどの追加試験が必要となります。また、ESBL 以外の β -ラクタマーゼ (TEM-1、SHV-1、LEN 等) も陽性になりますので、ESBL かどうかの確認には、別の PCR とシーケンスが必要となります。

CTX-M についても、各遺伝子グループの検出であることにご注意ください。例としては、本キットで CTX-M-1 グループ陽性となった場合、CTX-M-1、CTX-M-3、CTX-M-15、CTX-M-55 などの遺伝子型である可能性があります。それらを特定するためには別に PCR とシーケンスが必要です。

渡邊班地研グループ AmpC 遺伝子検査プロトコル

1 検査概要

(1) 検査項目

AmpC 遺伝子検査 (FOX、CIT、DHA、ACC、EBC、MOX 各型)

(2) 方法

マルチプレックス PCR 法

(3) 検体の種類・適用範囲

2015～2018 年分離サルモネラ属菌株及び大腸菌株のうち、CTX, CAZ, CFX の 1 剤以上に耐性を示す菌株

2 試薬等 (全てヌクレアーゼフリーの遺伝子検査用を使用)

- ・ dH₂O
- ・ Qiagen Multiplex PCR kit Cat No./ID : 206151/206152 キアゲン(株)
- ・ Mix 2μM プライマー (表 1)
- ・ Chelex 100 Resin #142-1253 Bio-Rad(株)
- ・ TE バッファー
- ・ Mix 陽性コントロール (表 2)
- ・ 陰性コントロール (dH₂O)
- ・ アガロースゲル (100~1kbp 程度の分子量用)
アガロース(低電気浸透、高ゲル強度),(微粉末) 商品コード : 02468-66 カライテック(株) 同等品
- ・ 電気泳動用 Buffer
- ・ EtBr 溶液

表 1 AmpC 遺伝子検査用プライマー一覧

遺伝子型	Primer	size(bp)
FOX型	FOXMF AACATGGGGTATCAGGGAGATG	190bp
	FOXMR CAAAGCGCGTAACCGGATTG	
EBC型	EBCMF TCGGTAAAGCCGATGTTGCGG	302bp
	EBCMR CTTCCACTGCGGCTGCCAGTT	
ACC型	ACCMF AACAGCCTCAGCAGCCGGTTA	346bp
	ACCMR TTCGCCGAATCATCCCTAGC	
DHA型	DHAMF AACTTTACAGGTGTGCTGGGT	405bp
	DHAMR CCGTACGCATACTGGCTTTGC	
CIT型	CITMF TGGCCAGAACTGACAGGCAAA	462bp
	CITMR TTTCTCTGAACGTGGCTGGC	
MOX型	MOXMF GCTGCTCAAGGAGCACAGGAT	520bp
	MOXMR CACATTGAATAGGTGTGGTGC	

表 2 AmpC 遺伝子検査用陽性コントロール一覧

分類	遺伝子型	濃度	調整方法
AmpC	FOX型	40ng/μL	6種のDNAを等量混合
	CIT型	40ng/μL	
	DHA型	40ng/μL	
	ACC型	40ng/μL	
	EBC型	40ng/μL	
	MOX型	40ng/μL	

3 検査手順

(1) 鋳型 DNA の調整

- ア 1.5mL チューブに 5% Chelex TE を 100μL ずつ分注する。
- イ ディスポニードルを用いて、平板上の単コロニーを釣菌し、アのチューブに懸濁する。
- ウ 100°C 10 分加熱し、10,000rpm 10 分遠心、上清を鋳型 DNA とする。
(Chelex 粒子は PCR を阻害するため、沈査を吸い上げないように注意！)
鋳型 DNA は 4°C で保存する (長期保存は -20°C)。

(2) PCR 反応液の調整

- ア PCR マスターミックスの調整
 - (ア) Qiagen Multiplex PCR Plus kit を用いる。
 - (イ) 以下の分量で PCR マスターミックスを調整する。
 - (ウ) 調整した PCR マスターミックスを PCR 用チューブに 24μL ずつ分注する。

	最終濃度	1 反応液
2×Multiplex PCR Master mix (μL)	× 1	12.5
プライマーミックス (μL)	0.2μM	2.5
Q-Solution		2.5
Coral Load Dye, ×10		2.5
dH ₂ O		4
合計液量 (μL)		24

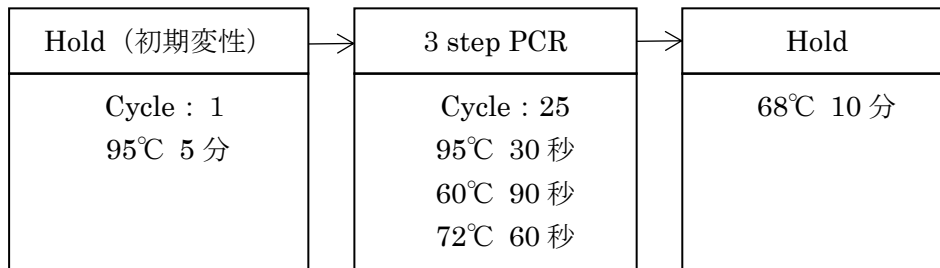
イ 鋳型 DNA 等の添加

- (ア) PCR マスターミックスを分注した PCR 用チューブに陰性コントロール (dH₂O)、鋳型 DNA、陽性コントロールを各 1μL 添加する。
- (イ) PCR を行う。

(3) PCR

以下の条件で PCR を開始する。

(PCR 時間 : 1 時間 51 分程度 Bio-Rad T100 使用)



(4) 増幅産物の電気泳動

2%アガロースゲルで電気泳動 (100V 30~40 分程度) を実施し、EtBr 染色を行う。

4 検査結果報告方法

結果報告は別添ファイル (ESBL+AmpC 遺伝子検査報告用) に入力して報告する。

5 参考文献

Pérez-Pérez FJ, Hanson ND.2002. Detection of plasmid mediated AmpC β -Lactamase Genes in Clinical Isolates by Using Multiplex PCR. J Clin Microbiol 40:2153-2162.

6 備考

サブタイプの決定には別途 PCR とシーケンスなどの追加試験が必要となります。また、染色体上に元来保有している菌種もあることに留意してください。

表 1. ヒト及び食品由来サルモネラ株の薬剤耐性状況
(2019 年分離株* n=391)

(2020/2/27 時点)

由来		菌株数	耐性菌株数#	耐性率
ヒト由来		268	90	33.6%
食品由来	国産鶏肉	106	96	90.6%
	外国産鶏肉	6	5	83.3%
	その他・不明	11	9	81.8%
	合計	123	110	89.4%

*2019 年 1 月～12 月に分離された菌株
#17 抗菌剤中 1 剤以上に耐性(R)を示した菌株

表 2. ヒト由来サルモネラ株の検体別内訳と耐性率
(2019 年分離株 n=268)

(2020/2/27 時点)

検体名	菌株数	耐性菌株数	耐性率
糞便・便	214	77	36.0%
血液・静脈血	11	3	27.3%
尿・中間尿	2	0	0.0%
菌株	2	0	0.0%
膿	1	1	100.0%
喀痰	1	0	0.0%
胆汁	1	1	100.0%
不明・空白	36	8	22.2%
合計	268	90	33.6%

図 1. ヒト及び食品由来サルモネラ株の血清型(2019 年分離株)

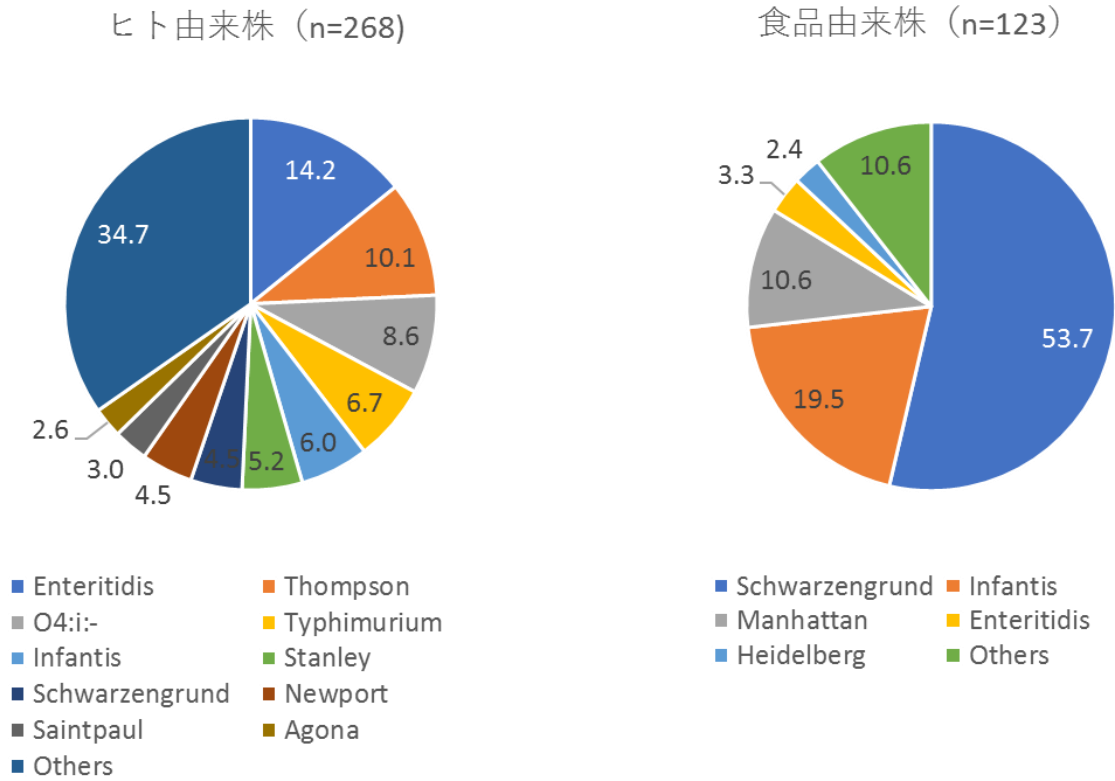


表 3. ヒト由来 non-typhoidal *Salmonella* spp の耐性率(2015-2019 年)

	2015 (n=388)	2016 (n=362)	2017 (n=420)	2018 (n=317)	2019 (n=268)	2015-2019 (n=1755)
ABPC	17.3	18.0	15.5	19.2	14.9	17.0
GM	0.3	0.6	0.7	0.6	1.5	0.7
KM	5.9	11.6	7.1	8.2	5.6	7.7
SM	27.1	29.8	26.0	29.0	23.1	27.1
TC	32.5	28.7	26.4	25.2	21.6	27.3
ST	4.4	6.6	7.9	6.3	3.7	5.9
CP	2.3	6.4	5.2	6.0	5.6	5.0
CTX	0.3	2.8	3.1	3.2	1.9	2.2
CAZ	0.3	2.2	1.7	1.9	1.1	1.4
CFX	0.0	1.4	0.5	0.6	0.0	0.5
FOM	0.0	0.3	0.5	0.3	0.4	0.3
NA	7.0	8.0	10.0	6.0	5.2	7.5
CPFX	0.3	0.8	1.4	0.3	1.5	0.9
NFLX	0.3	0.8	0.5	0.0	0.7	0.5
AMK	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
IPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1 剤以上耐性数	163	162	158	126	90	699
1 剤以上耐性率	42.0	44.8	37.6	39.7	33.6	39.8

各年 1 月～12 月に分離された菌株

表 4. 食品由来 non-typhoidal *Salmonella* spp の耐性率(2015-2019 年)

	2015 (n=156)	2016 (n=110)	2017 (n=86)	2018 (n=108)	2019 (n=123)	2015-2019 (n=583)
ABPC	17.9	13.6	11.6	14.8	8.9	13.7
GM	0.0	0.9	1.2	0.0	0.0	0.3
KM	47.4	47.3	45.3	50.0	58.5	49.9
SM	82.7	70.9	69.8	77.8	65.9	74.1
TC	85.9	76.4	73.3	81.5	69.9	78.0
ST	19.9	16.4	12.8	38.0	26.0	22.8
CP	7.1	10.0	2.3	8.3	4.1	6.5
CTX	5.1	5.5	8.1	9.3	4.1	6.2
CAZ	4.5	6.4	8.1	9.3	2.4	5.8
CFX	2.6	3.6	8.1	7.4	3.3	4.6
FOM	0.0	0.9	1.2	0.0	0.0	0.3
NA	18.6	18.2	14.0	19.4	25.2	19.4
CPFX	0.0	0.9	1.2	0.0	0.0	0.3
NFLX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
AMK	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
IPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1 剤以上耐性数	143	96	77	98	113	527
1 剤以上耐性率	91.7	87.3	89.5	90.7	91.9	90.4

図2. 6剤以上に耐性を示したサルモネラ株
(2019年分離株)

ヒト由来株

分離年	薬剤耐性数	ABPC	GM	KM	SM	TC	ST	CP	CTX	CAZ	CFX	FOM	NA	CPFX	NFLX	AMK	IPM	MEPM
2019	7	R	R	S	R	R	S	R	R	R	S	S	I	I	S	S	S	S
2019	7	R	S	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
2019	8	R	S	S	R	S	R	R	R	R	S	S	R	R	I	S	S	S
2019	8	R	S	R	R	R	S	R	R	S	S	R	R	I	S	S	S	S
2019	6	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
2019	9	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	R	R	R	S	S	S

食品由来株

分離年	薬剤耐性数	ABPC	GM	KM	SM	TC	ST	CP	CTX	CAZ	CFX	FOM	NA	CPFX	NFLX	AMK	IPM	MEPM
2019	7	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	I	S	S	S	S
2019	6	R	S	S	I	R	S	S	R	R	R	I	R	I	S	S	S	S
2019	6	I	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
2019	6	R	S	S	I	R	S	S	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S
2019	6	S	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	I	S	S	S	S
2019	6	S	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	I	S	S	S	S

国産
不明
国産
国産
国産
国産

図3. セフェム系薬剤に耐性を示したサルモネラ株
(2019年分離株)

ヒト由来株

分離年	耐性薬剤数	CTX	CAZ	CFX
2019	7	R	R	S
2019	7	R	R	S
2019	8	R	R	S
2019	8	R	S	S
2019	9	R	S	S

食品由来株

分離年	薬剤耐性数	CTX	CAZ	CFX
2019	6	R	R	R
2019	3	R	I	R
2019	5	R	R	S
2019	5	R	I	R
2019	6	R	R	R

不明
国産
国産
国産
国産

表 5. 食品由来 *S. Infantis* の耐性率 (2015–2019 年)

	2015 (n=65)	2016 (n=33)	2017 (n=19)	2018 (n=27)	2019 (n=24)	2015–2019 (n=168)
ABPC	10.8	12.1	5.3	14.8	8.3	10.7
GM	0.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.6
KM	44.6	42.4	15.8	33.3	37.5	38.1
SM	81.5	72.7	63.2	85.2	58.3	75.0
TC	89.2	81.8	68.4	85.2	58.3	80.4
ST	18.5	30.3	0.0	44.4	12.5	22.0
CP	3.1	3.0	0.0	0.0	0.0	1.8
CTX	4.6	6.1	5.3	11.1	8.3	6.5
CAZ	3.1	9.1	5.3	11.1	0.0	5.4
CFX	4.6	9.1	5.3	14.8	8.3	7.7
FOM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NA	3.1	9.1	0.0	3.7	16.7	6.0
CPFX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NFLX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
AMK	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
IPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

表 6. 食品由来 *S. Schwarzengrund* の耐性率 (2015–2019 年)

	2015 (n=47)	2016 (n=36)	2017 (n=45)	2018 (n=51)	2019 (n=66)	2015–2019 (n=245)
ABPC	17.0	5.6	0.0	7.8	3.0	6.5
GM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
KM	85.1	88.9	77.8	80.4	92.4	85.3
SM	93.6	80.6	82.2	76.5	74.2	80.8
TC	95.7	86.1	80.0	86.3	80.3	85.3
ST	36.2	16.7	24.4	56.9	43.9	37.6
CP	19.1	11.1	4.4	9.8	6.1	9.8
CTX	0.0	0.0	2.2	0.0	0.0	0.4
CAZ	0.0	0.0	2.2	0.0	0.0	0.4
CFX	0.0	0.0	2.2	0.0	0.0	0.4
FOM	0.0	0.0	2.2	0.0	0.0	0.4
NA	25.5	19.4	6.7	23.5	27.3	21.2
CPFX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NFLX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
AMK	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
IPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

図 4. 主要な食品由来サルモネラ株の血清型別薬剤耐性率
(2019 年分離株 n=103)

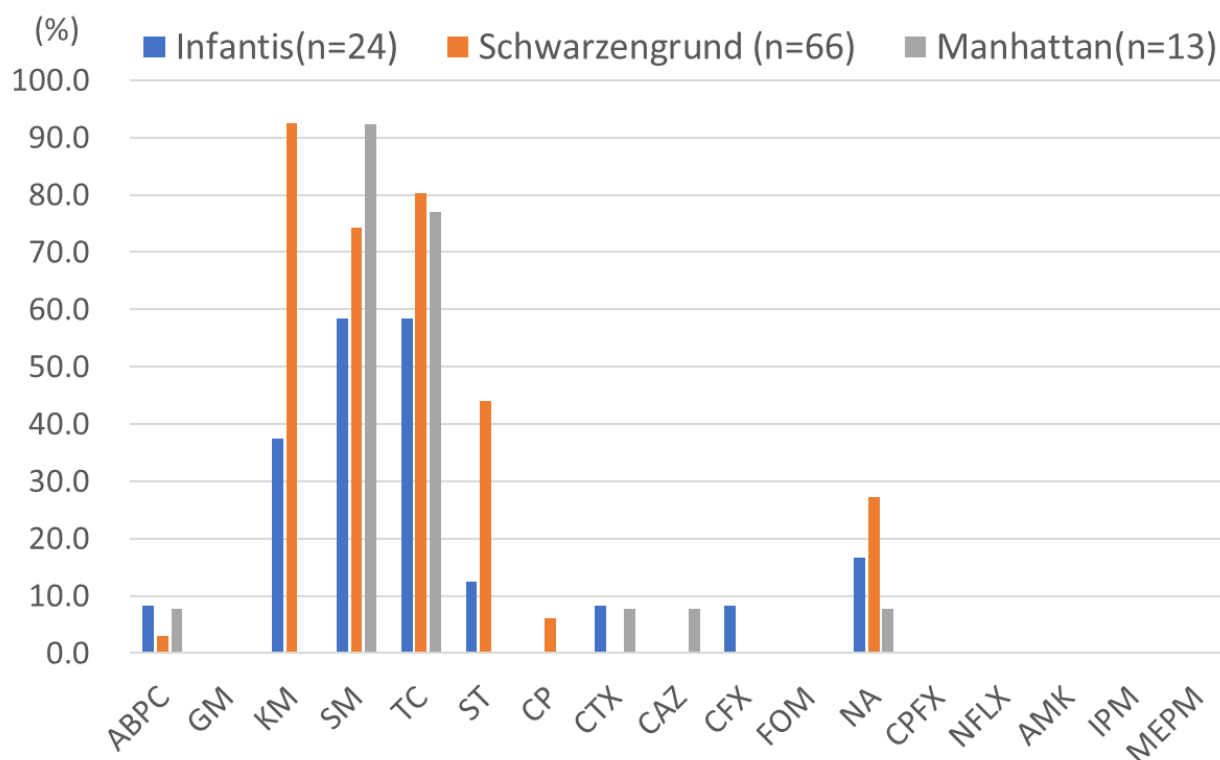


表 7. ヒト由来 *S. Infantis* の耐性率 (2015–2019 年)

	2015 (n=34)	2016 (n=48)	2017 (n=48)	2018 (n=22)	2019 (n=16)	2015–2019 (n=168)
ABPC	0.0	2.1	0.0	9.1	6.3	2.4
GM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
KM	20.6	14.6	6.3	22.7	12.5	14.3
SM	29.4	33.3	20.8	50.0	31.3	31.0
TC	47.1	33.3	22.9	54.5	37.5	36.3
ST	14.7	14.6	2.1	18.2	0.0	10.1
CP	0.0	0.0	0.0	9.1	6.3	1.8
CTX	0.0	2.1	0.0	4.5	6.3	1.8
CAZ	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
CFX	0.0	2.1	0.0	0.0	0.0	0.6
FOM	0.0	0.0	0.0	0.0	6.3	0.6
NA	8.8	4.2	8.3	0.0	12.5	6.5
CPMX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NFLX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
AMK	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
IPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

表 8. ヒト由来 *S. Enteritidis* の耐性率(2015-2019 年)

	2015 (n=39)	2016 (n=41)	2017 (n=50)	2018 (n=43)	2019 (n=38)	2015-2019 (n=211)
ABPC	5.1	19.5	6.0	7.0	5.3	8.5
GM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
KM	2.6	2.4	0.0	0.0	0.0	0.9
SM	12.8	12.2	14.0	14.0	5.3	11.8
TC	10.3	2.4	6.0	9.3	5.3	6.6
ST	5.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.9
CP	2.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5
CTX	0.0	2.4	0.0	0.0	0.0	0.5
CAZ	0.0	2.4	0.0	0.0	0.0	0.5
CFX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
FOM	0.0	0.0	0.0	2.3	0.0	0.5
NA	10.3	26.8	14.0	25.6	10.5	17.5
CPFX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NFLX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
AMK	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
IPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

表 9. ヒト由来 *S. Thompson* の耐性率(2015-2019 年)

	2015 (n=28)	2016 (n=28)	2017 (n=30)	2018 (n=29)	2019 (n=27)	2015-2019 (n=142)
ABPC	0.0	10.7	0.0	0.0	7.4	3.5
GM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
KM	7.1	0.0	0.0	0.0	0.0	1.4
SM	7.1	7.1	3.3	6.9	0.0	4.9
TC	3.6	7.1	6.7	0.0	0.0	3.5
ST	0.0	7.1	0.0	0.0	0.0	1.4
CP	0.0	7.1	0.0	0.0	0.0	1.4
CTX	0.0	10.7	0.0	0.0	0.0	2.1
CAZ	0.0	7.1	0.0	0.0	0.0	1.4
CFX	0.0	7.1	0.0	0.0	0.0	1.4
FOM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NA	0.0	0.0	0.0	3.4	0.0	0.7
CPFX	0.0	7.1	0.0	0.0	0.0	1.4
NFLX	0.0	7.1	0.0	0.0	0.0	1.4
AMK	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
IPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

表 10. ヒト由来 S. 4:i:- の耐性率(2015-2019 年)

	2015 (n=60)	2016 (n=37)	2017 (n=36)	2018 (n=36)	2019 (n=23)	2015-2019 (n=192)
ABPC	71.7	64.9	77.8	86.1	82.6	75.5
GM	1.7	0.0	2.8	0.0	0.0	1.0
KM	3.3	5.4	2.8	8.3	4.3	4.7
SM	73.3	70.3	80.6	91.7	82.6	78.6
TC	85.0	62.2	77.8	80.6	65.2	76.0
ST	5.0	10.8	5.6	8.3	8.7	7.3
CP	3.3	10.8	8.3	13.9	8.7	8.3
CTX	0.0	2.7	2.8	2.8	0.0	1.6
CAZ	0.0	2.7	2.8	0.0	0.0	1.0
CFX	0.0	0.0	2.8	0.0	0.0	0.5
FOM	0.0	2.7	0.0	0.0	0.0	0.5
NA	1.7	2.7	5.6	0.0	0.0	2.1
CPFX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NFLX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
AMK	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
IPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

表 11. ヒト由来 S. Saintpaul の耐性率(2015-2019 年)

	2015 (n=27)	2016 (n=26)	2017 (n=42)	2018 (n=10)	2019 (n=8)	2015-2019 (n=113)
ABPC	7.4	7.7	14.3	10.0	0.0	9.7
GM	0.0	0.0	2.4	0.0	0.0	0.9
KM	0.0	3.8	4.8	0.0	0.0	2.7
SM	3.7	3.8	11.9	0.0	0.0	6.2
TC	40.7	15.4	21.4	10.0	12.5	23.0
ST	0.0	11.5	16.7	10.0	12.5	10.6
CP	3.7	0.0	14.3	0.0	12.5	7.1
CTX	0.0	0.0	11.9	0.0	0.0	4.4
CAZ	0.0	0.0	2.4	0.0	0.0	0.9
CFX	0.0	3.8	0.0	0.0	0.0	0.9
FOM	0.0	0.0	2.4	0.0	0.0	0.9
NA	7.4	3.8	19.0	0.0	0.0	9.7
CPFX	3.7	0.0	9.5	0.0	0.0	4.4
NFLX	3.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.9
AMK	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
IPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

図 5. 主要なヒト由来サルモネラ株の血清型別薬剤耐性率
(2019 年分離株 n=124)

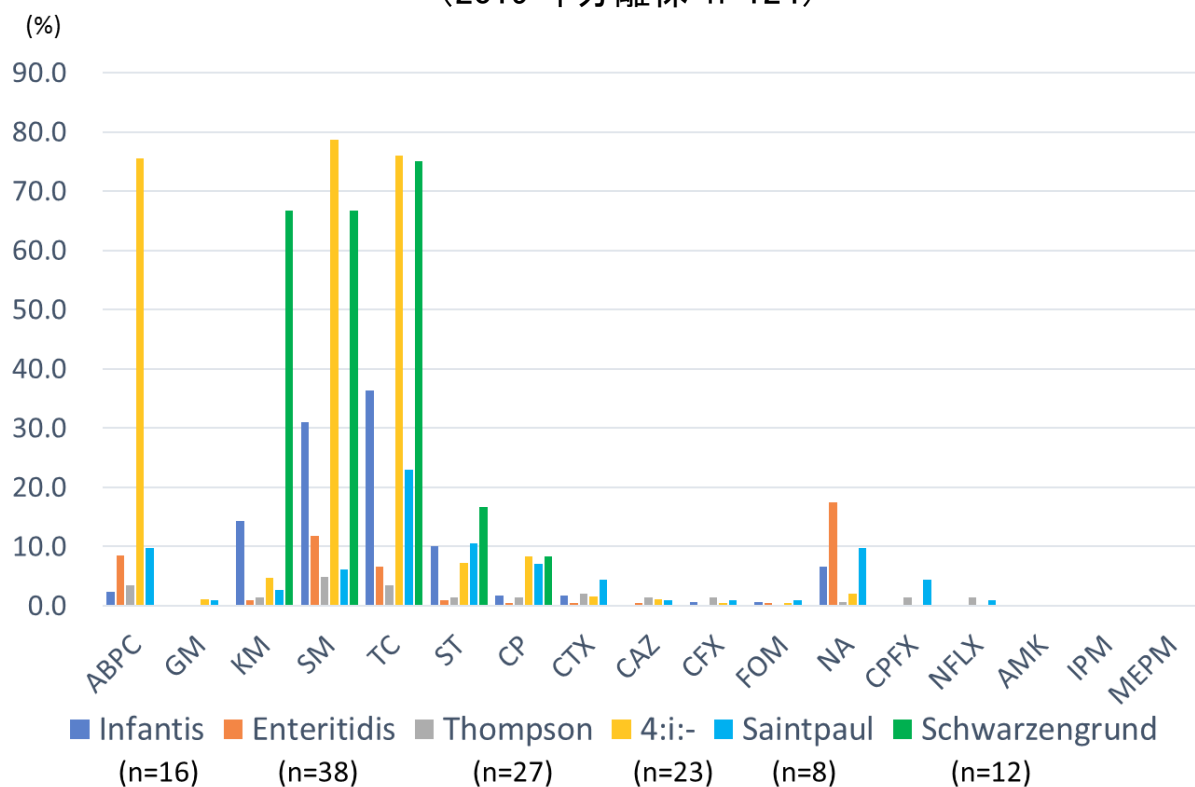


表12. ヒト及び食品から検出されるS.Infantis、S.Schwarzengrund、S.Manhattan の耐性率(2019年)

	Infantis		Schwarzengrund		Manhattan	
	ヒト(n=16)	食品(n=24)	ヒト(n=12)	食品(n=66)	ヒト(n=4)	食品(n=13)
ABPC	6.3	8.3	0.0	3.0	0.0	7.7
GM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
KM	12.5	37.5	66.7	92.4	0.0	0.0
SM	31.3	58.3	66.7	74.2	75.0	92.3
TC	37.5	58.3	75.0	80.3	50.0	76.9
ST	0.0	12.5	16.7	43.9	0.0	0.0
CP	6.3	0.0	8.3	6.1	0.0	0.0
CTX	6.3	8.3	0.0	0.0	0.0	7.7
CAZ	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	7.7
CFX	0.0	8.3	0.0	0.0	0.0	0.0
FOM	6.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NA	12.5	16.7	0.0	27.3	0.0	7.7
CPF	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NFLX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
AMK	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
IPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

図 6. ヒト及び食品由来サルモネラ株の血清型別薬剤耐性率
(2019 年分離株) (表 12 のグラフ)

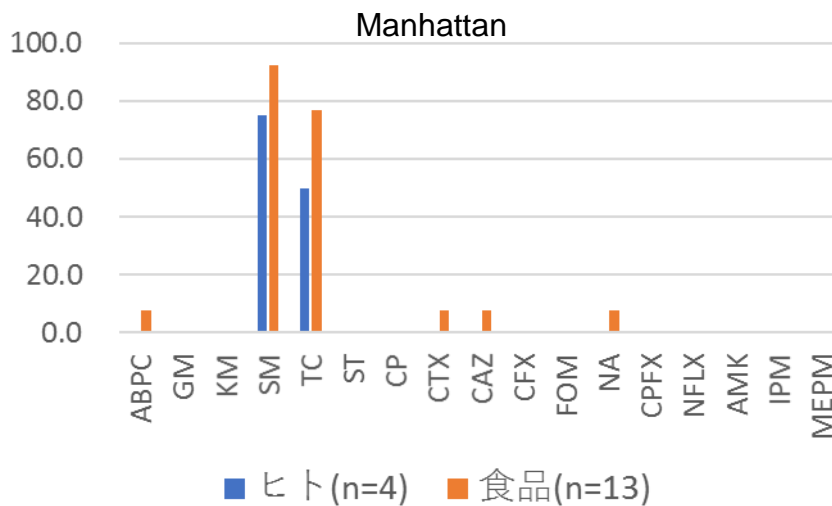
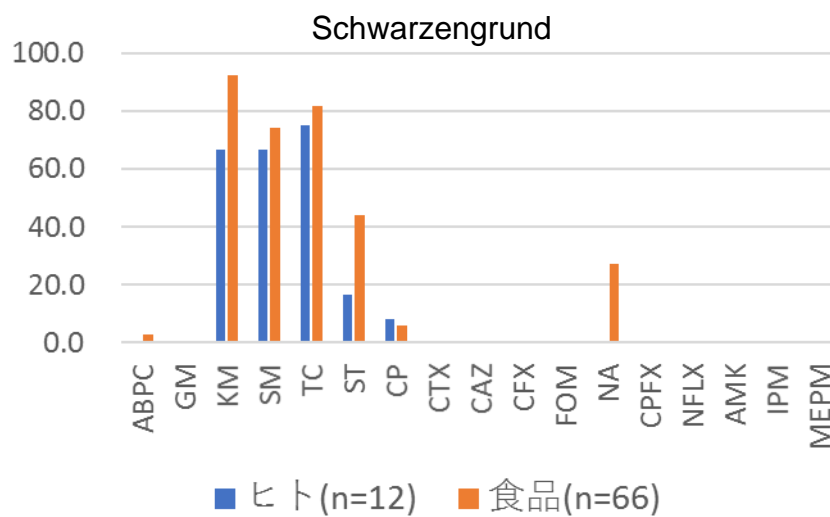
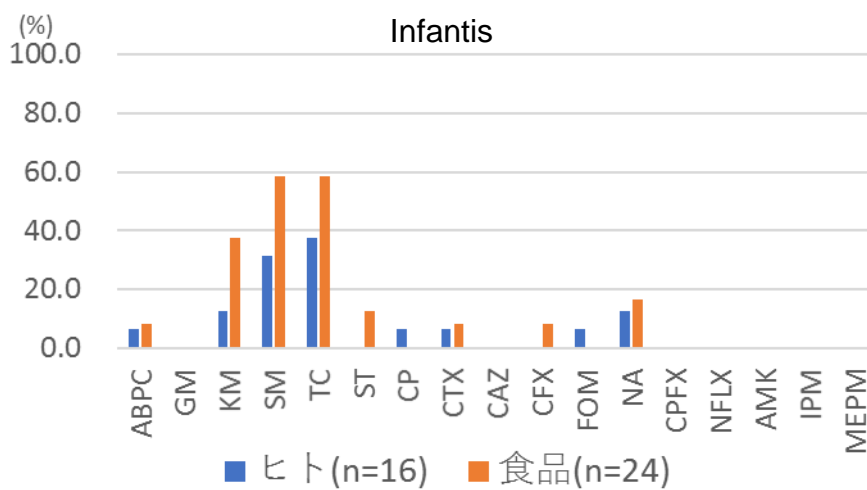


表13. 本研究で用いた大腸菌株の分類

分類	病原因子またはマーカー	定義
腸管出血性/Vero毒素産生性 (EHEC/VTEC)	VT1, VT2	VT産生性あるいはVT遺伝子が確認されたもの
腸管毒素原性 (ETEC)	LT, ST	LT,ST,あるいはその両者の産生性あるいは毒素遺伝子が確認されたもの
腸管侵入性 (EIEC)	<i>invE, ipaH</i>	組織侵入性プラスミドを保有していること、あるいは組織侵入性遺伝子が確認されたもの
腸管病原性 (EPEC)	<i>eae, bfpA, EAF</i>	培養細胞への局在付着性、または、それに関連する遺伝子が確認されたもの (VT, LT, ST, 侵入性が確認されたものを除く)
腸管凝集付着性 (EAggEC)	<i>aggR, CVD432</i>	培養細胞への凝集付着性、または、それに関連する遺伝子が確認されたもの (VT, LT, ST, 侵入性が確認されたものを除く)
他の下痢原性	<i>astA</i>	上記5つに該当しないが胃腸炎の原因と考えられるもの. 生化学的性状が同じものが多数の患者より検出された場合
その他	—	上記病原因子陰性 (病原因子未検査株を含む)

(病原微生物検出情報Vol.33 No.1表1を改変)

表14. ヒト及び食品由来大腸菌株の薬剤耐性状況
(2015～2019年分離株 n = 1,563)

ヒト由来株 (n = 1,488)

食品由来株 (n = 75)

年	ヒト由来株 (n = 1,488)				食品由来株 (n = 75)				
	分類	株数	耐性数	耐性率	分類	株数	耐性数	耐性率	
2015	EHEC	130	39	30.0	2015	EHEC	4	1	25.0
	下痢原性	23	20	87.0		下痢原性	2	2	100.0
	その他	12	6	50.0		その他	0	0	—
	計	165	65	39.4		計	6	3	50.0
2016	EHEC	115	34	29.6	2016	EHEC	5	2	40.0
	下痢原性	32	24	75.0		下痢原性	2	2	100.0
	その他	24	15	62.5		その他	0	0	—
	計	171	73	42.7		計	7	4	57.1
2017	EHEC	191	68	35.6	2017	EHEC	0	0	—
	下痢原性	26	18	69.2		下痢原性	9	5	55.6
	その他	28	23	82.1		その他	19	12	63.2
	計	245	109	44.5		計	28	17	60.7
2018	EHEC	471	110	23.4	2018	EHEC	1	0	0.0
	下痢原性	50	31	62.0		下痢原性	15	9	60.0
	その他	42	30	71.4		その他	13	8	61.5
	計	563	171	30.4		計	29	17	58.6
2019	EHEC	282	73	25.9	2019	EHEC	2	1	50.0
	下痢原性	32	21	65.6		下痢原性	2	1	50.0
	その他	30	23	76.7		その他	1	0	0.0
	計	344	117	34.0		計	5	2	40.0
合計	EHEC	1189	324	27.2	合計	EHEC	12	4	33.3
	下痢原性	163	114	69.9		下痢原性	30	19	63.3
	その他	136	97	71.3		その他	33	20	60.6
	計	1488	535	36.0		計	75	43	57.3

#下痢原性EC：ETEC, EIEC, EPEC, EAggEC, 他の下痢原性EC (上記5つに該当せず*astA*保有)

*その他：病原因子陰性株及び病原因子未検査株

図7. ヒト由来大腸菌株の多剤耐性状況
(2015～2019年分離株)

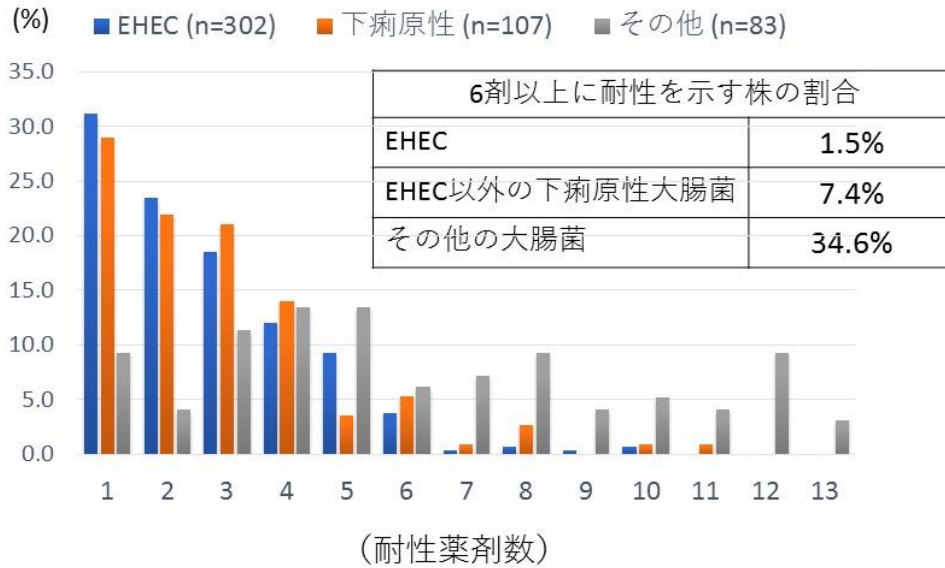


図8. ヒト由来大腸菌株の各種薬剤耐性率
(2015～2019年分離株)

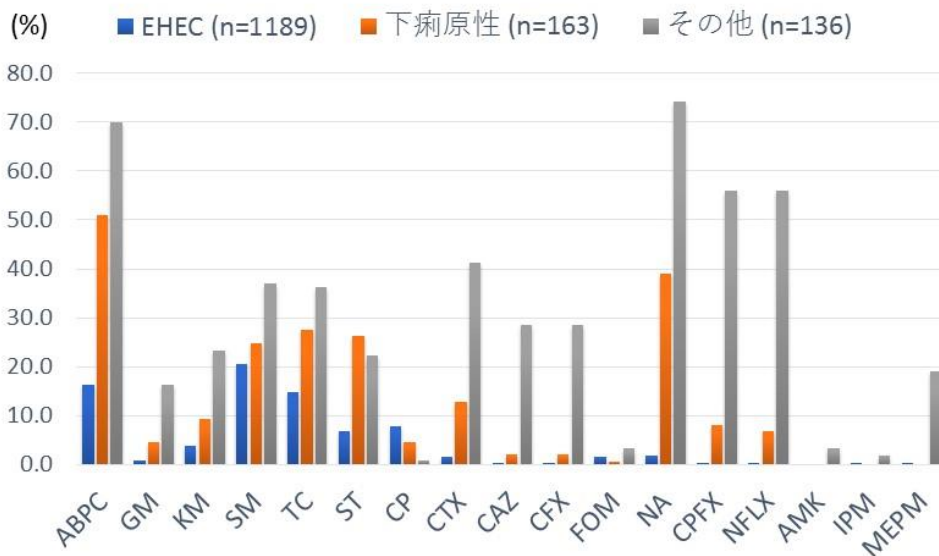


表15. ヒト及び食品由来*C.jejuni/coli*の耐性率
(2018～2019年分離株)

ヒト由来株

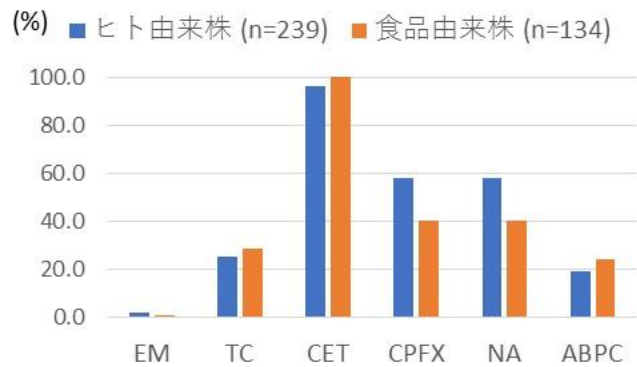
	2018			2019			2018-2019		
	jejuni (n=94)	coli (n=6)	合計 (n=100)	jejuni (n=145)	coli (n=10)	合計 (n=155)	jejuni (n=239)	coli (n=16)	合計 (n=255)
EM	2.1	16.7	3.0	1.4	10.0	1.9	1.7	12.5	2.4
TC	16.0	33.3	17.0	31.0	30.0	31.0	25.1	31.3	25.5
CET	92.6	100.0	93.0	98.6	100.0	98.7	96.2	100.0	96.5
CPFX	44.7	83.3	47.0	66.9	80.0	67.7	58.2	81.3	59.6
NA	45.7	83.3	48.0	66.2	80.0	67.1	58.2	81.3	59.6
ABPC	11.7	33.3	13.0	23.4	40.0	24.5	18.8	37.5	20.0
1剤以上耐性数	89	6	95	145	10	155	234	16	250
1剤以上耐性率	94.7	100.0	95.0	100.0	100.0	100.0	97.9	100.0	98.0

食品由来株

	2018			2019			2018-2019		
	jejuni (n=60)	coli (n=12)	合計 (n=72)	jejuni (n=74)	coli (n=12)	合計 (n=87)	jejuni (n=134)	coli (n=24)	合計 (n=158)
EM	0.0	25.0	4.2	1.4	25.0	4.7	0.7	25.0	4.4
TC	25.0	58.3	30.6	31.1	66.7	36.0	28.4	62.5	33.5
CET	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0
CPFX	35.0	58.3	38.9	44.6	58.3	46.5	40.3	58.3	43.0
NA	35.0	58.3	38.9	44.6	58.3	46.5	40.3	58.3	43.0
ABPC	30.0	16.7	27.8	18.9	50.0	23.3	23.9	33.3	25.3
1剤以上耐性数	60	12	72	74	12	86	134	24	158
1剤以上耐性率	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0

図9. ヒト及び食品由来
*C.jejuni/coli*株の
薬剤耐性率
(上表のグラフ)
(2018～2019年分離株)

C.jejuni



C.coli

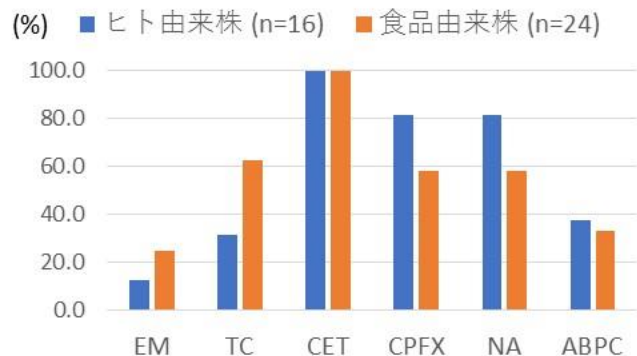


図10. サルモネラ株及び大腸菌株におけるESBL産生遺伝子及びAmpC遺伝子の検出

対象菌株：2015～2018年分離サルモネラ属菌株及び大腸菌株のうち、CTX, CAZ, CFXの1剤以上に耐性を示す菌株

方法：菌株から抽出したゲノムDNAを鋳型とし、PCR法で検出

ESBL 遺伝子検査用プライマー一覧				AmpC 遺伝子検査用プライマー一覧			
遺伝子型		Primer	size(bp)	遺伝子型		Primer	size(bp)
TEM型	TEM-410F	GGTCGCCGCATACACTATTCTC	372bp	FOX型	FOXMF	AACATGGGGTATCAGGGAGATG	190bp
	TEM-781R	TTTATCCGCCTCCATCCAGTC			FOXMR	CAAAGCGCGTAACCGGATTG	
SHV型	SHV-287F	CCAGCAGGATCTGGTGACTAC	231bp	EBC型	EBCMF	TCGGTAAAGCCGATGTTGCGG	302bp
	SHV-517R	CCGGGAAGCGCCTCAT			EBCMR	CTTCCA CTGCGGCTGCCAGTT	
CTX-M-1型	ctxm1-115F	GAATTAGAGCGGCAGTCGGG	588bp	ACC型	ACCMF	AACAGCCTCAGCAGCCGGTTA	346bp
	ctxm1-702R	CACAACCCAGGAAGCAGGC			ACCMR	TTCGCCGCAATCATCCCTAGC	
CTX-M-2型	ctxm2-39F	GATGGCGACGCTACCCC	107bp	DHA型	DHAMF	AACTTTCACAGGTGTGCTGGGT	405bp
	ctxm2-145R	CAAGCCGACCTCCCGAAC			DHAMR	CCGTACGCATACTGGCTTTGC	
CTX-M-8/25型	ctxm8g25g-533F	GCGACCCGCGGATAC	186bp	CIT型	CITMF	TGGCCAGAACTGACAGGCAA	462bp
	ctxm8g25g-718R	TGCCGGTTTTATCCCCG			CITMR	TTTCTCTGAACGTGGCTGGC	
CTX-M-9型	ctxm9-16F	GTGCAACGGATGATGTTCCG	475bp	MOX型	MOXMF	GCTGCTCAAGGACACAGGAT	520bp
	ctxm9-490R	GAAACGTCTCATCGCCGATC			MOXMR	CACATTGAATAGGTGTGGTGC	

図11. ヒト及び食品由来サルモネラ株のESBL産生遺伝子及びAmpC遺伝子保有

ヒト由来株						食品由来株					
分	離	耐	CTX	GAZ	CFX	分	離	耐	CTX	GAZ	CFX
年	年	性				年	年	性			
数		数				数		数			
1	2016	10	R	R	R	1	2015	7	R	I	R
2	2016	2	R	S	S	2	2015	5	R	R	S
3	2016	8	R	R	S	3	2015	8	R	R	R
4	2016	3	S	S	R	4	2015	6	R	R	S
5	2016	7	R	R	S	5	2015	5	R	R	S
6	2016	7	R	R	S	6	2015	9	R	R	R
7	2016	10	R	R	R	7	2015	6	R	R	R
8	2016	6	R	R	R	8	2015	5	R	R	S
9	2017	5	R	R	S	9	2016	7	I	R	R
10	2017	5	R	R	S	10	2016	7	R	R	S
11	2017	7	R	R	S	11	2016	8	R	R	R
12	2017	4	R	S	S	12	2016	8	R	R	R
13	2017	8	R	I	S	13	2016	5	R	R	S
14	2017	8	R	I	S	14	2016	7	R	R	S
15	2017	8	R	S	S	15	2016	6	R	R	R
16	2017	7	R	R	S	16	2017	7	R	R	R
17	2017	9	R	R	R	17	2017	6	R	S	S
18	2017	8	R	R	R	18	2017	7	R	R	R
19	2018	2	R	I	S	19	2017	7	R	R	R
20	2018	7	R	R	S	20	2017	6	R	R	R
21	2018	4	R	I	I	21	2017	6	R	R	R
22	2018	3	R	R	S	22	2017	6	I	R	R
23	2018	6	R	I	S	23	2017	6	R	R	R
24	2018	11	R	R	S	24	2018	7	R	R	R
25	2018	7	R	R	S	25	2018	7	R	R	S
26	2018	8	R	R	R	26	2018	8	R	R	R
						27	2018	7	R	R	R
						28	2018	8	R	R	R
						29	2018	7	R	R	S
						30	2018	6	I	I	R
						31	2018	5	R	R	S

耐性遺伝子	ヒト由来株	食品由来株
ESBL (gr: group)		
CTX-M-1 gr.	10	6
CTX-M-2 gr.	1	1
CTX-M-8/25 gr.	0	0
CTX-M-9 gr.	4	0
SHV型	1	0
TEM型	6	5
AmpC		
ACC型	0	0
CIT型	5	18
DHA型	1	0
EBC型	0	0
FOX型	0	0
MOX型	0	0

(2015～2018年分離株)

図12. ヒト由来大腸菌株のESBL産生遺伝子及びAmpC遺伝子保有

ヒト由来株						食品由来株							
分	類	分	耐	CTX	GAZ	CFX	分	類	分	耐	CTX	GAZ	CFX
年		年	性				年		年	性			
数		数	数				数		数	数			
1	EHEC	2016	3	R	I	S	23	その他	2015	8	R	R	R
2	EHEC	2017	3	R	S	S	24	その他	2015	10	R	R	R
3	EHEC	2018	2	R	I	S	25	その他	2016	2	R	S	S
4	EHEC	2018	2	R	I	I	26	その他	2016	6	R	R	S
5	EHEC	2018	2	R	I	S	27	その他	2017	5	R	S	S
6	EHEC	2018	3	R	R	S	28	その他	2017	8	R	R	R
7	EHEC	2018	2	R	S	S	29	その他	2017	11	R	R	R
8	下痢原性	2015	3	R	S	S	30	その他	2017	11	R	R	R
9	下痢原性	2015	2	R	S	S	31	その他	2017	10	R	R	R
10	下痢原性	2015	4	R	S	S	32	その他	2017	12	R	R	R
11	下痢原性	2016	3	R	S	S	33	その他	2017	9	R	I	R
12	下痢原性	2016	2	R	S	S	34	その他	2017	12	R	R	R
13	下痢原性	2016	6	R	S	S	35	その他	2017	7	R	R	R
14	下痢原性	2016	2	R	I	S	36	その他	2017	8	R	R	R
15	下痢原性	2016	4	R	R	S	37	その他	2017	5	R	S	I
16	下痢原性	2016	3	R	S	S	38	その他	2017	6	R	R	S
17	下痢原性	2017	4	R	S	S	39	その他	2017	5	R	S	S
18	下痢原性	2018	3	R	I	S	40	その他	2017	9	R	R	S
19	下痢原性	2018	5	R	S	S	41	その他	2017	3	I	I	R
20	下痢原性	2018	2	I	I	R	42	その他	2017	12	R	R	I
21	下痢原性	2018	5	R	S	S	43	その他	2018	12	R	S	R
22	下痢原性	2018	2	I	I	R	44	その他	2018	8	R	R	R
							45	その他	2018	5	R	S	S
							46	その他	2018	7	R	S	S
							47	その他	2018	5	R	S	S
							48	その他	2018	6	R	S	R
							49	その他	2018	8	R	I	S
							50	その他	2018	7	R	S	I
							51	その他	2018	13	R	R	R
							52	その他	2018	13	R	R	R
							53	その他	2018	11	R	R	R
							54	その他	2018	9	R	R	R
							55	その他	2018	12	R	R	R
							56	その他	2018	13	R	R	R
							57	その他	2018	12	R	R	R
							58	その他	2018	12	R	R	R
							59	その他	2018	12	R	R	R
							60	その他	2018	10	R	R	R

耐性遺伝子	EHEC	下痢原性	その他
ESBL (gr: group)			
CTX-M-1 gr.	5	7	9
CTX-M-2 gr.	0	0	13
CTX-M-8/25 gr.	0	0	0
CTX-M-9 gr.	0	6	16
SHV型	0	0	0
TEM型	5	6	13
AmpC			
ACC型	0	0	0
CIT型	0	0	1
DHA型	0	0	0
EBC型	0	0	0
FOX型	0	0	0
MOX型	0	0	0

(2015～2018年分離株)

図13. サルモネラ株及び大腸菌株におけるコリスチン耐性遺伝子 (*mcr-1-10*) の検出

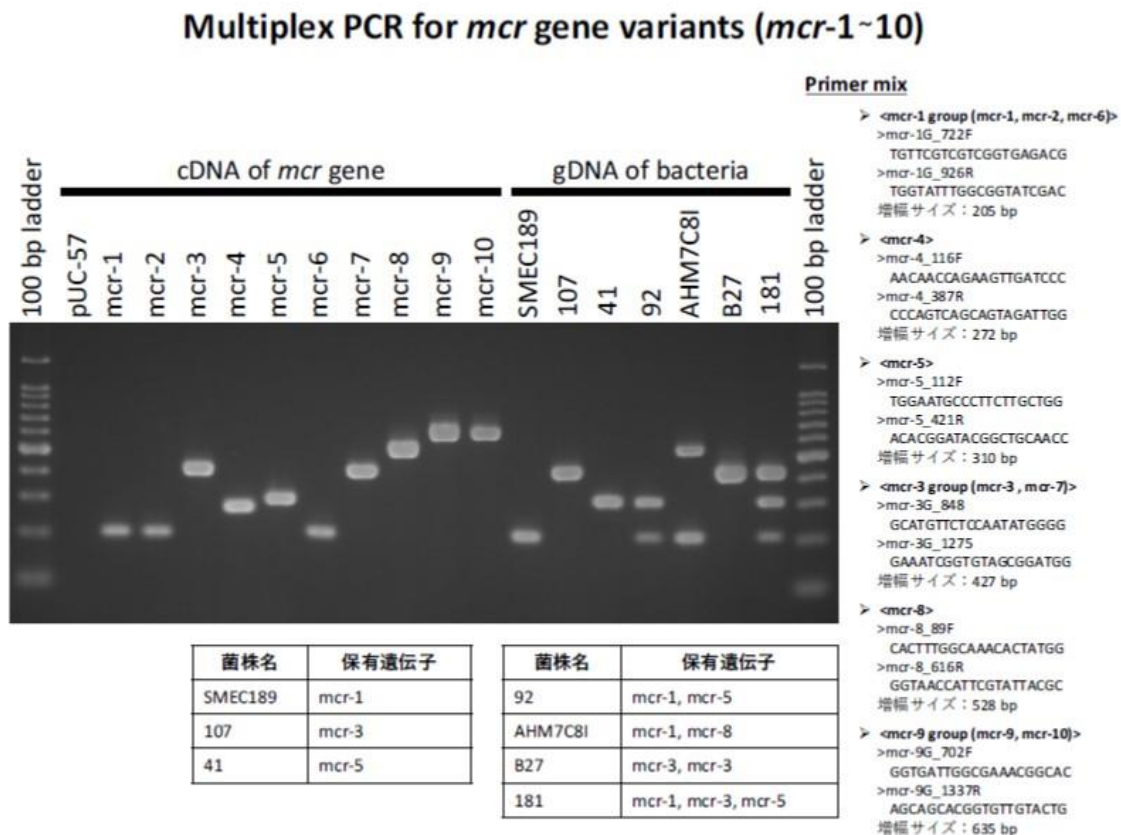


表16. 2015～2018年分離サルモネラ株及び大腸菌株におけるコリスチン耐性遺伝子 (*mcr-1-10*) の検出
(阻止円径 12 mm 以下の株について遺伝子検出の予定)

2015-2018サルモネラ株 コリスチン感受性ディスク阻止円						
		11mm以下	12mm	13mm	14mm以上	合計
ヒト由来	2015	4	69	105	210	388
	2016	9	33	149	170	361
	2017	3	64	128	215	410
	2018	1	23	82	211	317
	小計	17	189	464	806	1476
食品由来	2015	3	25	20	108	156
	2016	2	10	24	74	110
	2017	1	0	9	75	85
	2018	2	2	24	81	109
	小計	8	37	77	338	460
合計		25	226	541	1144	1936

2015-2018大腸菌株 コリスチン感受性ディスク阻止円							
	分類	11mm以下	12mm	13mm	14mm以上	合計	
ヒト由来	2015	EHEC	2	11	33	84	130
		下痢	0	0	1	22	23
		その他	0	0	0	12	12
	2016	EHEC	0	8	28	79	115
		下痢	0	1	4	27	32
		その他	0	0	0	24	24
	2017	EHEC	6	25	27	133	191
		下痢	0	1	3	22	26
		その他	1	3	5	19	28
	2018	EHEC	5	33	156	277	471
		下痢	0	1	12	37	50
		その他	7	6	11	18	42
	小計		21	89	280	754	1144

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）
分担研究報告書

食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究

研究分担者 菅井 基行 国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター長

研究要旨

WHOが進めている薬剤耐性サーベイランスGLASSに日本のデータを提出し、結果は各国のデータとともにWHOのホームページで公開された。

国内のヒト由来ESBL産生菌のゲノム解析候補菌の選定とプラスミド・ゲノムシーケンス解析を実施した。また市場で出回っている食肉、野菜由来の薬剤耐性菌プラスミド・ゲノムシーケンス解析を実施した。コリスチン耐性に関わる*mcr*遺伝子の全てのバリエーションを同時に検出することが可能なmultiplex PCR法を新たに開発した。

A. 研究目的

ワンヘルスアプローチによる薬剤耐性サーベイランス体制構築を目的として、動物医薬品検査所ならびに地方衛生研究所と協力し、人由来細菌のサーベイランス JANIS、家畜由来細菌のサーベイランス JVARM、ならびに食品由来細菌の薬剤耐性に関するデータを抽出、集計、統合し解析して、継続的に相互のデータ比較を行う。大腸菌、腸球菌、サルモネラについて、JANIS、JVARMのデータ比較を行う。H30年度は2017年のデータ、H31年度は2018年のデータ、H32年度は2019年のデータを解析する。サルモネラについては食品由来細菌のデータについても比較する。薬剤耐性に関する国のサーベイランスデータを用いて、ワンヘルスアプローチをナショナルレベルのデータで進めるのがこの研究の特色である。結果を研究班に提供し、家畜、食品、人の間での薬剤耐性菌／遺伝子の伝播状況の総合的な理解に資する。

また、WHOは2015年から薬剤耐性のグローバルサーベイランス (GLASS) を開始し、各国にナショナルデータの提出を求めている。GLASSはまず人由来検体から始め、将来的に食品由来検体も加えることが検討されている。この研究では分担者四宮（地方衛生研究所）ならびに分担者大西（国立感染症研究所細菌第一部）の協力も

得て GLASS に提出するための各菌種のデータを JANIS その他の調査から収集、集計する。GLASSはJANISが通常実施している集計とは異なる集計手法を指定しているため、通常のJANISの集計とは別途に集計を行い、GLASSが指定するファイル形式ファイルを作成し、GLASSに提出する。R1年度は2018年のデータを集計し、GLASSに提出する。

前年度までの成果からESBL産生腸内細菌科細菌株の分離率において家畜（鶏肉）由来では減少が見られるのに対し、ヒト由来ではむしろ増加傾向にあることが明らかとなった。この違いは何に起因するのかを明らかにするための基盤情報を整えるためにヒト由来代表株においてESBL遺伝子保有プラスミドを含むゲノム解析を行い（H30-R1年）、経年的な分子疫学解析を行う（R1-R2年）。またプラスミド性コリスチン耐性遺伝子*mcr*は現在*mcr-1*から*mcr-10*までのバリエーションが存在するが、国内では*mcr-1*、*-3*、*-5*が検出されている。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おいて*mcr*遺伝子保有プラスミドを含むゲノム解析を行い（H30-R1年）、プラスミドの比較解析を通して国内での*mcr*保有株の分子疫学を明らかにする（R2年）

B. 研究方法

大腸菌、腸球菌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する。大腸菌、腸球菌、サルモネラについて、JANIS、JVARMのデータ比較を行う。JVARMのデータは分担者の川西、サルモネラは分担者の四宮より提供を受ける。JANISでは、各菌種とも数万株の規模のデータを集計する。JVARMならびにサルモネラでは数百株の規模のデータを集計する。H30年度は2017年のデータ、H31年度は2018年のデータ、H32年は2019年のデータを解析する。サルモネラについては食品由来細菌のデータについても比較する。サーベイランス間で共通している薬剤や同系統の薬剤の耐性率を比較したデータを研究班に提示して、研究班内で人、家畜、食品の間で薬剤耐性菌／耐性遺伝子がどのように伝播しているのかを総合的に解析するための情報に資する。なお、一般公開する比較データについては農水省、厚労省と十分に協議し、一般国民や畜産など関係業界に情報が適切に伝わるように十分留意する。ホームページは国立国際医療研究センターが設置するワンヘルス Web ホームページを用い、掲載データは研究班で作成する。

WHOのグローバルサーベイランス(GLASS)については、これまでに作成した解析プログラムを用いて引き続きデータの集計を進める。令和元年度は2018年のデータを集計し、GLASSが指定するデータ形式のファイルを作成して提出する。GLASSが求めるデータのうち、大腸菌、*Klebsiella pneumoniae*、*Acinetobacter baumannii*、黄色ブドウ球菌、肺炎球菌については JANIS のデータベースから必要なデータを抽出する。サルモネラについては、分担者の四宮が全国の地方衛生研究所と協力して収集するデータを提供してもらおう。淋菌、赤痢菌については分担者の大西が収集するデータを提供してもらおう。それぞれの菌種で、数百から数万株のデータを集計する予定である。これらのデータをもとに、GLASSが指定するデータ形式のファイルを作成する。また GLASS の求める検

査材料別の重複処理を行う機能を開発する。令和元年度、令和2年度も同様に2018年、2019年のデータを集計し、GLASSに提出する。

腸内細菌科細菌における ESBL 産生株や *mcr* 遺伝子保有コリスチン耐性株は、地方衛生研究所、酪農学園大学、広島大学などの研究班の分担または関係機関と連携して収集する。連携研究機関では、主にディスク法による薬剤感受性試験の結果を指標に耐性菌株を収集し、ESBL 遺伝子および *mcr* 遺伝子の検出を multiplex PCR にて検討する。ESBL 産生性の確認は、ESBL の阻害薬であるクラブラン酸を用いたダブルディスク法、MCR 産生性の確認は、MCR の阻害剤であるジピコリン酸を用いたダブルディスク法を用いてそれぞれ行う。感染研では、菌種同定の確認を MALDI Biotyper (Bruker 社)、より詳細な薬剤感受性パターンを測定する MicroScan Walkaway (Beckman Coulter 社) を用いてそれぞれ行う。細菌ゲノムの解析は短鎖型シーケンサーである MiniSeq/MiSeq/HiSeq/NovaSeq システム (Illumina 社) にて行い、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、Plasmid Finder による保有プラスミドの型別を行い、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。

(倫理面への配慮)

C. 研究結果

1. GLASSへの報告

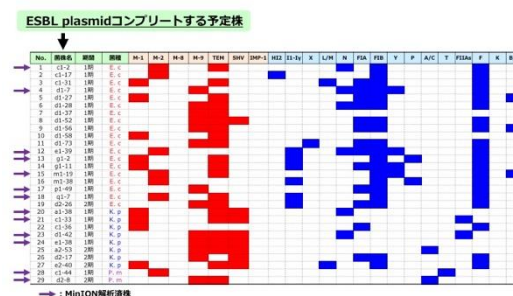
WHOが進めているサーベイランス GLASS については、JANIS データベースから 2016年、2017年の血液由来大腸菌、*A. baumannii*、*K. pneumoniae*、黄色ブドウ球菌、肺炎球菌、サルモネラ、ならびに尿由来大腸菌、*K. pneumoniae* のデータを抽出

し、集計した。各菌種とも数千から数万株のデータを集計しGLASS指定フォーマットのファイルを作成し、GLASSに提出した。淋菌、赤痢菌については分担者大西から国立感染症研究所細菌第一部が持つ2018年のデータの提供を受けた。便由来サルモネラについては、分担者四宮より地方衛生研究所が集計した2017年、2018年分のデータの提供をうけ、集計を行なった。地方衛生研究所では、独自のエクセルファイルでデータを管理しているため、データをGLASS指定フォーマットのファイルに変換するため、WHOが無償で配布している変換ツールBacLinkと集計ソフトWHONETを活用し提出用ファイルを作成した。他の菌種では耐性率はほぼ横ばいまたはやや減少傾向にあった。GLASSは今後も各国にデータの提出を求める予定であり、さらに将来的にはGLASSの集計方式が薬剤耐性サーベイランスの世界標準となる可能性があるため、今後もデータの集計を継続する必要がある。GLASSは各菌種において、各薬剤で試験を行う菌株数を同じにすることを前提としているが、JANISはもともと病院が測定しているデータを収集しているため薬剤ごとに測定菌株数が異なるという問題がある。GLASSの求める検査材料別の重複処理を行う機能を実装した集計プログラムを開発し、WHO GLASSへの集計データ提出を初めて、当初締切である7月中に終わることが出来た。また、その過程で、GLASSの重複処理とJANISの重複処理の違いを整理し、その違いによる薬剤耐性率の集計値のずれが軽微であることを示した論文を作成し、国際誌に投稿した。

2. ESBL産生菌、mcr遺伝子保有コリステン耐性菌の解析

広島県で2008.11月～2017.10月の10年間収集したヒト臨床分離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。29株を選択し、うち13株のゲノム解析を実施した。その結果、11のESBL plasmidの完全配列を取得した。次年度は引き続き解析を継続

ESBL plasmid replicon typing strains

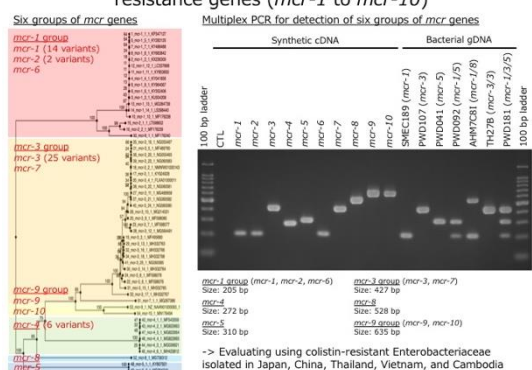


し、全株の完全配列取得を目指す。また市場で入手可能な肉・野菜由来の耐性菌のゲノム解析を行った。その結果、エジプト産牛肉より分離された*Enterobacter cloacae*より *bla_{TEM-1}*, *mcr-9*を保有するプラスミドを得た。また国産野菜から分離された*Klebsiella pneumoniae*より *bla_{NDM-1}*, *bla_{CTX-M-15}* 保有プラスミド、*bla_{CTX-M-14b}* 保有プラスミドをえた。次年度から施行されるWHO Tricycle Surveillance Projectのための呼び検討を行った。下水中の薬剤耐性菌に着目し、環境由来のESBL産生大腸菌の調査をするための条件検討を実施した。広島市内の下水処理4施設で採水し、下水中のESBL産生大腸菌が大腸菌全体の中で占める割合を調査した。このような条件検討をもとに算出された“ESBL産生大腸菌が全大腸菌に占める割合”は、およそ11%であった。ESBL産生大腸菌の98%はCTX-M型耐性遺伝子を保有し、ESBL産生大腸菌の19%がS T131であった。ESBL産生大腸菌42株のうち14%がアミノグリコシド耐性、57%がキノロン耐性を示し、3薬剤耐性菌は2%であった。今後さらに解析する必要が認められた。

4下水処理場下水中のESBL産生大腸菌



プラスミド性コリスチン耐性遺伝子は、2018年4月以降、*mcr-6*から*mcr-10*まで5種類の新たなバリエーションが報告された。また、既知の*mcr-1*から*mcr-5*に関しても、数多くの遺伝子多型が報告された。そのため、今年度は*mcr-1*から*mcr-10*まで全てのバリエーションを同時に検出することが可能なmultiplex PCR法を新たに開発した。ドラフトゲ



ノム配列を解析済みの国内外分離コリスチン耐性大腸菌140株について同検出系を用いて解析した結果、*mcr-1*、*mcr-3*または*mcr-5*の単独陽性株、*mcr-1*および*mcr-5*の共陽性株、*mcr-1*、*mcr-3*および*mcr-5*の共陽性株を問題なく検出することが可能であり、今後有用な検査法と考えられた（下図）。獲得性のポリミキシン耐性遺伝子 (*mcr-1*~*mcr-10*) の検出を行う新たなmultiplex PCR法の開発を行い、日本、中国、タイ、ベトナム、カンボジア由来のコリスチン耐性腸内細菌科細菌株から*mcr*陽性株の検出を行った。地方衛生研究所にmultiplex PCR法のプライマー配列およびPCR条件を情報共有し、陽性コントロール (*mcr-1*~*mcr-10*のDNA) の配布を行った。

日本および中国の分離菌株において、複数の*mcr*遺伝子が同時に検出された菌株の代表的な6株に関して完全ゲノム配列を決定したところ、各々の*mcr*遺伝子は異なる種類のプラスミド上にコードされていた。またイムノクロマト法によるMCR-1検出キットのMCRヴァリエーションの検出能について評価した。現在、中国における薬剤耐性菌株の収集を継続している。

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。他の研究班とも連携し、公開するデータの形式を検討していきたい。

2. ESBL産生菌、*mcr*遺伝子保有コリスチン耐性菌の解析

今後はさらにESBLプラスミドの全長配列解析を進め、それを元に分子疫学解析をする必要がある。また次年度はWHOが主導するTricycle Surveillanceに参加するため、ヒト、食品、動物由来のESBL陽性腸内細菌科細菌株が保有する薬剤耐性プラスミドの比較解析を行う。今後、*mcr*遺伝子の全てのバリエーションを同時に検出することが可能なmultiplex PCR法と完全ゲノム解析を駆使して、国内において環境および食品由来の*mcr*陽性コリスチン耐性菌株のゲノム疫学解析も併せて進めていきたい。

E. 結論

WHOが進めている薬剤耐性サーベイランスGLASSに日本のデータを提出した。GLASSが求めるデータを全て提出し、結果は各国のデータとともにWHOのホームページで公開された。

国内のESBL産生菌のゲノム解析候補菌の選定と一部の解析を実施した。また下水からの大腸菌及びESBL産生大腸菌の選択的分離について予備検討した。*mcr*遺伝子の全てのバリエーションを同時に検出することが可能なmultiplex PCR法を新たに開発した。

F. 健康危険情報

人由来の大腸菌の薬剤耐性率の上昇が顕著である。対策強化が急務である。

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1. 世界と我が国の耐性菌疫学と JANIS の今後、口頭(日本語)、菅井基行、第 116 回日本内科学会シンポジウム、薬剤耐性への国家的アクションプラン (名古屋)、2019/4/26、国内
2. 厚生労働省院内感染対策サーベイランス(JANIS)からみた評価と課題、口頭(日本語)、柴山恵吾、第 94 回日本感染症学会学術集会総会 (東京)、2019/4
3. Strengthening AMR surveillance and AMR Bacterial Bank –Our efforts in AMR Research Center-、口頭、菅井基行、第 2 回 AMR シンポジウム (東京)、2019/5/27、国内
4. JANIS にみる薬剤耐性菌の推移、第 67 回日本化学療法学会総会 (東京)、2019/5、国内
5. わが国の薬剤耐性菌対策、口頭、菅井基行、第 33 回抗酸菌セミナー(東京)、2019/6/28、国内
6. National Surveillance of Antimicrobial Resistance in Japan, 口頭(英語)、Keigo Shibayama, The 16th National Conference of Clinical Pharmacology on Anti-infective Agents, The fourth National Conference on Antimicrobial Resistance Surveillance, The third

Peking University anti infection Forum (Chengdu), 2019/5、国外

7. ナショナルサーベイランスからみた薬剤耐性菌の現状とこれから、口頭、菅井基行、第 3 回日本ワンヘルスサイエンス学会 (東京)、2018/9/14、国内
8. Strengthen the National AMR Surveillance in Japan、口頭 (英語)、菅井基行、BARDA Industry Day (Washington DC, USA)、2019/10/15、国外
9. 薬剤耐性研究センター 活動報告 2018-2019、口頭、菅井基行、厚生労働省 AMR 小委員会、2019/10/30
10. 最近の薬剤耐性菌状況について、口頭、菅井基行、平成 31 年 院内感染対策講習会、2019/11/22、国内
11. 最近の薬剤耐性菌状況について、口頭、菅井基行、令和元年度地域保健総合推進事業に係る地域レファレンスセンター連絡会議 2019/11/25、国内
12. 薬剤耐性菌バンク、口頭、菅井基行、第 31 回日本臨床微生物学会総会・学術集会 (金沢)、2020/2/1、国内
13. National AMR Surveillance and AMR Bacterial Bank, 口頭, Motoyuki Sugai, 日本細菌学会総会 (東京)、国際シンポジウム 2020/02/19、国内
(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究
分担課題 無症状保菌者由来サルモネラの薬剤感受性プロファイル解析に
関する研究

研究分担者 大西 真 (国立感染症研究所・細菌第一部・部長)
研究協力者 泉谷秀昌 (国立感染症研究所・細菌第一部・室長)

研究要旨

この研究では、サルモネラヒト由来株に焦点をあてて解析する体制構築を目指した。食品からヒトへの菌の伝播を考えるうえで重要な健康サルモネラ保菌者由来株の解析体制について検討を行った。

A. 研究目的

腸チフス、パラチフスを除くサルモネラ (non-typhoidal Salmonella, NTS) 症は食中毒の中で件数、患者数とも上位を占めることが知られている。また、食品由来感染症（食中毒として捉えることができない事例を含む）としても、カンピロバクター感染症とともに未だ多数の症例が国内で存在することが推定されている。サルモネラ属菌による食品由来推定患者数は年間14～25万人程度（2005～2008）とされている（平成21年度厚生労働省科学研究費補助金食品の安心・安全確保推進研究事業『食品衛生関連情報の効率的な活用に関する研究』：分担研究「宮城県における積極的 食品由来感染症病原体サーベイランスならびに急性下痢症疾患の実被害者数推定」 分担研究者 窪田邦宏、春日文子、2010、p. 117-136.）。

大規模流通食品の汚染が、直接大規模事例につながる危険がある。そのため、散发例の把握、食品汚染の実態の把握からリスク要因を抽出し、NTS 対策の効率化、高度化が望まれる。また、薬剤感受性プロファイルを理解することで、NTS の動物-ヒト間の伝播の様子を探る上でも分離株の詳細な

検討が必要である

本研究では、国立感染症研究所で収集された NTS 株の整理をするとともに、健康サルモネラ保菌者由来株の解析体制について検討を行った

B. 研究方法

健康サルモネラ保菌者由来株の解析体制の構築

業務従事者の検便を実施している検査会社から、2013年に分離された血清群08及び09の株、並びに2017年に分離された血清群04の株の分与を受け、これについてH型別及び薬剤感受性試験を行った。

薬剤感受性試験はディスク法を用いて行った。供試薬剤はアンピシリン (ABPC もしくは A と略記)、ストレプトマイシン (SM もしくは S)、テトラサイクリン (TC もしくは T)、カナマイシン (KM もしくは K)、クロラムフェニコール (CP もしくは C)、ST合剤 (Sx)、ゲンタマイシン (GM もしくは G)、ナリジクス酸 (NA もしくは N)、セフォタキシム (CTX もしくは Ct)、セフトジジム (CAZ もしくは Cz)、セフォキシチン (FOX)、シプロフロキサシン (CPFX もしくは Cp)、ホスホマイシン (FOM もしくは F)、アミカシ

ン (AMK)、イミペネム (IPM)、メロペネム (MEPM)、アジスロマイシン (AZM もしくは Zm) の 17 薬剤であった。

倫理面への配慮

いずれも菌株のみの解析であり、個人情報 は連結不可能匿名化されている。

C. 研究結果

前年度までに本研究において、2013 年、2015 年に分離されたサルモネラ 04 群、並びに 2017 年に分離された 08、09 群について、血清型及び薬剤耐性パターンの傾向等を解析した。本年度は健康サルモネラ保菌者由来株の情報をさらに充実させるため、主要サルモネラ 0 群のうち、04、08 及び 09 群について、業務従事者の検便を実施している検査会社から 2013 年分離株 (08 及び 09 群)、2017 年分離株 (04 群) の提供を受け、それらを試験した。

1. 09 群の結果：

2013 年分離 19 株を試験した。血清型の内訳は Enteritidis が最も多く、全体の 79% を占めた。次いで Panama (6%)、Javiana (5%) であった (図 1)。

血清型によらず、薬剤耐性率は全般に低かった。Panama において SM+TC+CP 耐性が見られた。Enteritidis では SM 耐性が 20%、NA 耐性が 7% 見られた。Javiana はすべての薬剤に感受性であった。

2. 08 群の結果：

2013 年分離 110 株を試験した。血清型の内訳は、Manhattan が 24% を占め、次いで Corvallis 18%、Newport 15%、Nagoya 10% であった (図 2)。

09 群に比べ、耐性率は高く、特に SM、TC は全体でともに 27% であった。SM、TC ともに血清型 Manhattan において耐性率が高かった (図 3)。

3. 04 群の結果：

2017 年分離 229 株を試験した。血清型の内訳は、Schwarzengrund が 48%、次いで Agona 14%、04:i:- 11%、Typhimurium 8%

であった (図 4)。2013-2015-2017 年分離株の推移をみると、Schwarzengrund の増加が顕著であった (図 5)。

耐性率は 04:i:-、Schwarzengrund、Typhimurium で高く、それぞれ 96%、94%、83% が何らかの薬剤に耐性を示した (図 6)。

主要血清型と薬剤耐性の推移を図 7-10 に示す。Agona では SM、TC に対する耐性率が高かった (図 7)。Schwarzengrund では SM、TC、KM に対する耐性率が高く、一部 NA 耐性も見られた (図 8)。Typhimurium では ABPC、SM、TC に対する耐性率が高く、KM、CP、NA に耐性を示す株も 20% 前後あった (図 9)。04:i:- では ABPC、SM、TC への耐性率が高かった (図 10)。

D. 考察

サルモネラ属菌は様々な動物へ適応することでその多様性を獲得してきたと考えられている。各血清型のサルモネラ属菌の宿主域により、リスク食品や接触感染のリスクが規定される。ヒトへは、食品を介する感染が主であり、一部ヒトと動物の接触によるヒト感染が存在する。ヒト-ヒトの直接感染のリスクは腸チフス原因菌 (チフス菌、パラチフス菌) ほど明確ではないが、調理従事者の保菌が食品の汚染の原因となることは否定できない。

サルモネラ属菌がヒト腸管内に存在している状態 (健康保菌) についての知見には限りがある。本研究では、これらの分離株を詳細に解析することでサルモネラ属菌の耐性化機構の一つの側面を考察することを目的としている。

2013 年の健康保菌者由来サルモネラ 09 群菌 19 株の解析の結果、2017 年のデータと同様、1 つの血清型 Enteritidis が約 8 割を占めるといふ多様性の低さが示された。Enteritidis は食中毒の原因となるサルモネラ属菌の上位を占める血清型であるが、保菌者においても 09 群内で上位を占めることが明らかとなった。薬剤耐性率は比較的 low、試験したいずれかの薬剤に耐性を示した 09 株は 32% であった。Enteritidis

において NA、SM に耐性を示すそれぞれ 7、20%あった。

2013 年の健康保菌者由来サルモネラ 08 群菌 110 株の解析の結果、多様な血清型が存在することが示された。分離頻度が高いものとして Manhattan、Corvallis、Newport、Nagoya があり、4 血清型で約 7 割を占めた。これら以外に、血清型 Muenchen、Litchfield などが検出された。これらは概ね 2017 年分離株においても検出されていた。09 と異なり、多様なサルモネラによる健康保菌が存在していることがうかがわれた。

薬剤耐性の分布では、全体の 33%が何らかの薬剤に耐性を示した。血清型 Manhattan では 8 割以上が SM、TC 耐性を示した。一方、血清型 Corvallis、Newport、Nagoya においては耐性率が低く (0-15%)、薬剤耐性が特定の血清型に偏っていることが示唆された。

2017 年の健康保菌者由来サルモネラ 04 群菌 229 株の解析の結果、上記 08 同様、多様な血清型が存在することが示された。分離頻度が高いものとして Schwarzengrund、Agona、04:i:-、Typhimurium があった。血清型の分布は 2013-2017 年の間に Schwarzengrund が増加している傾向が観察された。

薬剤耐性の分布では、全体の 78%が何らかの薬剤に耐性を示し、08、09 群とは大きく異なった。多くの株が SM、TC 耐性を示し、Agona、Typhimurium では 40-50%、04:i:-、Schwarzengrund では 70-80%が耐性であった。Schwarzengrund では 70-80%の株が KM 耐性であった。04:i:-、Typhimurium では

それぞれ 70-80%、60-70%が ABPC 耐性であった。また Typhimurium では NA 耐性が 20%以上の株に見られた一方で、04:i:-では NA 耐性がほとんど検出されなかった。このように血清型によって薬剤耐性の組み合わせに違いがあることが示唆された。

E. 結論

検便検査会社の協力をえて、04 群、08 群及び 09 群サルモネラ属菌の性状解析を実施するための体制の構築を始め、本年度は計 358 株の性状解析を実施した。血清型ならびに薬剤耐性の観点から多様なサルモネラが健康保菌者から分離されていることが示された。今後の解析の参照として重要な知見であると考えられる。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

特になし。

2. 学会発表

特になし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

- | | |
|-----------|-----|
| 1. 特許取得 | なし。 |
| 2. 実用新案登録 | なし |
| 3. その他 | なし。 |

図1 サルモネラ 09 群 健康保菌者由来株の血清型分布 (2013 年)

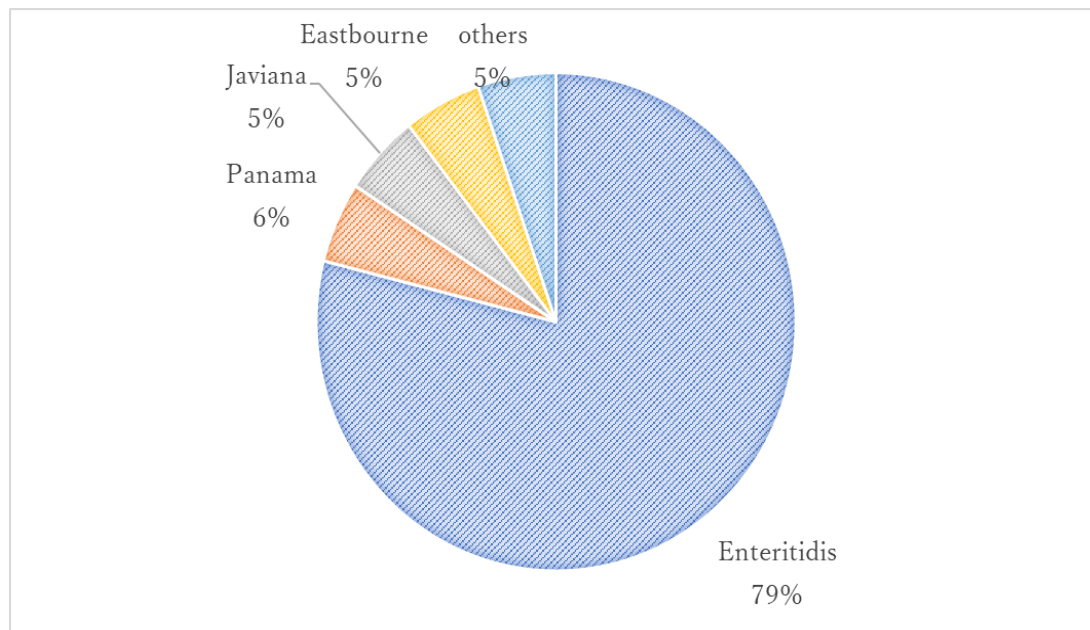


図2 サルモネラ 08 群 健康保菌者由来株の血清型分布 (2013 年)

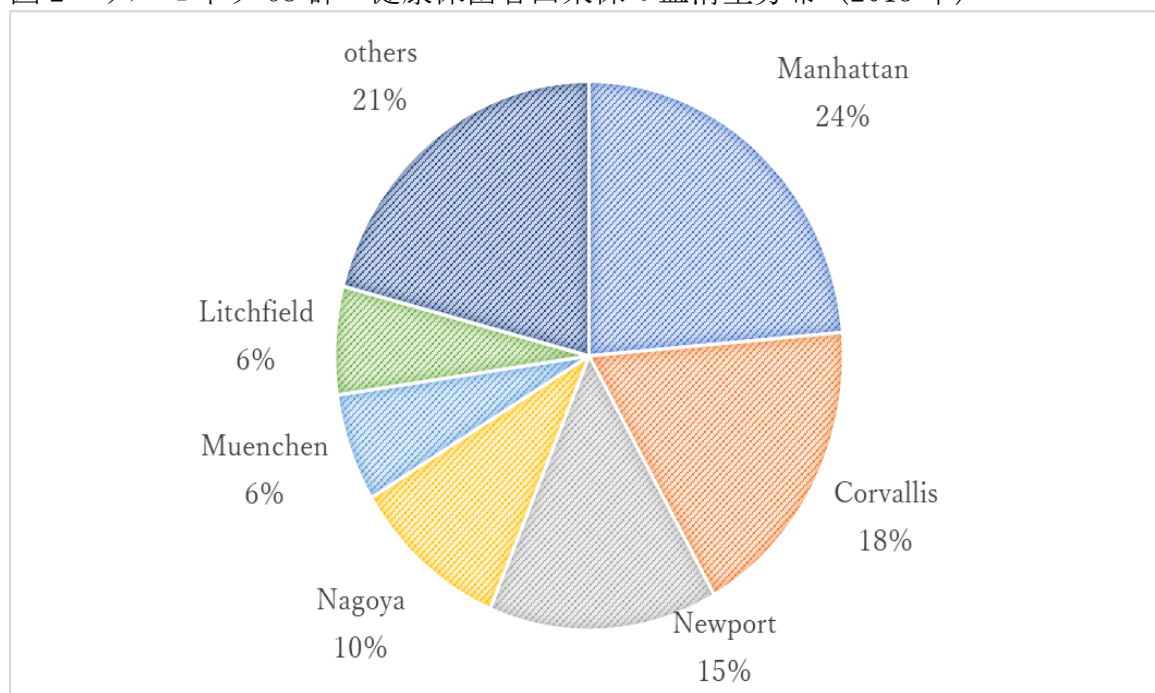


図3 サルモネラ 08 群 健康保菌者由来株の耐性率 (2013 年)

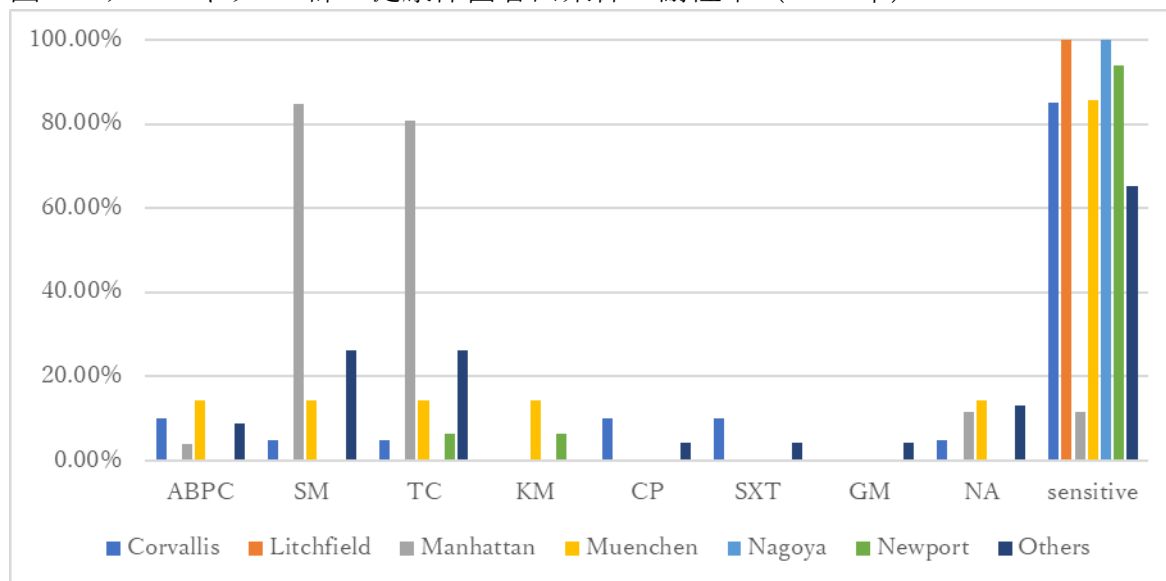


図4 サルモネラ 04 群 健康保菌者由来株の血清型分布 (2017 年)

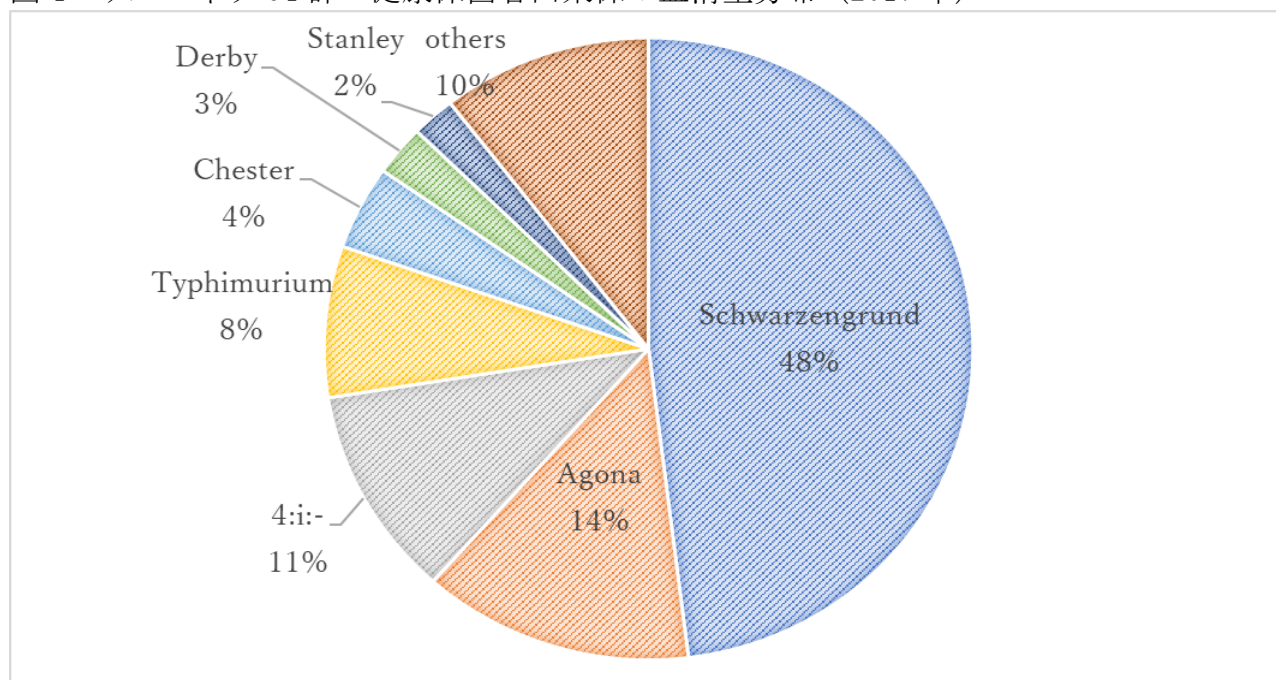


図5 サルモネラ 04 群 健康保菌者由来株の血清型分布 (2013-2017 年)

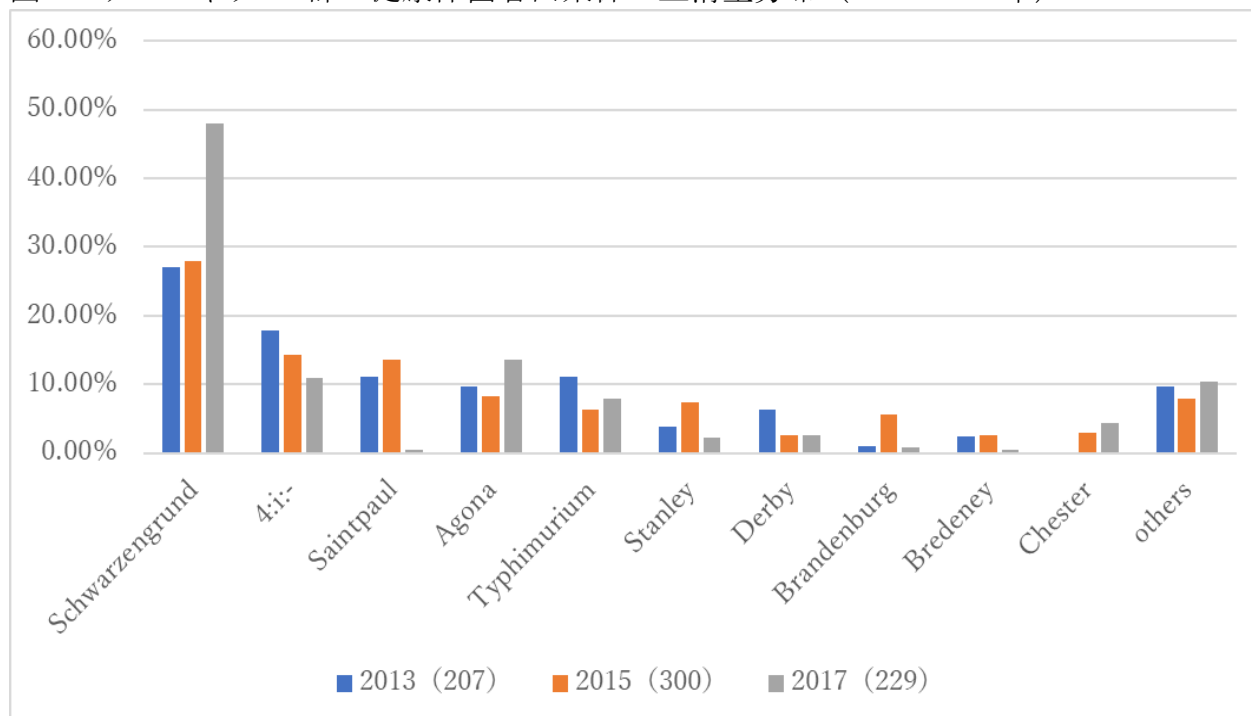


図6 サルモネラ 04 群 健康保菌者由来株の耐性率 (2017 年)

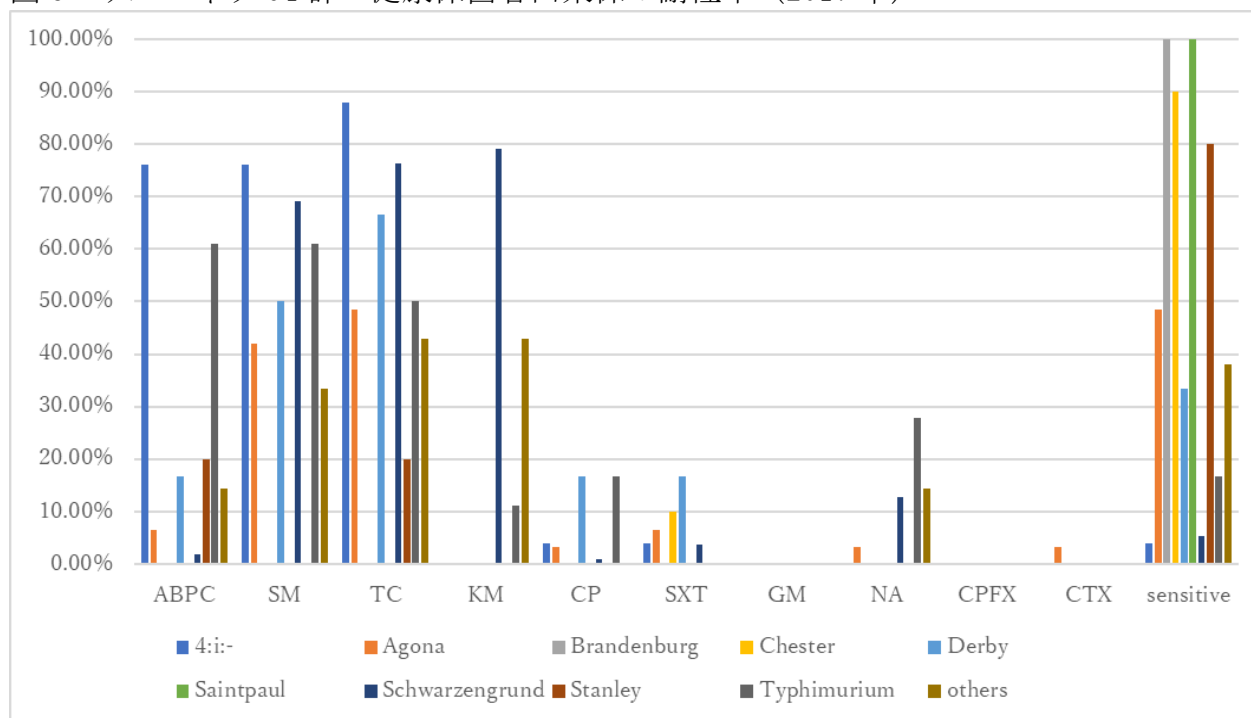


図7 サルモネラ血清型 Agona 健康保菌者由来株の耐性率 (2013-2017年)

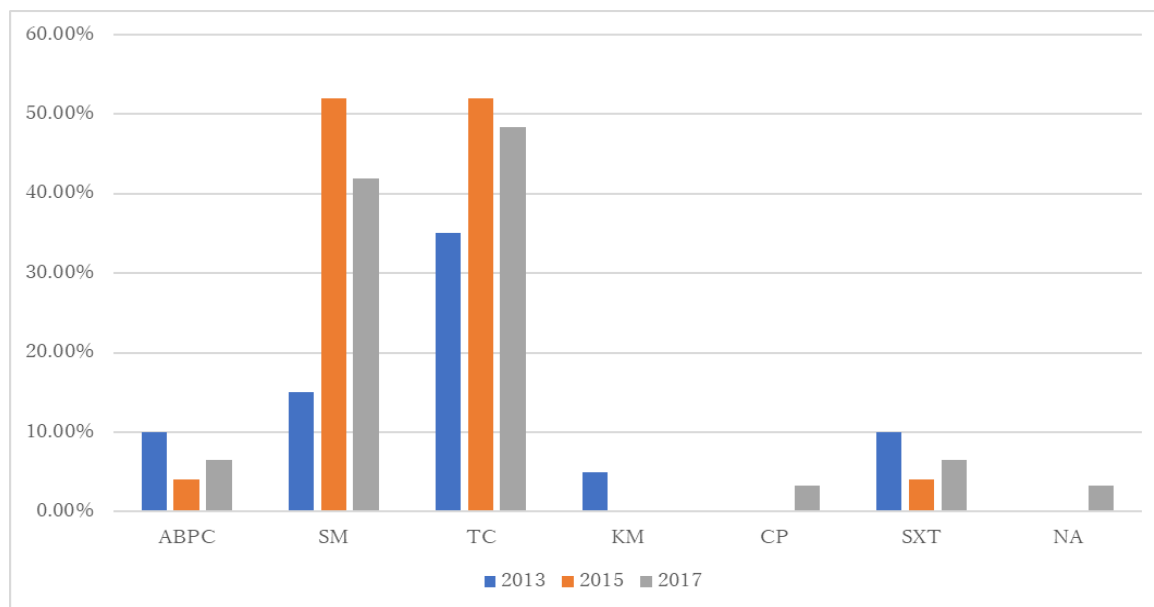


図8 サルモネラ血清型 Schwarzengrund 健康保菌者由来株の耐性率 (2013-2017年)

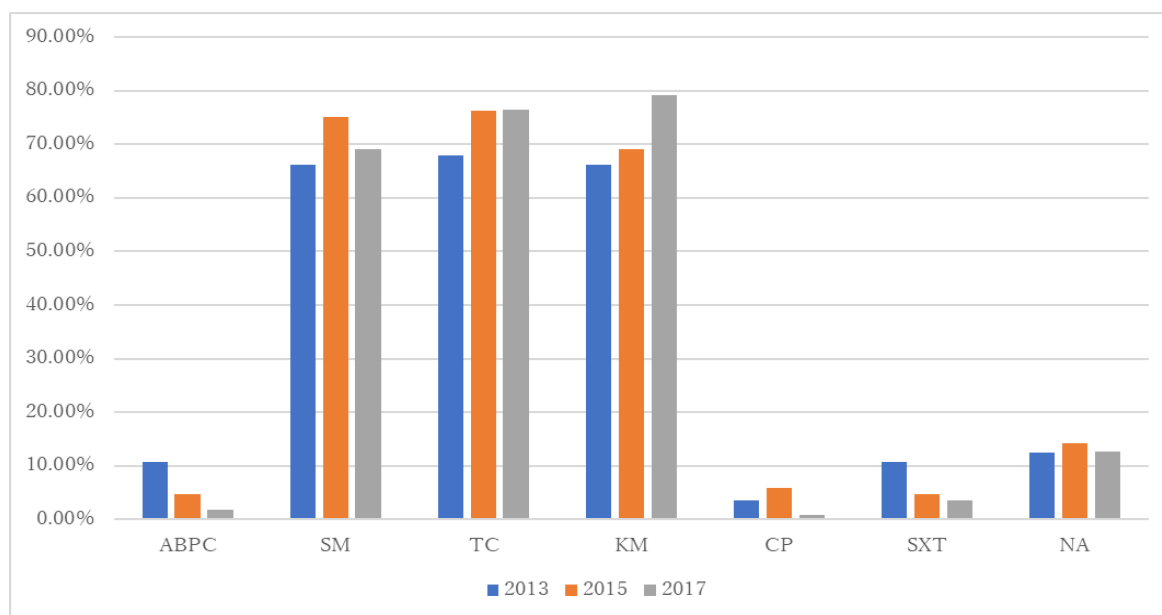


図9 サルモネラ血清型 Typhimurium 健康保菌者由来株の耐性率 (2013-2017年)

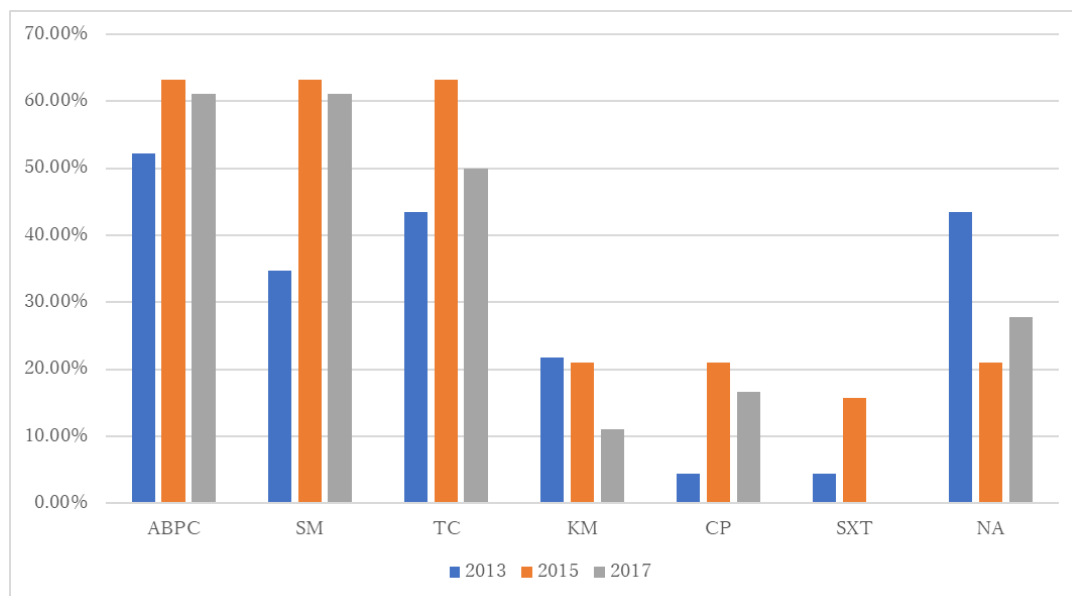
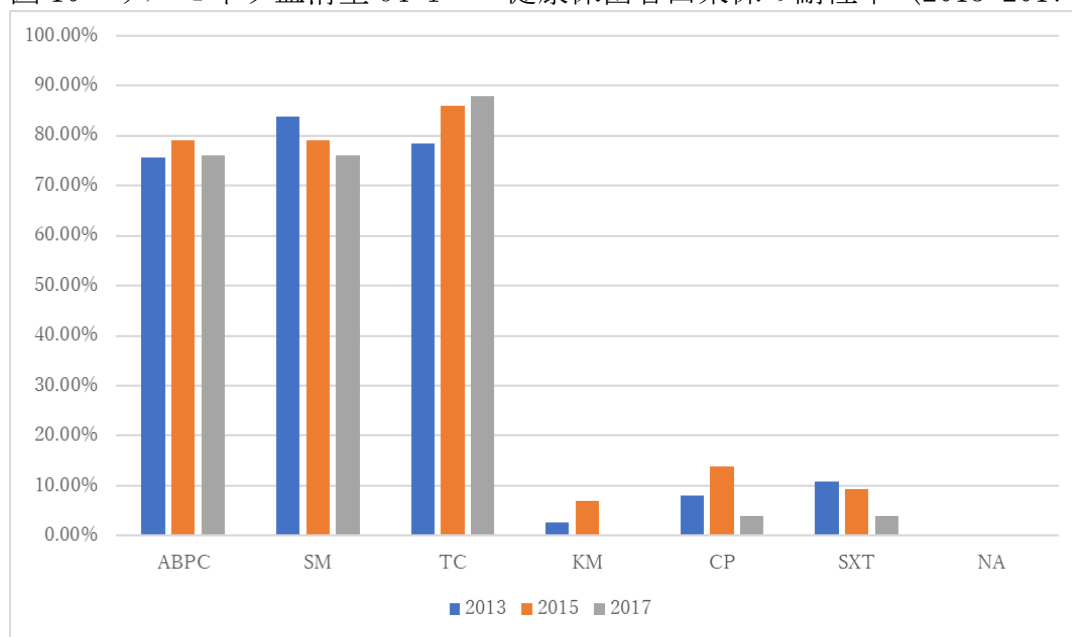


図10 サルモネラ血清型 04:i:- 健康保菌者由来株の耐性率 (2013-2017年)



令和元年度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）

「食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究」

分担研究報告書

食品由来サルモネラ、大腸菌、カンピロバクター等の耐性分布と
遺伝特性に関する研究

研究分担者	朝倉 宏	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
研究協力者	佐々木貴正	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
研究協力者	山本詩織	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
研究協力者	中山達哉	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
研究協力者	中村寛海	大阪健康安全基盤研究所微生物部微生物課
研究協力者	坂田淳子	大阪健康安全基盤研究所微生物部細菌課
研究協力者	清水秀樹	山梨県食肉衛生検査所

研究要旨： 鶏肉 100 検体及び中抜き食鳥と体 100 検体における ESBL/AmpC β ラクタマーゼ産生大腸菌及び同腸内細菌科菌群の定量的汚染実態を調査した。鶏肉計 100 検体のうち、ESBL 産生大腸菌は 29 検体、ESBL 産生腸内細菌科菌群は 21 検体より検出された。両対象菌の平均菌数は、それぞれ 2.34 logCFU/g 及び 3.06 logCFU/g であり、最大値は 2.36 logCFU/g 及び 3.23 logCFU/g であった。ムネ・モモの部位間で ESBL 産生菌の検出菌数には有意差を認めなかった。また、食鳥と体計 100 検体のうち、大腸菌は 12 検体、腸内細菌科菌群は 27 検体より検出された。ESBL 産生大腸菌および同腸内細菌科菌群の平均菌数はそれぞれ 2.61 logCFU/g 及び 2.45 logCFU/g であり、最大値は 3.26 logCFU/g 及び 3.11 logCFU/g であった。また、採卵鶏由来サルモネラ属菌及びカンピロバクター分離株を解析したところ、サルモネラでは近年肉用若鳥で高頻度に検出される *S. Schwarzengrund* は認められなかったほか、カンピロバクターでは CPFX 耐性率は低い結果となったことから、採卵鶏は肉用若鳥とは保有する薬剤耐性菌の保有状況が異なる可能性が示唆された。

次年度には鶏肉・食鳥と体由来 ESBL 産生大腸菌等の分子疫学解析を進めるほか、生体内での水平伝播に関する知見の集積を図りたい。また、生産段階ではサルモネラ属菌、カンピロバクター等の汚染実態を抗菌性薬剤の使用状況と紐づけることで、耐性菌の動向及び対策を講じる上での要因の抽出を図る予定である。

A. 研究目的

ESBL/AmpC β ラクタマーゼ産生大腸菌は鶏肉から高率に検出される状況にあるとされ、当該食品を介したヒト健康被害との

関連性も推察されている。しかしながら、当該耐性菌の汚染実態として報告される成績の多くは、定性的な汚染実態あるいは分

離株の特性に留まることが多い。一方、食品のリスク評価を行う上では定量的データに基づいた分析が国際標準となっている。

本分担研究では、こうした状況を踏まえ、国内で製造加工・流通販売される鶏肉製品のほか、その上流にあたる食鳥処理場で解体処理過程にある食鳥と体を対象として、ESBL 産生菌の定性・定量的汚染実態を調査すると共に、分離株の薬剤感受性を検討した。あわせて、採卵鶏におけるサルモネラ属菌及びカンピロバクターの汚染実態及び分離株の薬剤感受性についても検討を行ったので、報告する。

B. 研究方法

1. 鶏肉製品及び食鳥と体からの ESBL 産生菌の定量検出試験

国内で製造加工・流通販売される加熱用鶏肉製品計 100 検体（モモ及びムネ）並びに食鳥処理場にて本冷却後の中抜き食鳥と体より採材した首皮計 100 検体について、ESBL 産生菌定量試験に供した。検体 25g に緩衝ペプトン水（BPW）100mL を加えてホモジナイズ後、同懸濁液 200 μ L をクロモアガー-ESBL 寒天培地（CHROMagar）に塗抹し、37°Cにて 24 時間培養を行い、同培地上に発育した定型集落を計数することで定量菌数を求めた。

2. 鶏肉製品及び食鳥と体からの ESBL 産生大腸菌の定性検出試験と分離株の薬剤感受性試験

上項 1 の鶏肉製品及び食鳥と体検体計 200 検体について、ESBL 産生大腸菌の定性検出試験を実施した。各検体 25g にセフ

ォタキシム（CTX）1 μ g/mL 含有 BPW225mL を加えて 10 倍乳剤を調整した後、37°Cで 24 時間増菌培養を行った。培養後、増菌培養液一白金耳量をクロモアガー-ESBL 寒天培地に画線塗抹し、37°C24 時間培養を行い、ESBL 産生大腸菌の発育を確認した。その後、陽性と判定された集落については、分離を行い、CLSI 法に準じた薬剤感受性試験に供した。

3. 採卵鶏農場におけるサルモネラ及びカンピロバクター定性検出試験及び分離株の薬剤感受性試験

8 協力農場にて、若齢鶏群と高齢鶏群の計 16 鶏群を対象として各群 3 羽の総排泄腔スワブを採材し、サルモネラ及びカンピロバクター定性検出試験を実施した。得られた分離株については、上項 3.と同様に薬剤感受性試験を行った。

C. 研究結果

1. 国内鶏肉製品における ESBL 産生菌の部位別検出成績

まず、鶏肉製品 5 検体を対象として、皮及び筋肉部位それぞれを採材し、ESBL 産生菌の検出状況について比較を行った。結果として、両部位共に ESBL 産生大腸菌は認められなかったが、1 検体の皮部位からは ESBL 産生腸内細菌科菌群（*Klebsiella* spp.、*Enterobacter* spp.、*Citrobacter* spp. 等）が認められた（表 1）。また、いずれの検体においても、その他の ESBL 産生菌が皮部位から多く検出される傾向が認められ

た。以上の成績を基に、以降の試験では皮部位を対象として検討を進めることとした。

2. 食鳥と体検体における ESBL 産生菌の定量検出状況.

食鳥と体計 100 検体のうち、大腸菌は 12 検体、腸内細菌科菌群は 27 検体より検出され、同対象菌の何れかが検出された検体数は 30 検体にのぼった (図 1)。ESBL 産生大腸菌および同腸内細菌科菌群の平均値は、それぞれ 2.61 logCFU/g 及び 2.45 logCFU/g であり、最大値は 3.26 logCFU/g 及び 3.11 logCFU/g であった。検出下限 (1.40~1.70 logCFU/g) 未満となった検体数は 70 検体であった。

3. 鶏肉検体における ESBL 産生菌の定量検出状況.

鶏肉製品計 100 検体のうち、大腸菌は 29 検体、腸内細菌科菌群は 21 検体検出され、これらのいずれかが検出された検体数は 41 検体にのぼった (図 1)。ESBL 産生大腸菌及び同腸内細菌科菌群の平均値は、それぞれ 2.34 logCFU/g 及び 3.06 logCFU/g であり、最大値は 2.36 logCFU/g 及び 3.23 logCFU/g であった。検出下限 (1.40~1.70 logCFU/g) 未満となった検体数は 59 検体であった。ムネ・モモの部位別に ESBL 産生菌の検出菌数を比較したが、両部位間の成績に有意差は認められなかった (図 2)。

4. 鶏肉製品及び食鳥と体検体における ESBL 産生大腸菌の定性検出状況.

ESBL 産生大腸菌の陽性率は、鶏肉製品

検体では 69.0% (69/100) (うち、モモ 74.5% (41/55)、ムネ 62.2% (28/45))、食鳥と体検体では 47.0% (47/100) となり、全体の陽性率は 58.0% (116/200) であった (図 3)。

5. 鶏肉及び食鳥と体検体由来 ESBL 産生大腸菌株の薬剤耐性状況

ESBL 産生大腸菌分離株の薬剤耐性率は、ABPC の他、TC 耐性が 8.7%、SM 耐性が 65.3%、ST (SMX/TMP) 耐性が 58.9% の順に高値を示した (表 2、3)。CPFX 耐性株も 36.7% で認められた。鶏肉製品検体及び食鳥と体検体の間では、GM 及び CP の耐性率に有意差が認められた ($p < 0.05$)。

6. 採卵鶏におけるサルモネラ及びカンピロバクター定性検出状況及び分離株の薬剤耐性状況.

8 農場 16 鶏群の採卵鶏より計 9 株 (*C. jejuni* 8 株及び *C. coli* 1 株) のカンピロバクターを分離した。これらのうち、CPFX 耐性は *C. jejuni* 2 株のみで認められた。サルモネラについては、10 株が分離され、これらの血清型別内訳は、*S. Thompson* が 3 株のほか、*S. Infantis*、*S. Altona*、*S. Corvallis*、*S. Albany*、*S. Haifa*、*S. Cerro* 等が各 1 株であった (表 4)。

D. 考察

国内で製造加工される過程にある食鳥と体検体からは、ESBL 産生大腸菌が高率で分離された。本研究では定性データのみな

らず定量データの創出をはかった。

概して食品の微生物リスク評価にあたっては、定量的なデータに基づく解析が国際標準となっている。その意味において、本年度得られた ESBL 産生菌に関する定量データは、こうしたリスク評価等にあたっての基礎資料としての活用が期待される。

一方、鶏肉喫食に伴うヒト生体内での耐性因子の水平伝播効率については依然として把握されておらず、当該耐性菌のリスク分析を行う上では、関連する知見の集積が必要と思われる。

食中毒菌を対象とした薬剤耐性状況を図る上では、対象菌の汚染実態をあわせて捉えることも必要不可欠である。既報として、肉用若鳥の鶏肉及び内臓肉等からは、サルモネラ属菌及びカンピロバクターが高率に検出されているが、本研究で実施した採卵鶏を対象とした両食中毒菌分離株の薬剤感受性試験結果は、肉用若鳥で認められる高い薬剤耐性率に比べ、相対的に低い傾向にあると考えられる。採卵鶏は肉用若鳥に比べ、長期的な飼育がおこなわれていることから、こうした飼育期間の差異が当該菌の薬剤耐性率と関連する可能性も示唆された。

カンピロバクターのうち、肉用若鳥由来株については、高い CPFY 耐性率を示す傾向が近年続いているとされるが、*C. jejuni* による CPFY 耐性獲得は *gyrAB* 遺伝子の点変異による割合が極めて高い。同剤耐性獲得が既に一定程度侵淫している現状からの大きな耐性率低減は、生産段階での同薬剤使用中止のみによっては期待し難いと思われる。一方、近年穏やかな上昇傾向を示す

同菌のテトラサイクリン耐性については、ESBL 産生菌と同様に、プラスミド性の水平伝播により獲得される割合が高いとされ、生産農場等での使用制限等による効果は相対的に期待度が大きいとも目される。生産段階等における薬剤の使用制限設定や家畜・家禽のモニタリングを実施する際には、対象菌のこれまでの耐性率等の疫学実態のみに執着することなく、薬剤耐性獲得機序を十分に考慮することがより合理的と考えられる。

以上を踏まえ、次年度は、複数の肉用若鳥生産農場における抗菌剤使用実態に関する情報を紐づけた形で各農場での侵淫状況を調査する予定である。これにより、生産段階での耐性菌汚染実態を見極め、更なる対策を講じるための知見を得ることが期待される。また、市販鶏肉・食鳥と体由来サルモネラ及びカンピロバクター菌株の薬剤耐性状況についても次年度に取り纏め、報告を行う予定である。

E. 結論

国内の市販鶏肉製品及び食鳥と検体からは高率かつ一定菌数の ESBL 産生菌が検出される状況を把握することができた。フードチェーンを通じた汚染低減及び増殖抑制に係る対策の重要性を改めて示すことができたともいえる。採卵鶏は、肉用若鳥に比べ、相対的に低いサルモネラ・カンピロバクター汚染率を示した。採卵鶏由来サルモネラの血清型別は肉用若鳥とは異なる傾向も示唆された。今後、ESBL 産生菌につ

いては分離株の遺伝的解析を進めると共に、生体内伝達性に関する知見の集積を図ることにより広範なフードチェーンを通じた耐性菌の食品媒介性に関する科学的知見の集積につとめたい。

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yamamoto S, Nakayama T, Asakura H. Draft genome sequence of *Stenotrophomonas maltophilia* CRB139-1 isolated from poultry meat in Japan. Microbiol. Res. Announc, In Press.
- 2) 佐々木貴正、米満研三、上間匡、五十君静信、朝倉宏. (2019) 採卵養鶏場のサルモネラ汚染実態と有効なサルモネラ汚染低減対策の推定. 鶏病研究会報. 55: 159-163.

2. 学会発表

- 1) 山本詩織、朝倉宏：鶏肉におけるカルバペネム耐性菌汚染実態及び *Stenotrophomonas maltophilia* 分離株のゲノム特性、日本微生物生態学会第33回大会、2019年9月、山梨.
- 2) 山本詩織、川村研二、朝倉宏：外来患者由来 ESBL 産生大腸菌の分子遺伝学的特性について、第92回日本細菌学会総会、2019年4月、北海道.

表 1. 皮・筋肉部位別の ESBL 産生菌定量成績

番号	採取部位	ESBL産生菌 (log CFU/g)		
		大腸菌	腸内細菌科菌群	その他
1	皮	<1.4	2.65	>4.10
	筋肉	<1.4	<1.4	>4.10
2	皮	<1.4	<1.4	>4.10
	筋肉	<1.4	<1.4	>4.10
3	皮	<1.4	<1.4	>4.10
	筋肉	<1.4	<1.4	4.01
4	皮	<1.4	<1.4	3.95
	筋肉	<1.4	<1.4	3.79
5	皮	<1.4	1.4	3.77
	筋肉	<1.4	<1.4	3.15

(A) ESBL 産生腸内細菌科菌群

(B) ESBL 産生大腸菌

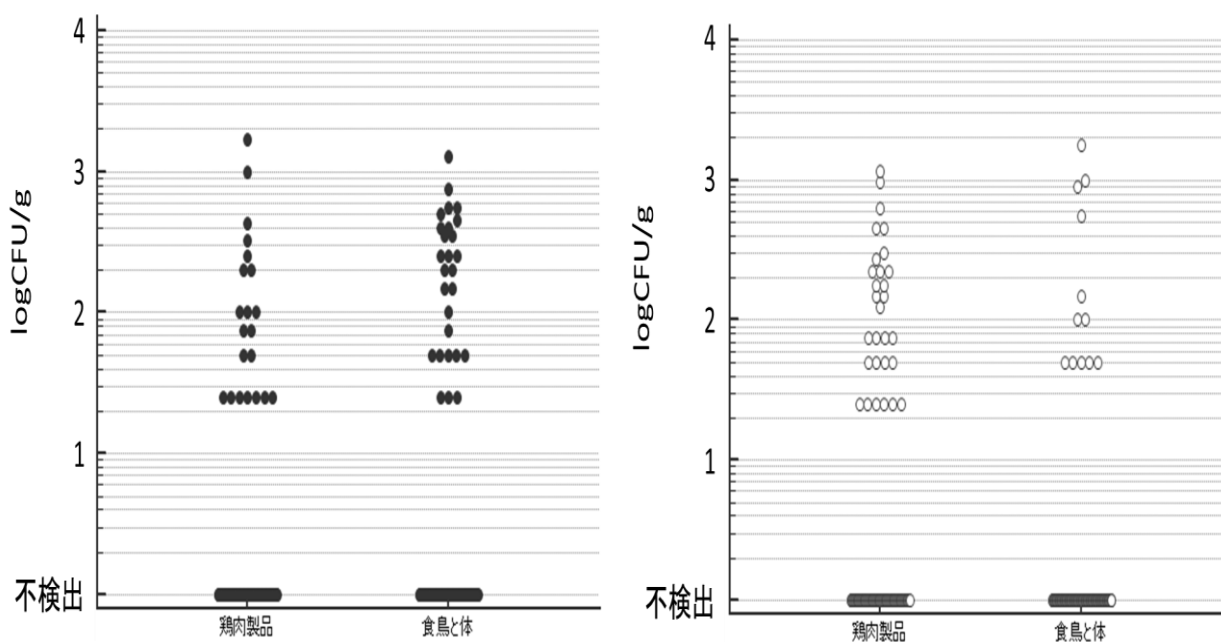


図 1. 鶏肉製品及び食鳥と体検体における ESBL 産生菌の定量検出成績.

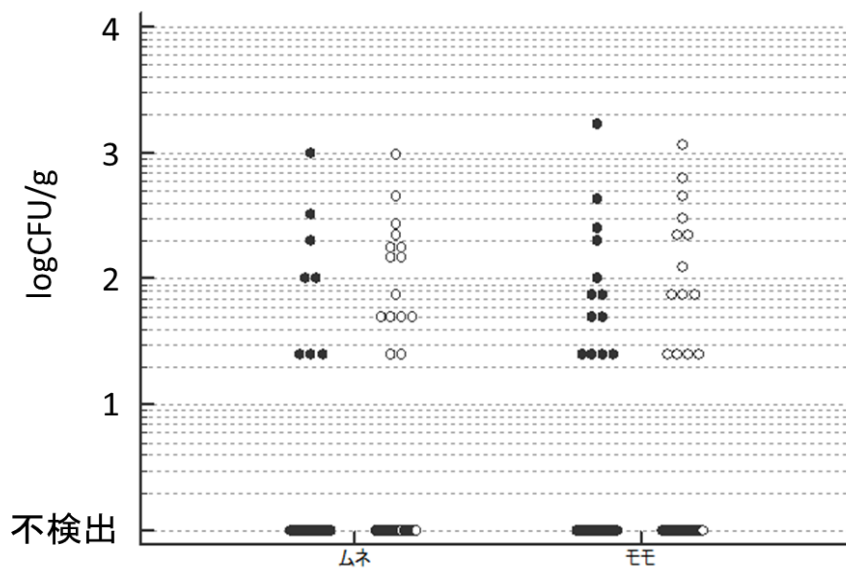


図 2. 鶏肉製品における ESBL 産生菌の部位別検出状況.

ESBL 産生腸内細菌科菌群を●、ESBL 産生大腸菌を○でそれぞれ示す。

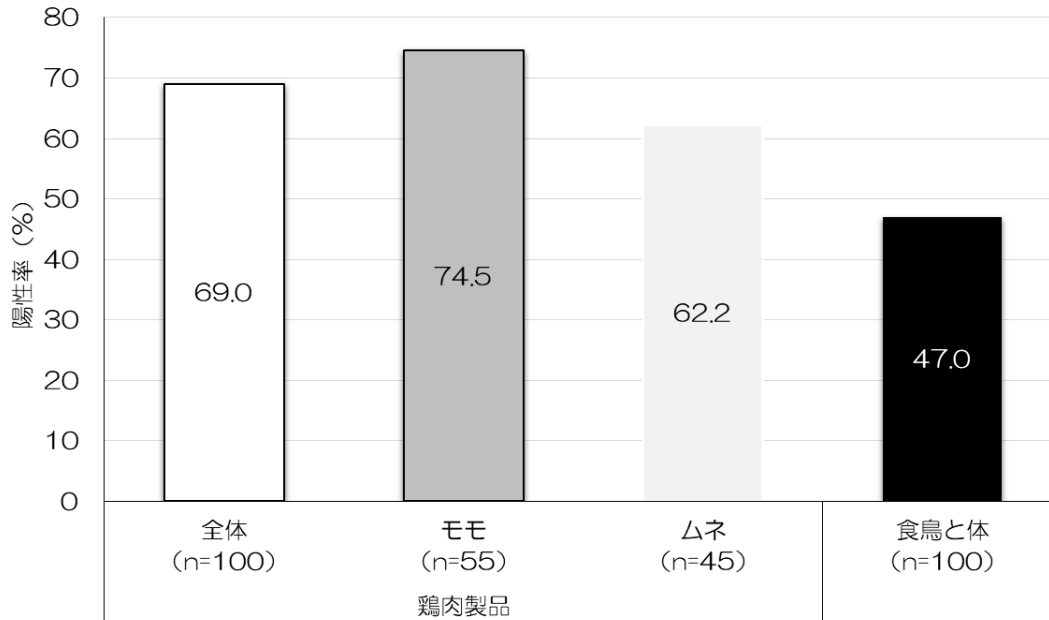


図 3. ESBL 産生大腸菌の陽性率

表 2. ESBL 産生大腸菌分離株の薬剤耐性状況.

検体	株数	ABPC		CEZ		CTX		SM		GM		KM		ST		CL		CP		TC		NA		CPFX	
		陽性数	(%)	陽性数	(%)	陽性数	(%)	陽性数	(%)	陽性数	(%)	陽性数	(%)	陽性数	(%)	陽性数	(%)	陽性数	(%)	陽性数	(%)	陽性数	(%)	陽性数	(%)
鶏肉製品	64	64	100.0	64	100.0	64	100.0	39	60.9	25	39.1	22	34.4	39	60.9	0	0.0	13	20.3	53	82.8	30	46.9	20	31.3
食鳥と体	57	57	100.0	57	100.0	57	100.0	40	70.2	1	1.8	15	26.3	32	56.1	2	3.5	29	50.9	55	96.5	29	50.9	28	49.1
計	121	121	100.0	121	100.0	121	100.0	79	65.3	26	21.5	37	30.6	71	58.7	2	1.7	42	34.7	108	89.3	59	48.8	48	39.7

表 3. 多剤耐性を示す ESBL 産生大腸菌分離株の薬剤耐性プロファイル

耐性薬剤数	株数	薬剤耐性パターン	株数	鶏肉製品	食鳥と体
11	2	ABPC-CEZ-CTX-SM-GM-KM-ST/TMP-CP-TC-NA-CPFX	2	1	1
10	1	ABPC-CEZ-CTX-SM-KM-ST/TMP-CP-TC-NA-CPFX	1	0	1
9	42	ABPC-CEZ-CTX-SM-GM-ST/TMP-TC-NA-CPFX	18	18	0
		ABPC-CEZ-CTX-SM-ST/TMP-CP-TC-NA-CPFX	13	0	13
		ABPC-CEZ-CTX-SM-KM-CP-TC-NA-CPFX	6	0	6
		ABPC-CEZ-CTX-SM-GM-KM-ST/TMP-TC-NA	3	3	0
		ABPC-CEZ-CTX-SM-KM-ST/TMP-CP-TC-NA	1	1	0
		ABPC-CEZ-CTX-SM-GM-KM-ST/TMP-CP-TC	1	1	0
8	22	ABPC-CEZ-CTX-SM-KM-ST/TMP-CP-TC	13	6	7
		ABPC-CEZ-CTX-SM-ST/TMP-TC-NA-CPFX	7	0	7
		ABPC-CEZ-CTX-SM-GM-ST/TMP-NA-CPFX	1	1	0
		ABPC-CEZ-CTX-SM-KM-ST/TMP-TC-NA	1	1	0
		ABPC-CEZ-CTX-SM-GM-ST/TMP-TC-NA	1	0	0
		ABPC-CEZ-CTX-SM-ST/TMP-CP-TC-NA	1	0	1
7	5	ABPC-CEZ-CTX-SM-ST/TMP-CL-TC	1	0	1
		ABPC-CEZ-CTX-KM-ST/TMP-CP-TC	1	0	1
		ABPC-CEZ-CTX-SM-KM-ST/TMP-TC	3	3	0
6	7	ABPC-CEZ-CTX-SM-ST/TMP-TC	2	0	2
		ABPC-CEZ-CTX-KM-CP-NA	1	1	0
		ABPC-CEZ-CTX-ST/TMP-CP-TC	1	1	0
		ABPC-CEZ-CTX-KM-ST/TMP-TC	1	0	0
		ABPC-CEZ-CTX-SM-CP-TC	1	0	1
		ABPC-CEZ-CTX-SM-KM-TC	1	0	1
5	7	ABPC-CEZ-CTX-KM-NA	3	3	0
		ABPC-CEZ-CTX-SM-TC	2	1	1
		ABPC-CEZ-CTX-GM-TC	1	0	1
		ABPC-CEZ-CTX-CL-TC	1	0	1
		ABPC-CEZ-CTX-CP-TC	1	0	0
		ABPC-CEZ-CTX-SM-ST/TMP	1	1	0
4	27	ABPC-CEZ-CTX-TC	27	12	15
		ABPC-CEZ-CTX-SM	1	0	0
		ABPC-CEZ-CTX-NA	1	1	0
3	6	ABPC-CEZ-CTX	6	4	2

表 4. 採卵鶏由来サルモネラ分離株の血清型及び薬剤耐性プロファイル.

血清型	株数	薬剤耐性
O7 群		
<i>S. Thompson</i>	3	-
<i>S. Infantis</i>	1	-
O8 群		
<i>S. Altona</i>	1	TP
<i>S. Corvallis</i>	1	-
<i>S. Albany</i>	1	SM
O4 群		
<i>S. Haifa</i>	1	SM
O13 群		
<i>S. 13;23:y;-</i>	1	SM
O18 群		
<i>S. Cerro</i>	1	-

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sporin 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sporin 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）

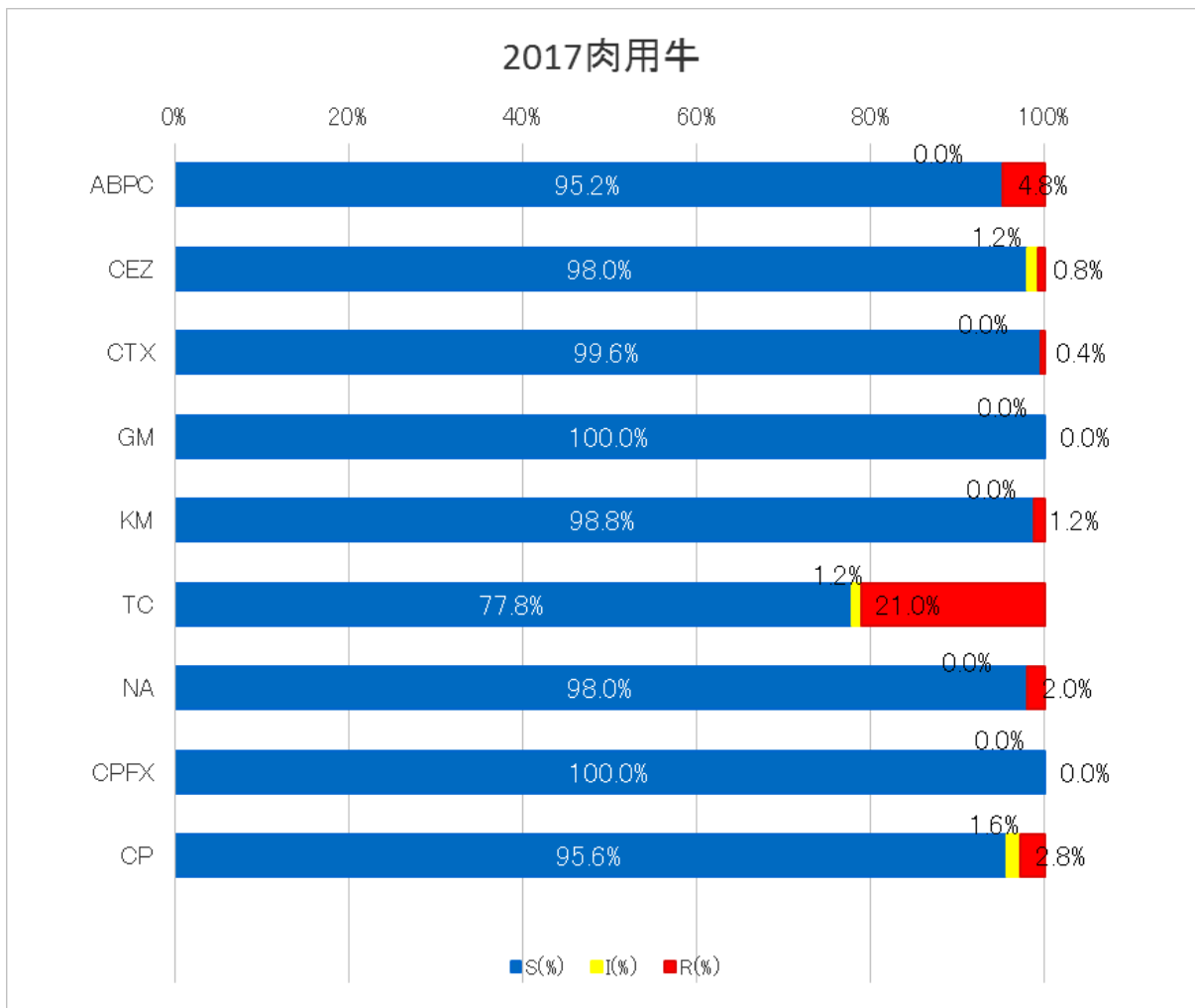


図2 2017年 と畜場由来株

大腸菌 畜種 (豚 N=83)

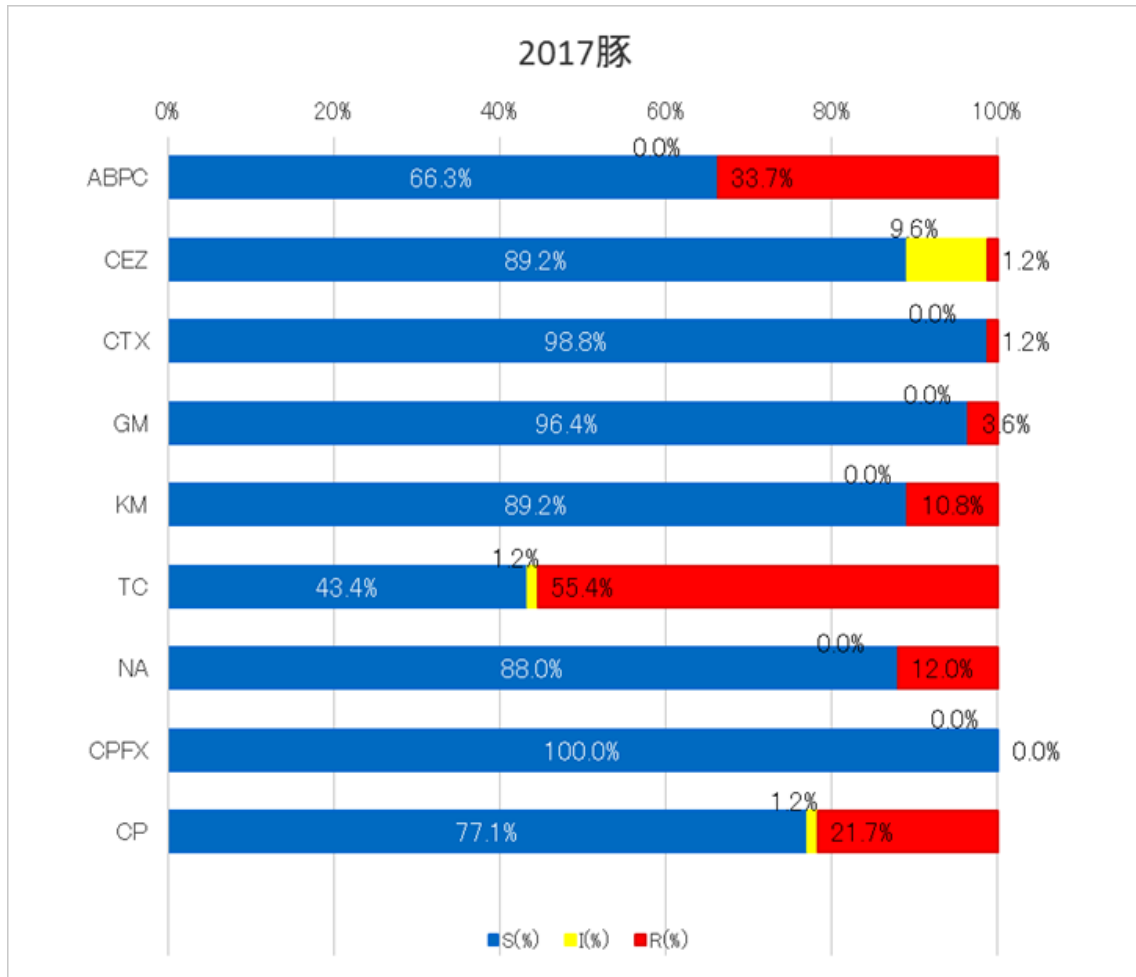


図3 2017年 食鳥処理場由来株

Salmonella spp. 畜種（肉用鶏 N=112）

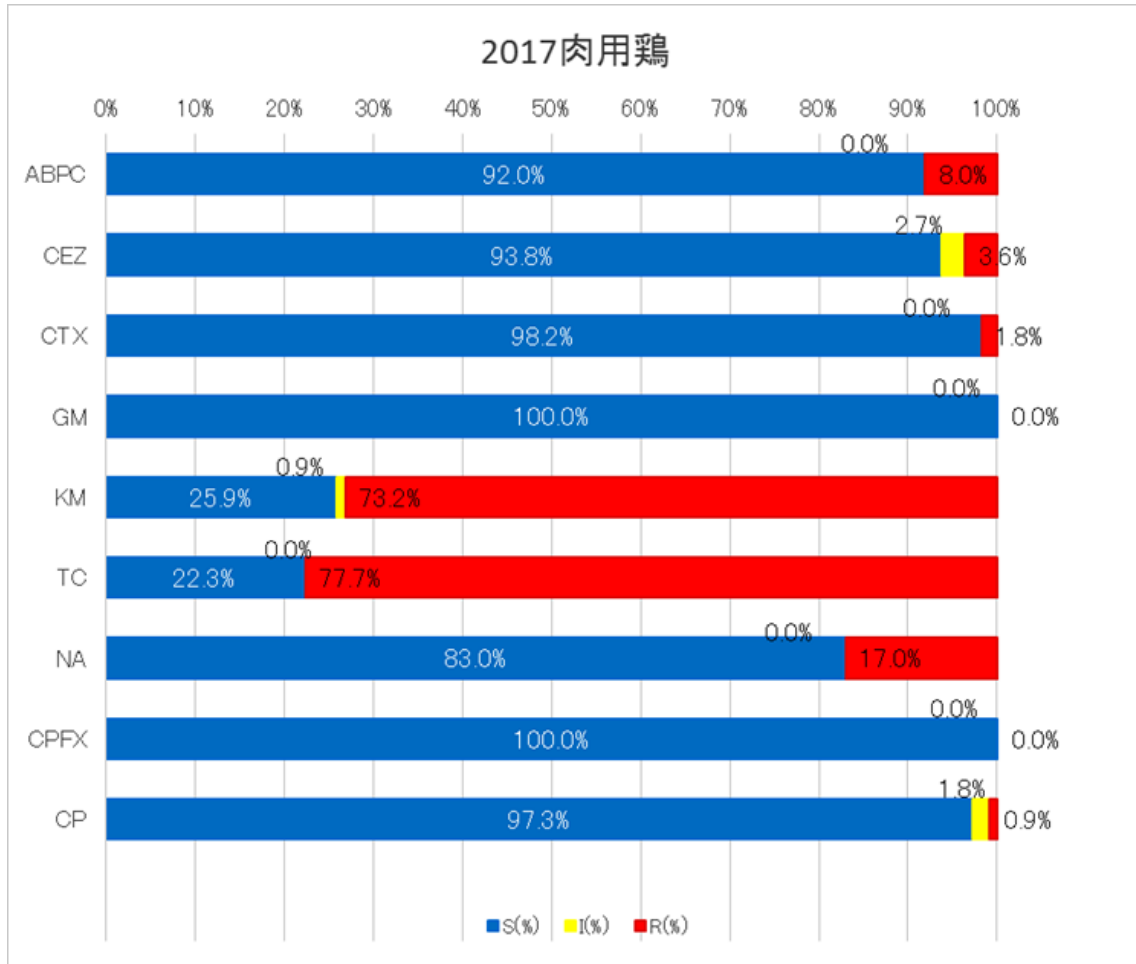


図4 食鳥処理場由来 *Salmonella enterica* の上位5 血清型の食品及びヒト由来における割合 (2015-2017)

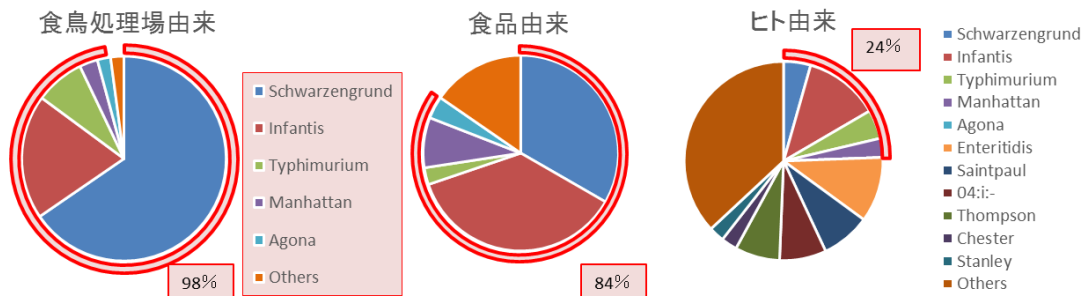


図5 ヒト、食品及び食鳥処理場由来 *S. Infantis* 及び *S. Schwarzengrund* の耐性率 (2015-2017)

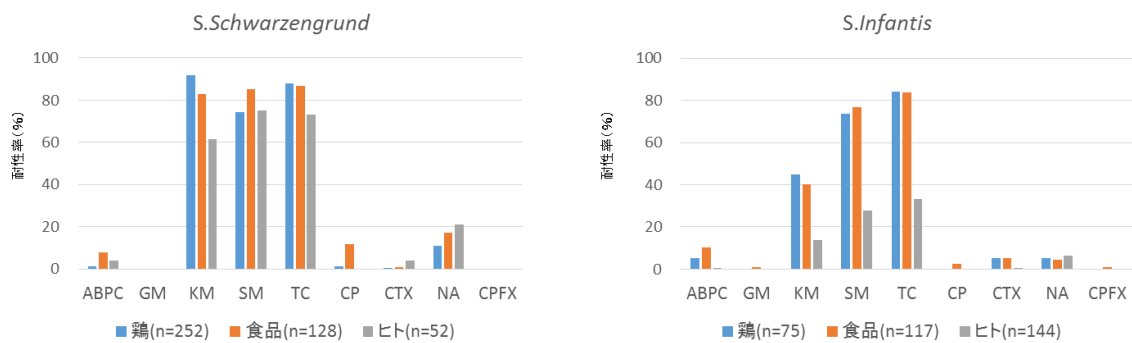
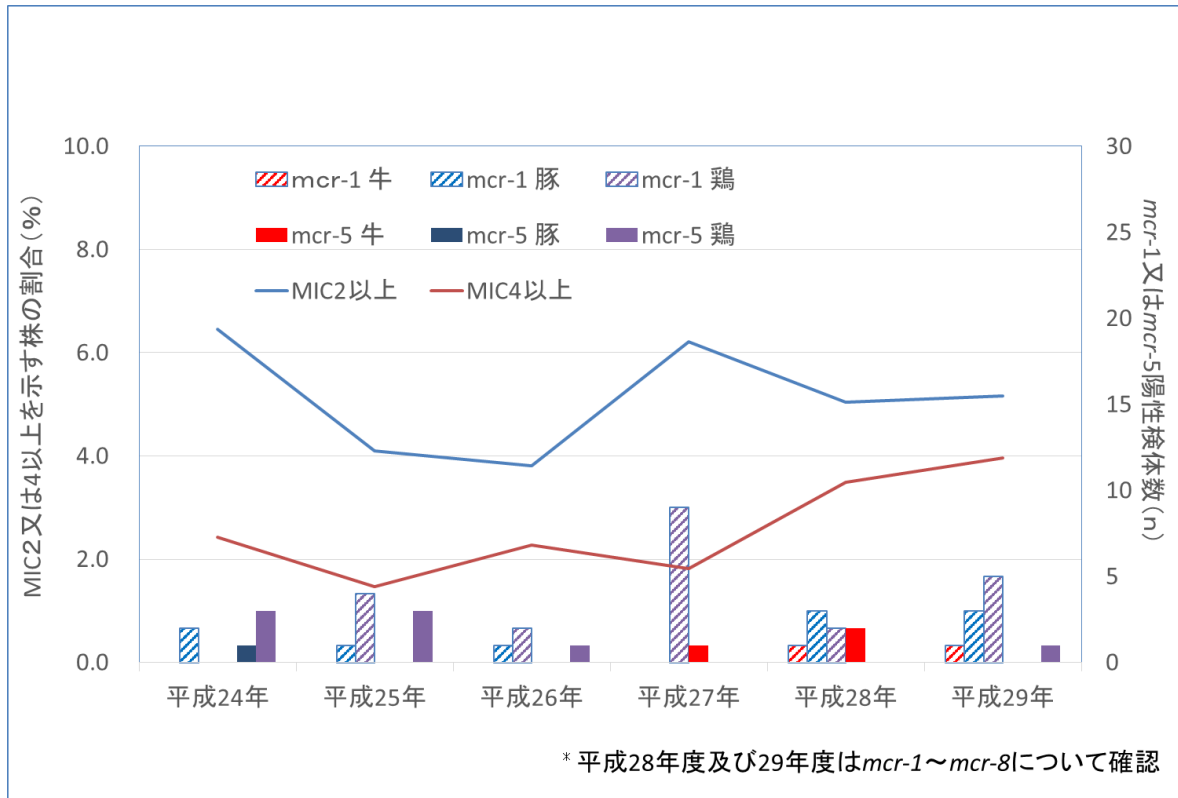


図6 と畜場及び食鳥処理場由来大腸菌コリスチン耐性遺伝子の検出



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）
令和元年度 分担研究報告書

食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究

分担課題 食品及びヒト由来カンピロバクター、大腸菌の
薬剤耐性菌出現状況の把握

研究分担者	小西 典子	東京都健康安全研究センター	微生物部
研究協力者	前田 雅子	東京都健康安全研究センター	微生物部
	小野明日香	東京都健康安全研究センター	微生物部
	赤瀬 悟	東京都健康安全研究センター	微生物部
	尾畑 浩魅	東京都健康安全研究センター	微生物部
	鈴木 淳	東京都健康安全研究センター	微生物部
	甲斐 明美	国立感染症研究所	細菌第一部（客員研究員）

研究要旨

2018年に散発患者から分離された *Campylobacter jejuni* および *C. coli* のフルオロキノロン耐性率は、それぞれ 51.8% および 37.5% であった。*C. jejuni* は例年とほぼ同様の耐性率であり、*C. coli* は 2017 年と比較して減少していた。また、治療の第一選択薬である EM に対しては、*C. jejuni* は例年同様の低い耐性率であったが、*C. coli* では 62.5% と過去 7 年間で最も高くなった。

2019年に健康者糞便から分離された大腸菌 311 株を対象に 19 薬剤を用いた薬剤感受性試験を行った結果、いずれか 1 薬剤以上に耐性を示した株は 39.2% であった。2015 年以降のフルオロキノロン系薬剤に対する耐性率は 10% 程度、CTX 耐性率は 5% 程度で推移していることが明らかとなった。IPM、MEPM 耐性株は認められなかった。プラスミド性コリスチン耐性遺伝子保有株 2 株（いずれも *mcr-1* 陽性）が確認された。

国産鶏肉および輸入鶏肉から分離された大腸菌の薬剤耐性パターンを比較すると、明らかに異なる傾向であった。中でも KM 耐性率は、輸入由来株では 7.9% と低い耐性率であるのに対し、国産由来株では 37.0% であった。このほか、ST、CP で国産由来株の耐性率は輸入由来株の 2 倍以上の高い値であった。CTX 耐性率は国産由来株が 10.4%（2012 年）から 2.1% に、輸入由来株も 5.3% にいずれも顕著に減少していた。

2019年にヒトから分離されたサルモネラは 143 株で 39 血清型に、食品由来株は 143 株で 19 血清型に分類された。分離された血清型を比較すると、04 群 Schwarzengrund、07 群 Infantis および 04 群 Agona がヒトおよび食品由来共に多く分離されていた。ヒト由来株のうち 1 薬剤以上に耐性を示した株は 39.2%、食品由来株は 88.4% で、食品由来株の方が耐性率は 2 倍以上高かった。CTX 耐性株はヒト由来株で 3 株、食品由来株で 1 株検出された。2015 年以降、分離数は増加傾向であったが、2019 年は大幅に減少した。

A. 研究目的

2019 年 12 月、日本では MRSA 菌血症とフルオロキノロン耐性大腸菌による菌血症で年間 8000 名が死亡しているという報告が、国立国際医療研究センター・AMR 臨床リファレンスセンターから報告された。ヒトの健康に危害を与える可能性がある薬剤耐性菌の出現は、国際的に非常に重要な問題となっている。これら薬剤耐

性菌は医療現場のみならず、動物、畜産、水産および環境等、全ての生態系で発生し拡散していると推定される。万一、薬剤耐性を獲得した下痢症起因菌等の病原菌が発生し拡散すれば、治療に大きな影響を与え、人の生命を脅かす脅威となりうる。今後、新しい薬剤耐性菌の発生を防ぎ、拡散を防止していくためには一つの分野だけではなく、我々を取り巻く全ての環境、

生態系に係る分野が一丸となって取り組んでいかななくてはならない。2016年4月に策定された薬剤耐性菌をコントロールするための「薬剤耐性（AMR）対策アクションプラン」では、抗菌薬の適正使用と薬剤耐性菌の動向調査・監視の強化を行うことが示された。薬剤耐性菌の蔓延を防止するためには、その基礎資料となる薬剤耐性菌の変化、出現状況や拡大を継続的に監視していくことが重要である。

今年度も食中毒起因菌として重要なカンピロバクター、大腸菌およびサルモネラを対象に薬剤耐性菌出現状況を把握することを目的としてモニタリング調査を中心に研究を行った。

B. 研究方法

1. ヒト由来カンピロバクターの薬剤耐性菌出現状況

1) ディスク拡散法による薬剤感受性試験

2018年に都内の病院で分離された *C. jejuni* 110株および *C. coli* 8株を対象に薬剤感受性試験を行った。供試薬剤は、エリスロマイシン（EM）、テトラサイクリン（TC）、シプロフロキサシン（CPFX）、ナリジクス酸（NA）、アンピシリン（ABPC）、セファロチン（CET）の6薬剤で、方法は、昨年度の本研究班で検討した統一プロトコルに従って実施した（表1）。

2) 微量液体希釈法によるMIC値の測定

2017年および2018年に都内病院で分離された散発患者由来の *C. jejuni* 233株および *C. coli* 17株を供試した。供試薬剤はNA、CPFX、LVFX、EM、ABPCの5薬剤で、市販のドライプレート（栄研化学）を用いてMICを測定した。

供試菌はBHIブイヨンに接種し微好気条件で37℃、24～48時間振とう培養後、培養液をミューラーヒントンブイヨンでMcFarland 0.5となるように希釈し、菌液の調整を行った。希釈した菌液をドライプレートの各wellに100μLずつ接種後、微好気条件で37℃、24～48時間培養後、判定を行った。

2. 健康者糞便由来大腸菌の薬剤耐性菌出現状況

1) 供試菌株

2019年に食中毒関連調査のために搬入された飲食店従事者（下痢等の症状が無い者）の糞便311人から分離された大腸菌311株を供試した。これらの菌株を対象に19薬剤を用いた薬剤感受性試験を実施した。

2) 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験に用いる薬剤はアンピシリン（ABPC）、セフトキシム（CTX）、セフトキシチン（CFX）、セフトジジム（CAZ）、ゲンタマイシン（GM）、カナマイシン（KM）、ストレプトマイシン（SM）、テトラサイクリン（TC）、ST合剤、クロラムフェニコール（CP）、ホスホマイシン（FOM）、ナリジクス酸（NA）、シプロフロキサシン（CPFX）、ノルフロキサシン（NFLX）、オフロキサシン（OFLX）、アミカシン（AMK）、イミペネム（IPM）、メロペネム（MEPM）、コリスチン（CL）の19薬剤で、センシディスク（BD）を用いたKBディスク法で調べた。また、CTX、CFX、CAZ耐性株についてはAmpC/ESBL鑑別ディスク（関東化学）を用いてAmpCまたはESBL産生菌の鑑別を行った。

3) コリスチン耐性大腸菌の検出

プラスミド性コリスチン耐性遺伝子（*mcr-1*～*mcr-5*）の検出はPCR法で実施した。

3. 市販流通食肉から分離された大腸菌の薬剤耐性菌出現状況

1) 供試検体

2019年1月～12月に食中毒関連調査のために搬入された国産鶏肉145検体と2019年5～12月に都内スーパーマーケットで購入した輸入鶏肉30検体（ブラジル産：20検体、タイ産：10検体）を用いた。

2) 大腸菌分離方法

食肉に緩衝ペプトン水（BPW）を加え37℃、18～22時間培養後、XM-G寒天培地（日水製薬）に塗抹分離した。分離平板に発育した大腸菌様集落（1検体当たり2集落）についてTSI寒天、LIM培地で生化学的性状を確認し、典型的な生化学的性状を示すものを大腸菌と判定した。

3) 薬剤感受性試験

国産鶏肉145検体から分離した238株および輸入鶏肉30検体から分離した38株を対象に薬剤感受性試験を実施した。薬剤は健康者由来大腸菌を対象とした薬剤感受性試験と同様の19薬剤を供試した。

4. 2019年にヒトおよび食品から分離されたサルモネラの薬剤耐性菌出現状況

1) 供試菌株

2019年にヒト（下痢症患者および無症状病原体保有者）から分離された143株および食品から分離された143株を供試した。集団事例由来

株は代表株 1 株を計上した。更に外国産鶏肉から分離した 6 株を用いた。

2) 薬剤感受性試験

供試薬剤は大腸菌と同様の 19 薬剤である。

CTX 耐性株については AmpC/ESBL 鑑別ディスク (関東化学) を用いて AmpC または ESBL 産生菌の鑑別を行った。さらに ESBL 産生菌を疑う株については、市販プライマー (ESBL 遺伝子型別キット, 関東化学) を用いて型別試験を実施した。

6. 倫理面への配慮

全てのヒト由来株および調査情報は、個人を特定できる情報を含まない状況で収集し、本研究に用いた。なお、本研究は東京都健康安全研究センター倫理審査委員会の承認を受けている。

C. 研究結果

1. ヒト由来カンピロバクターの薬剤耐性菌出現状況

1) ディスク拡散法による薬剤感受性試験

2018 年に分離された散発患者由来 *C. jejuni* 110 株のうちフルオロキノロンに耐性を示したのは 57 株 (51.8%), NA 耐性は 58 株 (52.7%) であった。2017 年分離株と比較すると耐性率は少し増加していたが、過去 8 年間と比較するとほぼ横ばいであった (図 1)。一方、*C. coli* 8 株のフルオロキノロン耐性は 3 株 (37.5%), NA 耐性は 4 株 (50%) であった (図 2)。EM 耐性株は *C. jejuni* で 2 株 (1.8%) であり、例年と同様に耐性率は低かった。一方、*C. coli* の EM 耐性株は 5 株 (62.5%) で、過去 7 年間の中では最も耐性率が高かった。EM 耐性率は *C. jejuni* よりも *C. coli* の方がはるかに高い傾向で継続している。

ABPC 耐性率は *C. jejuni* で 10.9%, *C. coli* は全て感受性であった。TC 耐性率は *C. jejuni* で 16.4%, *C. coli* で 37.5% であった。

2) 微量液体希釈法による MIC 値の測定

NA に対する MIC が $\geq 128 \mu\text{g/mL}$ 以上であったのは、*C. jejuni* では 130 株 (55.8%), *C. coli* では 9 株 (52.9%) といずれも半数以上を占めていた。CLSI に判定基準が記載されている薬剤は CPFX と EM であり、それぞれ $\geq 4 \mu\text{g/mL}$ (CPFX), $\geq 32 \mu\text{g/mL}$ (EM) が耐性である。CPFX 耐性率は *C. jejuni* では 57.5%, *C. coli* では 47.1%, EM 耐性率はそれぞれ 2.3% および 5.9% であっ

た (図 3, 4)。

2. 健康者糞便由来大腸菌の薬剤耐性菌出現状況

2019 年に健康者の糞便から分離された 311 株を対象に 19 薬剤を用いた薬剤感受性試験を行ったところ、いずれか 1 薬剤以上に耐性を示した株は 122 株 (39.2%) であった。薬剤別に耐性率をみると、最も耐性率が高かったのは ABPC で 19.6%, 次いで NA 18.6%, TC 16.3%, SM 12.2% であった。フルオロキノロン (CPFEX, NFLX, OFLX) 耐性は 5.8%, CTX 耐性は 4.8%, CFX 耐性は 0.9% であった。AMK, IPM および MEPM に耐性を示した株は認められなかった (図 5)。CTX に耐 (性を示した) 15 株のうち 11 株が ESBL 産生菌であり、1 株が AmpC 産生菌であった。また CFX 耐性の 1 株は AmpC 産生菌であった。

プラスミド性コリスチン耐性遺伝子保有株は 2 株 (0.6%) であり、いずれも *mcr-1* 陽性であった。

3. 市販流通食肉から分離された大腸菌の薬剤耐性菌出現状況

国産鶏肉 145 検体中 125 検体 (86.2%) および輸入鶏肉 30 検体中 22 検体 (73.3%) から大腸菌を分離し、それぞれ 238 株, 38 株を供試した (表 2)。市販流通する鶏肉から分離された大腸菌を対象に薬剤感受性試験を行った結果、国産鶏肉由来株の方が高い耐性率を示したのは KM (国産 37.0%, 輸入 7.9%), CP (国産 30.7%, 輸入 13.2%), ST 合剤 (国産 30.3%, 輸入 13.2%), TC (国産 49.2%, 輸入 39.4%), SM (国産 45.0%, 輸入 39.4%) などであった。一方、輸入鶏肉で耐性率が高かったのは GM (国産 2.1%, 輸入 13.2%), CTX (国産 2.1%, 輸入 5.3%), FOM (国産 0.4%, 輸入 2.6%) であった (図 6)。

国産および輸入鶏肉由来株の CTX 耐性率および KM 耐性率の変化を表 3 に示した。国産の CTX 耐性率は、2012 年には 10.1% であったが、2019 年は 2.1% まで低下していた。また外国産でも 24.6% (2011 年) から 5.3% (2019 年) と耐性率は低下していた。一方 KM 耐性率は、輸入では 26.2% (2011 年) から 7.9% (2019 年) と低下していたが、国産では 25.8% (2012 年) から 37.0% (2019 年) と増加していた。

4. 2019 年にヒトおよび食品から分離されたサ

ルモネラの薬剤耐性菌出現状況

2019年にヒトから分離されたサルモネラは143株で39の血清型に、食品由来株は143株で19の血清型に分類された(表4)。ヒト由来株で多く分離された血清型は04群 Schwarzengrund 18株(12.6%)、07群 Infantis 9株(6.3%)、09群 Enteritidis 9株(6.3%)、04群 Typhimurium 8株(5.6%)等であった。一方、食品分離株は04群 Schwarzengrundが79株(55.2%)と最も多く分離され、次いで07群 Infantis 28株(19.9%)、04群 Agona 12株(8.4%)等であった。ヒトと食品で共通に多く分離される血清型は04群 Schwarzengrund、07群 Infantis、04群 Agonaであった。

ヒト由来株のうち1薬剤以上に耐性を示した株は56株(39.2%)、食品由来株では127株(88.4%)と食品由来株の方が耐性率は2倍以上高かった(表5)。

ヒトおよび食品由来株で共通に分離されている04群 Schwarzengrund、07群 Infantisおよび04群 Agonaの薬剤別耐性率を図7~図9に示した。04群 Schwarzengrundではヒト由来株と食品由来株でほぼ同じ耐性パターンを示していたが、KM、TC、CPでは食品由来株の方が耐性率は高かった。07群 Infantisではヒト由来と食品由来株で耐性パターンの違いが認められた。KM、SM、TCおよびST合剤では食品由来株の方が耐性率は高かったが、NA、CTX、GM、ABPCはヒト由来株の方が耐性率は高かった。04群 Agonaではヒトおよび食品由来株共にTCおよびSTの耐性率が高く、TCはヒトおよび食品由来株の全株が耐性を示した。ヒト由来の1株はABPC、CTX、CAZ、CFX、GM、KM、CP、SM、TC、NA、CPFX、NFLX、OFLXの13薬剤に耐性株であった。

CTX耐性株はヒト由来株で3株、食品由来株で1株検出された。2018年はヒト由来3株、食品由来10株が検出されたが、2019年の分離数は減少した。これら4株の血清型は07群 Infantisが2株、07群 Thompsonおよび04群 Agonaが各1株であった。

市販の外国産鶏肉30検体を対象にサルモネラの分離を試みた結果、6検体(20%)からサルモネラが検出された。産地は全てブラジル産であった。6株の血清型は04群 Heidelbergが3株、04群 r:-、08群 Newport、04群血清型別不能が各1株であった。薬剤感受性試験の結果、08群 Newportは全ての薬剤に感受性であったが、04群はいずれもABPC、CTX、CAX、CFX、

NA、TCの6薬剤に耐性であった(表6)。

D. 考察

カンピロバクター食中毒は依然として多く発生しており、東京都では2019年に発生した食中毒113事例中35事例(31.0%)がカンピロバクターによるものであった。

2018年に分離された散発患者由来*C. jejuni*110株のうちフルオロキノロンに耐性を示したのは57株(51.8%)であった。2017年分離株と比較すると耐性率は少し増加していたが、過去8年間と比較するとほぼ横ばいであった。一方、*C. coli*8株のフルオロキノロン耐性は3株(37.5%)で2017年の62.5%と比較すると減少しており、2016年(35.7%)とほぼ同じ耐性率であった。

治療の第一選択薬であるEMの耐性率は*C. jejuni*が1.8%、*C. coli*が62.5%であった。過去7年間の耐性率をみると*C. jejuni*は数%以下でほぼ横ばい傾向であったが、*C. coli*のEM耐性率は20%前後で推移しており、2018年分離株の耐性率は非常に高かった。この理由は不明であるが、供試菌株数が少ないことから今後の動向を慎重に見ていく必要があると考えられた。

2017年および2018年に分離されたカンピロバクターを対象にNAおよびCPFXに対するMIC値を比較した結果、NAに対するMICが128 μ g/ml以上であったのは*C. jejuni*では55.8%、*C. coli*では52.9%が以上であった。CPFXに対するMIC値は、CLSIの判定基準である4 μ g/ml以上を耐性とする、*C. jejuni*57.5%、*C. coli*47.1%が耐性を示した。今後、年次別変化や過去に実施した株との比較を行っている予定である。

健康者糞便由来大腸菌の薬剤耐性菌出現状況を調査した結果、いずれか1薬剤以上に耐性を示す株は39.2%で、2015年(46.1%)、2016年(37.6%)、2017年(36.5%)、2018年(41.3%)と比較すると、2018年よりは低くなったが、耐性率はほとんど変わっていない。耐性率が高い薬剤はABPC(19.6%)、NA(18.6%)、TC(16.3%)、SM(12.2%)で、過去の耐性率と比較しても同様の傾向であった。フルオロキノロン系薬剤に耐性を示す株は5.8%で、過去4年間と比較して最も低かった。いずれの薬剤についても、耐性率の大きな増加あるいは減少は認められなかった。

プラスミド性コリスチン耐性遺伝子陽性株は2株(0.6%)認められ、いずれも *mcr-1* 陽性であった。毎年数株のプラスミド性コリスチン耐性株が認められることから、健康者の中にもコリスチン耐性株が存在することが明らかとなった。この大腸菌が、どのような過程でプラスミドを保有するようになったかについては、今後の検討が必要である。

市販鶏肉から分離された大腸菌の薬剤別耐性率を比較すると、国産肉由来株と輸入肉由来株で明らかに傾向が異なるパターンを示した。中でも KM 耐性率は国産肉由来株では 37.0%であるのに対し輸入肉由来株では 7.9%と低い耐性率であった。一方、GM 耐性率は国産肉由来株 2.1%に対して輸入鶏肉由来株では 13.2%と明らかに高かった。これら耐性率の傾向に今後も注意していく必要がある。

国産肉由来株の CTX 耐性率は 2012 年が 10.4%であったが、2019 年は 2.1%と調査を始めた 2012 年以降で最も耐性率は低くなった。セフチオフルの自主規制がなされたことで耐性率が顕著に減少していることが明らかとなった。また外国産鶏肉由来株でも 2011 年は 24.6%であったが、年々減少し、2019 年は 2018 年(2.8%)と比較しやや高くなったが 5.3%であった。

ヒトおよび食品から分離されたサルモネラで、ヒトと食品に共通して高率に検出されている血清型は、04 群 Schwarzengrund と 07 群 Infantis, 04 群 Agona であった。ヒトのみから分離される血清型も多いが、少なくともこの 3 血清型は共通して検出されていることから、食品(主に鶏肉および鶏肉内臓肉)がヒトへの感染に影響を与えている可能性が大きいことが示唆された。

分離された株について、供試した 19 薬剤中 1 薬剤以上に耐性を示した割合を比較すると、ヒト由来株では 39.2%、食品由来株では 88.4%と、食品由来株の方が耐性率は 2 倍以上高かった。この傾向は例年と同様である。

04 群 Schwarzengrund の薬剤耐性パターンはヒト由来と食品由来ではほぼ同じ傾向が認められた。しかし KM と TC で食品由来株の方が高い傾向が認められた。07 群 Infantis では、KM, SM, TC, ST の 4 薬剤は食品由来株の方が耐性率は高かった。

CTX 耐性株の分離数は 2015 年以降年々増加していたが、2019 年はヒト由来 3 株、食品由来

1 株であり、2018 年の 14 株(ヒト由来 4 株、食品由来 10 株)と比較して分離数は大幅に減少した。今後もこの状況が続くのか調査を継続していく必要がある。

輸入鶏肉から分離された 6 株のうち 5 株は 6 薬剤に耐性を示す多剤耐性株であった。この耐性パターンは国産鶏肉由来では認められておらず、輸入(ブラジル産)に特徴的なパターンだと考えられた。いずれも CTX, CAZ, CFX に耐性を示し、AmpC 型 β ラクタマーゼ産生菌であった。

AMR 臨床リファレンスセンターの報告によると全国の抗菌薬販売量は 2013 年から約 10.7%減少している。特に経口セファロsporin系薬剤と経口フルオロキノロン系薬剤の減少が大きいというデータである。抗菌薬販売量の減少が、どの程度ヒト分離株へ影響するのか、今後も継続的にモニタリングを行い、動向に注視していく必要がある。

E. 結論

2018 年に散発患者から分離された *C. jejuni* および *C. coli* のフルオロキノロン耐性率はそれぞれ 51.8%および 37.5%であった。*C. jejuni* は例年とほぼ同様の耐性率であり、*C. coli* は 2017 年と比較して減少していた。また、治療の第一選択薬である EM に対しては、*C. jejuni* は例年同様の低い耐性率であったが、*C. coli* では 62.5%と過去 7 年間で最も高くなった。

2019 年に健康者の糞便から分離された大腸菌 311 株を対象に 19 薬剤を用いた薬剤感受性試験を行ったところ、いずれか 1 薬剤以上に耐性を示した株は 39.2%であった。2015 年以降のフルオロキノロン系薬剤に対する耐性率は 10%程度、CTX 耐性率は 5%程度で推移していることが明らかとなった。IPM, MEPM に耐性を示す株は認められなかった。プラスミド性コリスチン耐性遺伝子保有株 2 株(いずれも *mcr-1* 陽性)が確認された。

国産鶏肉および輸入鶏肉から分離された大腸菌を比較すると、明らかに異なる耐性パターンを示した。中でも KM 耐性率は、輸入由来株で 7.9%と低い耐性率であるのに対し国産由来株では 37.0%であった。このほか、ST, CP で国産由来株の耐性率は輸入由来株の 2 倍以上高い値であった。CTX 耐性率は国産由来株が 10.4%(2012 年)から 2.1%に、輸入由来株も 5.3%にいずれも著しく減少していた。

2019年にヒトから分離されたサルモネラは143株で39血清型に、食品由来株は143株で19血清型に分類された。分離された血清型を比較すると04群 Schwarzengrund, 07群 Infantis および04群 Agona がヒトおよび食品由来共に多く分離されていた。ヒト由来株のうち1薬剤以上に耐性を示した株は39.2%、食品由来株は88.4%で、食品由来株の方が耐性率は2倍以上高かった。CTX耐性株はヒト由来株で3株、食品由来株で1株検出された。2015年以降、分離数は増加傾向であったが、2019年は大幅に減少した。

今後も継続的にモニタリングを行い、動向に注視していく必要がある。

F. 健康危険情報

(分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入)

G. 研究発表

1. 論文発表

無し

2. 学会発表

無し

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 無し

2. 実用新案登録 無し

3. その他 無し

表1. 薬剤感受性試験判定基準(研究班)

感受性ディスク名	判定基準		
	耐性(R) (\leq mm)	中間(I) (mm)	感受性(S) (\geq mm)
エリスロマイシ(EM)	12	13-15	16
テトラサイクリン(TC)	22	23-25	26
シプロフロキサシン (CPFX)	20	21-23	24
ナリジクス酸(NA)	13	14-18	19
アンピシリン(ABPC)	13	14-16	17
セファロチン(CET)	阻止円なし (6 mm)	-	-

培地 : 5%ヒツジ(馬)脱線維血液加ブルセラ寒天培地
 培養条件: 微好機培養
 培養温度・時間: 36~37°C, 48時間

図1. 散発患者由来 *C. jejuni* の耐性菌出現状況(東京都)

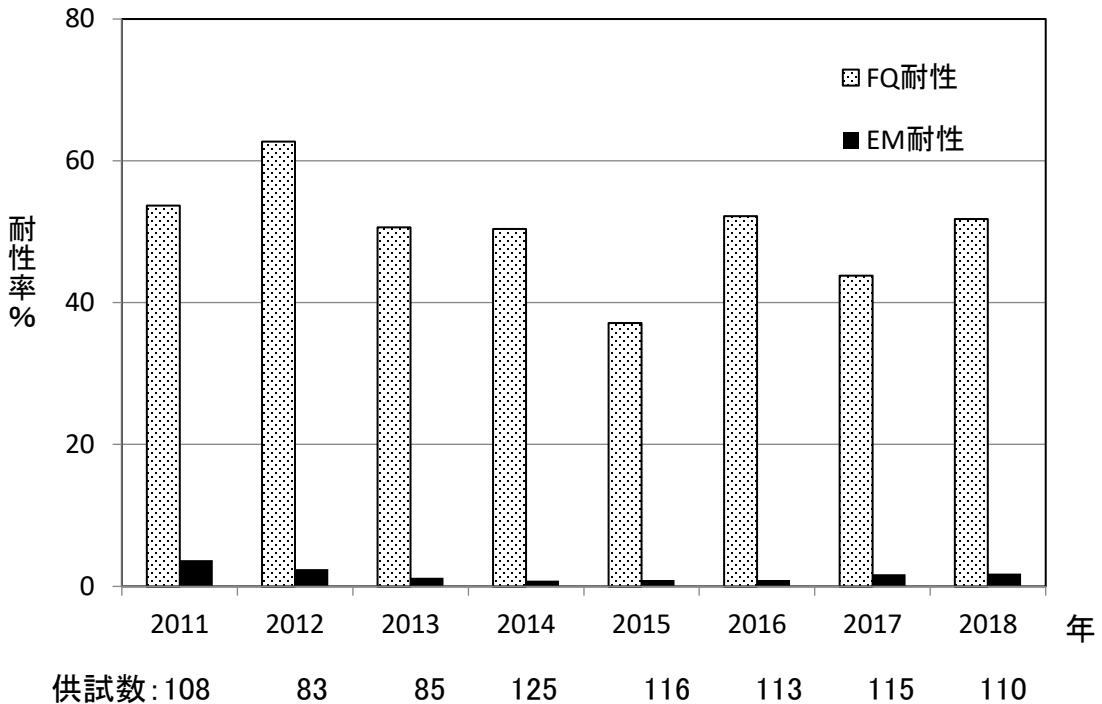


図2. 散発患者由来 *C. coli* の耐性菌出現状況(東京都)

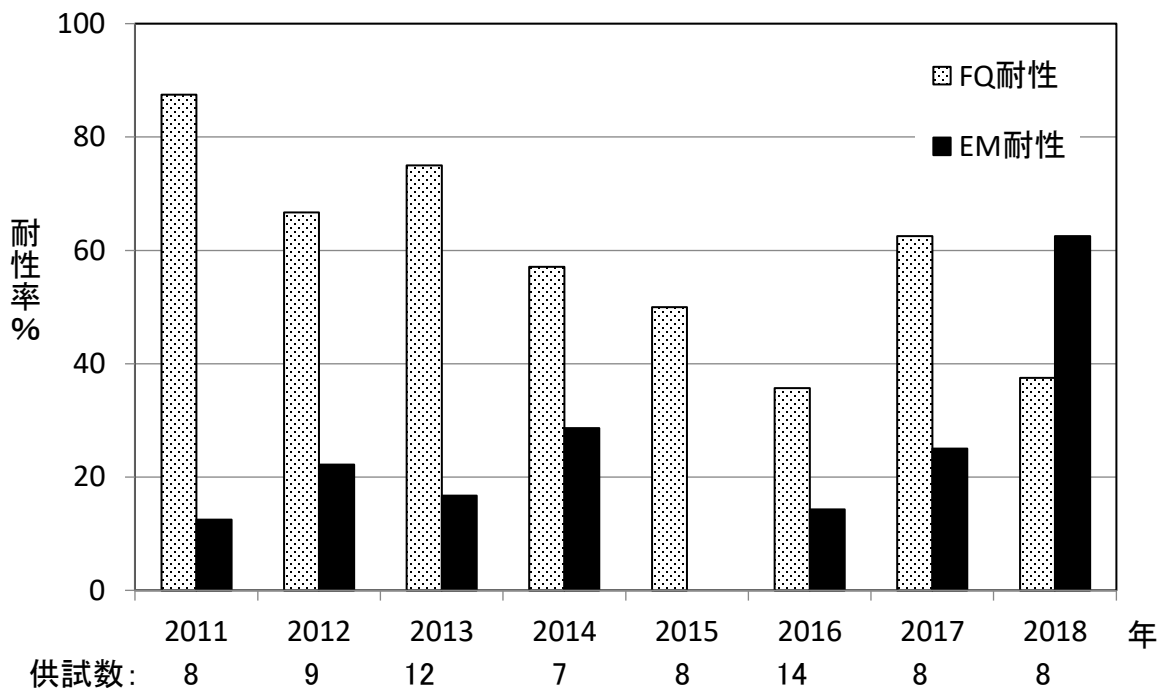


図3. 散発患者由来 *C. jejuni* のMIC値(2016~2017年分離株, 東京都)

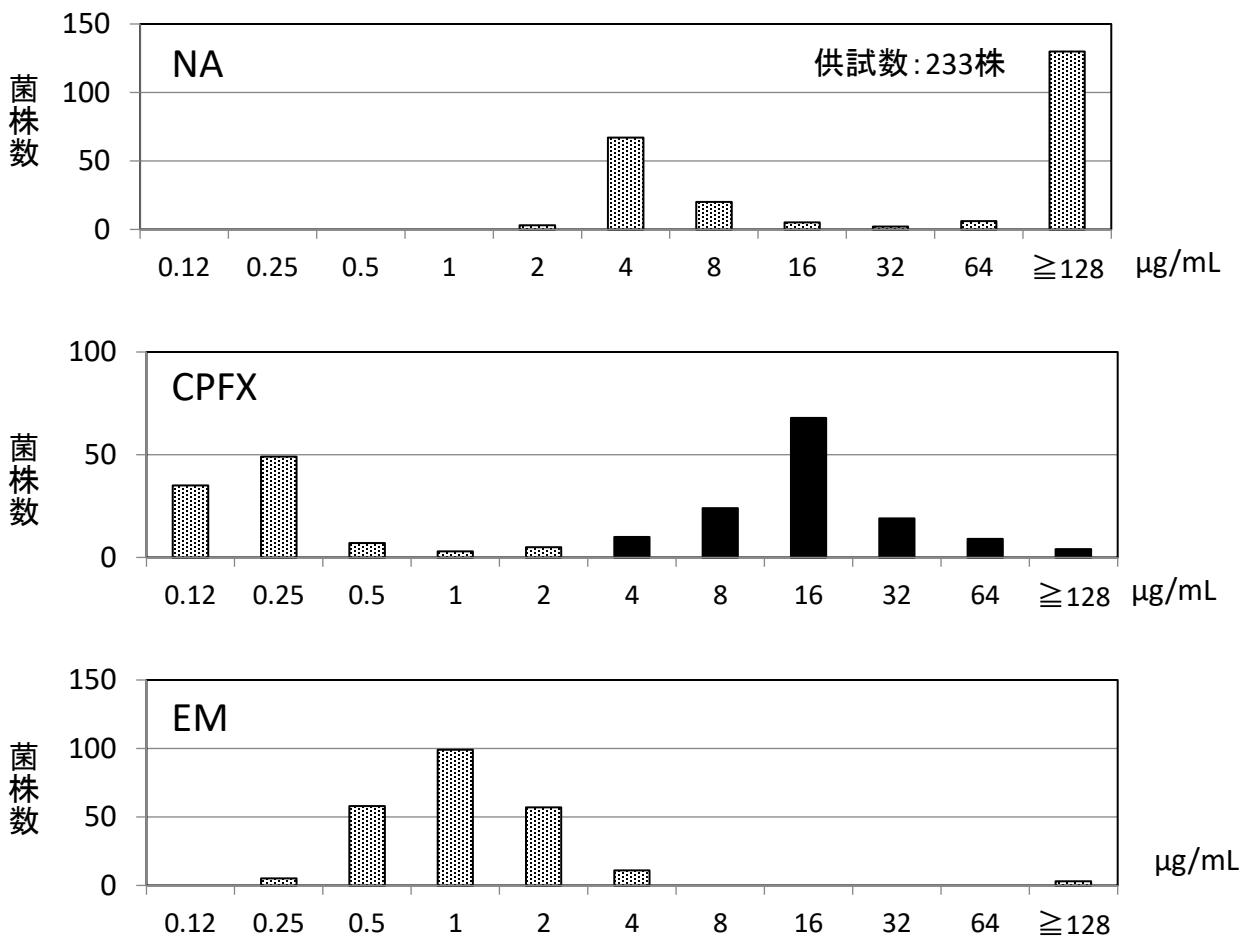


図4. 散発患者由来 *C. coli* のMIC値 (2016~2017年分離株, 東京都)

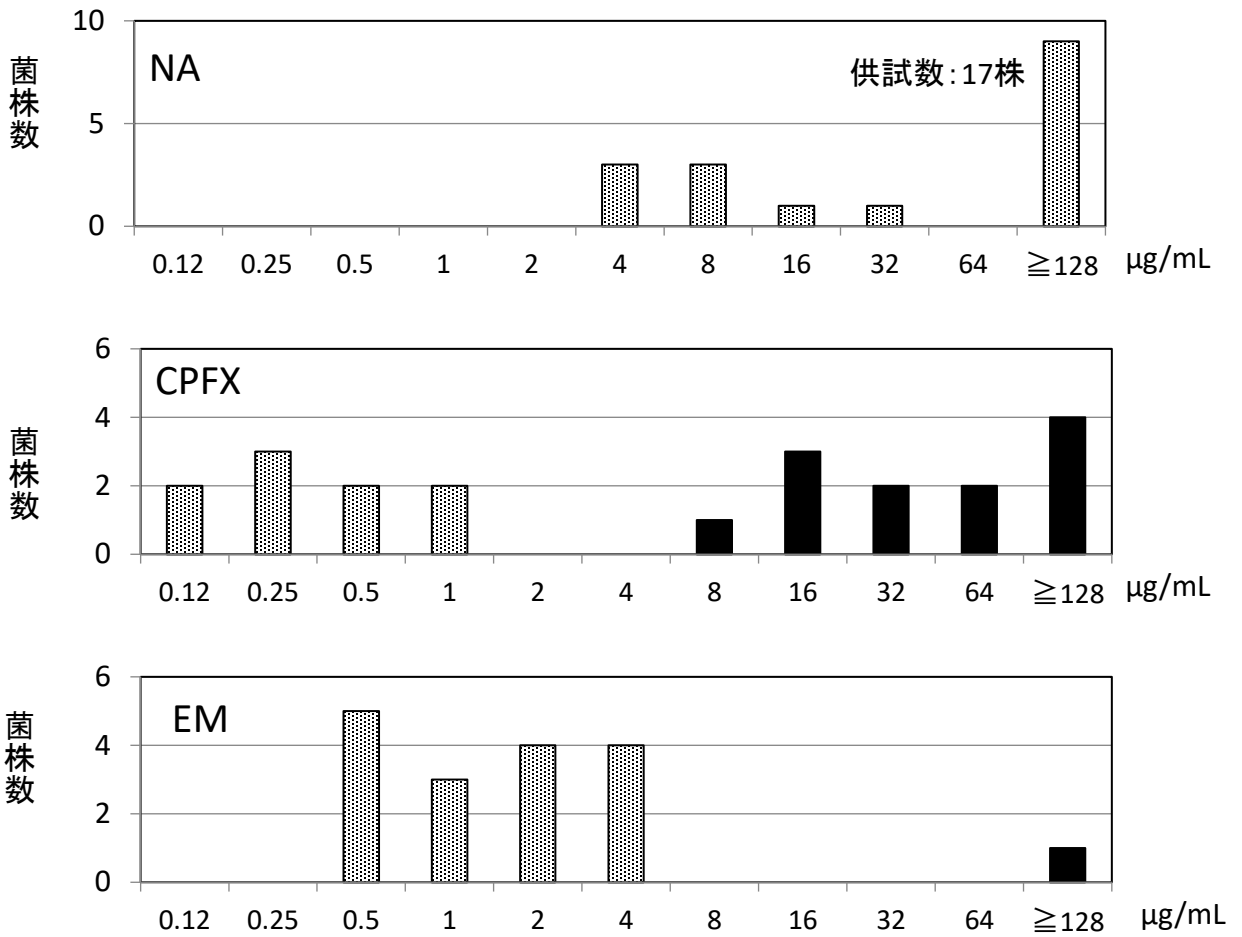


図5. 健康者糞便由来大腸菌の薬剤別耐性菌出現状況 (2019年)

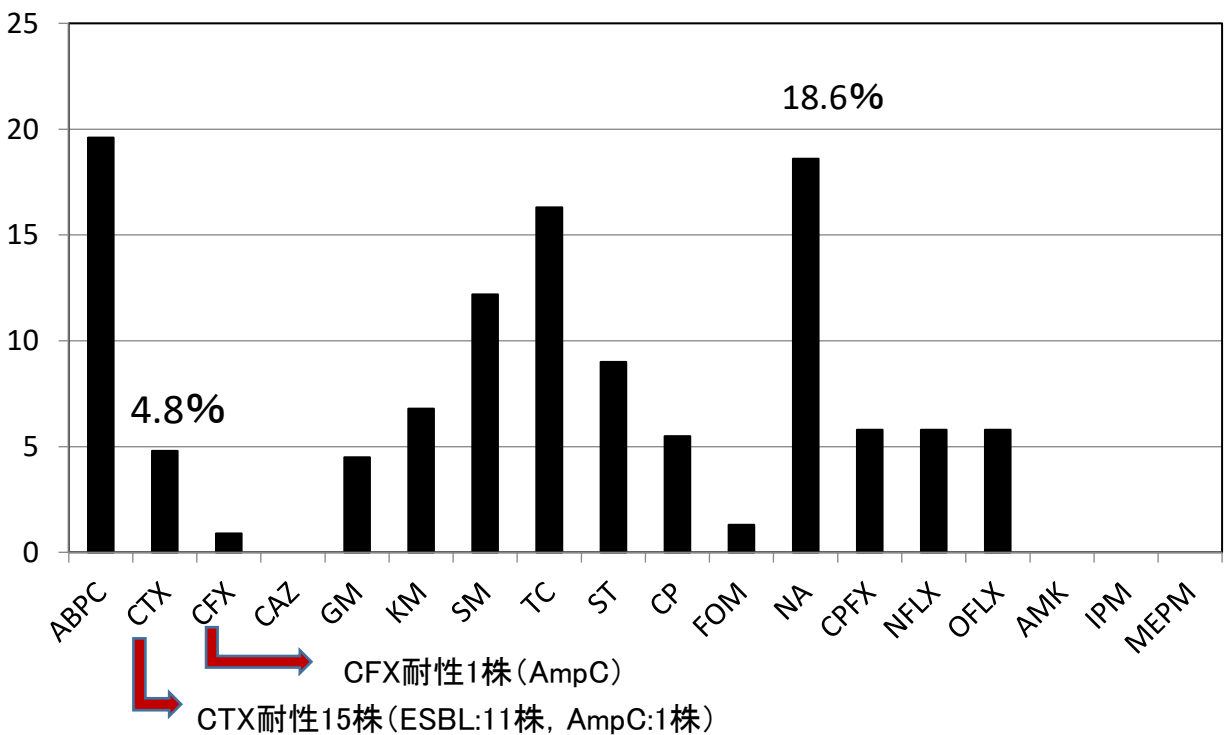


表2. 市販鶏肉からの大腸菌検出数と薬剤感受性試験供試数(2019年)

検体	検体数	大腸菌陽性	(%)	供試集落数
国産鶏肉	145	125	86.2	238
輸入鶏肉	30	22	73.3	38

図6. 鶏肉由来大腸菌の薬剤別感受性試験成績(2019年)

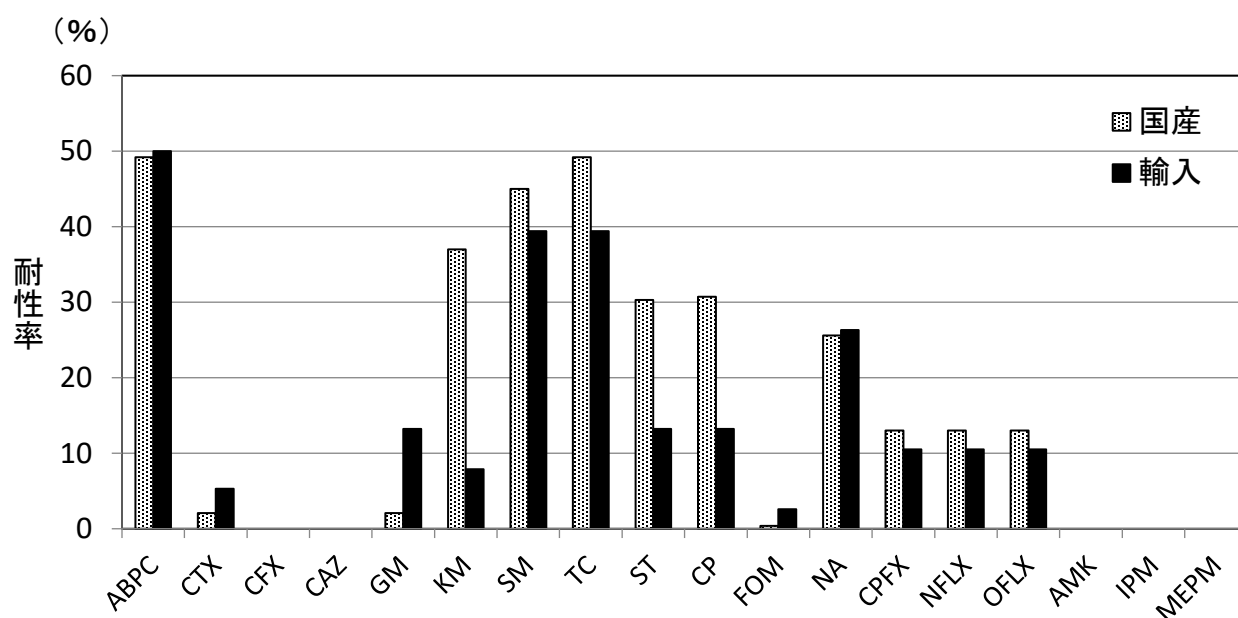


表3. 鶏肉由来大腸菌のCTXおよびKM耐性率の年次変化

由来	調査年	耐性率(%)	
		CTX	KM
国産	2012	10.4	25.8
	2015	3.6	46.8
	2018	5.8	35.7
	2019	2.1	37.0
輸入	2011	24.6	26.2
	2015	27.0	27.0
	2018	2.8	8.3
	2019	5.3	7.9

表4. ヒトおよび食品由来サルモネラの上位血清型(2019年, 東京都)

ヒト由来株				食品由来株			
O群	血清型	菌株数	%	O群	血清型	菌株数	%
O4	Schwarzengrund	18	12.6	O4	Schwarzengrund	79	55.2
O7	Infantis	9	6.3	O7	Infantis	28	19.6
O9	Enteritidis	9	6.3	O4	Agona	12	8.4
O4	Typhimurium	8	5.6	O8	Manhattan	4	2.8
O4	Agona	8	5.6	OUT	r:1,5	4	2.8
O4	i:-	8	5.6	O4	i:-	2	0.7
O8	Newport	8	5.6	OUT	d:1,7	2	0.7
O4	Stanley	7	4.9	O4	Derby	1	0.7
O7	Thompson	7	4.9	O4	Brandenburg	1	0.7
O4	Chester	5	3.5	O4	Bredeney	1	0.7
O4	Sandiego	4	2.8	O7	Rissen	1	0.7
O7	Braenderup	4	2.8	O7	Hato	1	0.7
O7	Mbandaka	4	2.8	O8	Corvalis	1	0.7
O8	Corvalis	4	2.8	O8	Newport	1	0.7
O7	Bareilly	3	2.1	O8	Hadder	1	0.7
O8	Manhattan	3	2.1	O3,10	Anatum	1	0.7
O8	Litchfield	3	2.1	O16	Yovuba	1	0.7

ヒト:143株 39血清型
 集団事例は1株を計上

食品:143株 19血清型

表5. 2019年に分離されたサルモネラの薬剤耐性率

由来	供試数	耐性菌数	(%)
ヒト	143	56	(39.2)
食品	143	127	(88.4)

表6. ブラジル産鶏肉から分離されたサルモネラの血清型と薬剤耐性パターン(2019)

O群	血清型別	分離数	薬剤耐性パターン
O4	Heidelberg	3	ABPC, CTX, CAZ, CFX, NA, TC
O4	r:-	1	ABPC, CTX, CAZ, CFX, NA, TC
O4	血清型別不能	1	ABPC, CTX, CAZ, CFX, NA, TC
O8	Newport	1	-

O4群は全てAmpC型βラクタマーゼ産生菌

図7. *S. Schwarzengrund*の薬剤感受性試験成績(2019年)

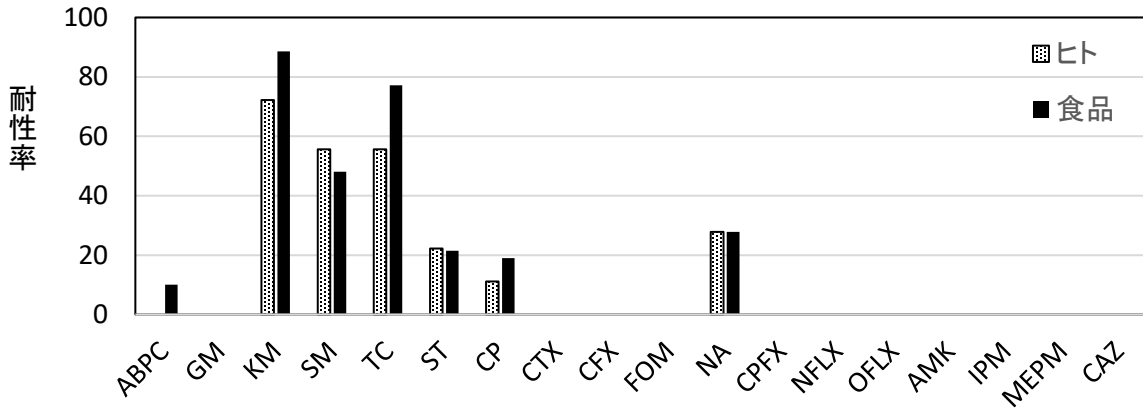


図8. *S. Infantis* の薬剤感受性試験成績(2019年)

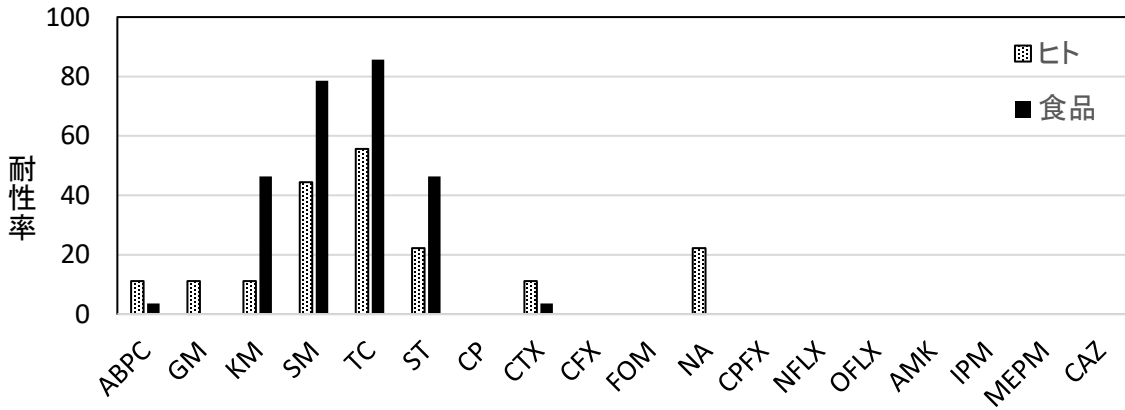
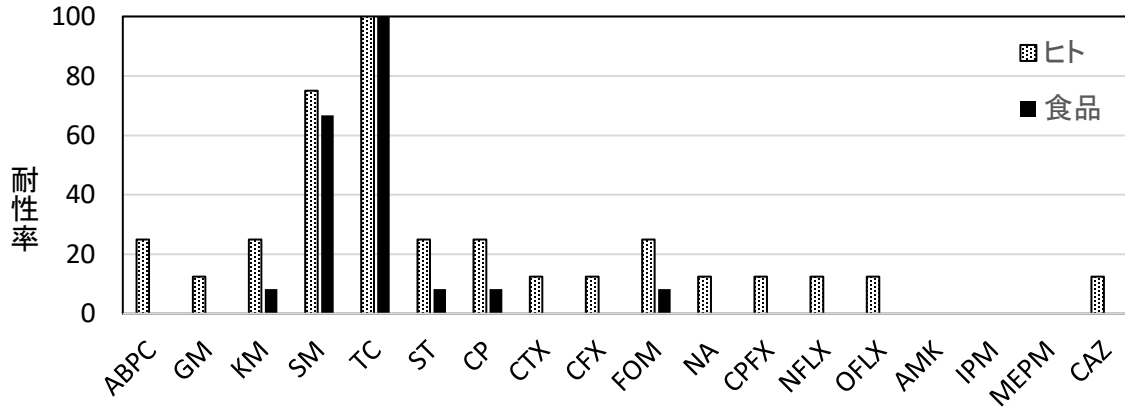


図9. *S. Agona* の薬剤感受性試験成績(2019年)



研究課題名：食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究

分担課題名：食品中の耐性菌汚染、と畜場等における交差汚染の役割解析

研究分担者：浅井鉄夫 岐阜大学大学院連合獣医学研究科・教授

研究協力者：岩田 康一 （名古屋市食肉衛生検査所）

佐々木貴正 （国立医薬品食品衛生研究所）

研究要旨

フードチェーンにおける薬剤耐性菌の制御は重要な課題である。本研究では、肉用鶏の生産段階の汚染について種鶏場、孵化場と肉用鶏農場のサルモネラ及び大腸菌、食肉処理場の汚染について搬入動物である豚の家畜関連メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（LA-MRSA）、食肉処理工程における汚染について腸内細菌科細菌の薬剤感受性を調査した。本研究によって、生産段階における薬剤耐性菌の分布は農場・食肉処理場の耐性菌汚染の要因となることが確認された。肉用鶏農場において耐性菌を制御するためには、耐性菌を保菌したヒナの導入防止と環境からの排除が重要と考えられた。

A. 研究目的

食品を介して人へ伝播する薬剤耐性菌を対策する上で、フードチェーンにおける情報の収集・分析が重要な課題である。食肉を汚染する薬剤耐性菌は、家畜が食肉処理される過程において家畜由来の薬剤耐性菌による交差汚染が影響すると考えられる。そのため、食肉処理施設における耐性菌の交差汚染を制御することは、食肉の薬剤耐性菌汚染を制御する必要な課題と考えられる。

食肉処理施設では HACCP の導入により衛生管理状況は改善されているが、依然として食肉から薬剤耐性菌が分離される。薬剤耐性菌は腸内の細菌中に一定の割合で存在するため、細菌汚染が高度である場合には薬剤耐性菌が含まれていると予想される。本研究では、食肉処理における交差汚染の対策を構築するため、鶏肉の生産段階として種鶏場、孵化場と生産農場、食肉処理場及び食肉処理工程を対象に腸内細菌科細菌等を指標に解析している。1年目に、各段階の薬剤耐性菌汚染には、素畜（ひな）、飼育期間に感染した動物の食肉処理場への搬入、食肉処理工程での環境等複数の要因が存在することが示唆された。そこで、2年目に、飼育動物と処理工程の低減対策と豚における家畜関連メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（LA-MRSA）のモニタリング方法について検討した。最終年度は、以下の項目について検討する。

菌等を指標に解析している。1年目に、各段階の薬剤耐性菌汚染には、素畜（ひな）、飼育期間に感染した動物の食肉処理場への搬入、食肉処理工程での環境等複数の要因が存在することが示唆された。そこで、2年目に、飼育動物と処理工程の低減対策と豚における家畜関連メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（LA-MRSA）のモニタリング方法について検討した。最終年度は、以下の項目について検討する。

B. 研究方法

（1）市販肉の交差汚染経路の解析

愛知県下の牛及び豚の食肉処理場において、「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同定と薬剤感受性を実施した。細菌の同定は生化学的性状に基づく同定システム（バイテック）を用い、薬剤感受性は市販の微量液体希釈法で実施した。

2018年に愛知県の牛及び豚の食肉処理施設で

実施した枝肉や環境（まな板、処理ライン）等のふき取り検査により分離された細菌の性状検査を実施したところ、施設内で細菌の拡散が認められる場合と認められない場合があった。食肉衛生検査所の職員から洗浄消毒方法に着目して聞き取りを行った。

（２）鶏肉のフードチェーンにおける腸内細菌の薬剤耐性獲得ポイントの推定

過去に肉用鶏農場において第 3 世代セファロスポリン (TGC) 耐性サルモネラ株が分離され、孵卵場で使用する抗菌薬を 2012 年 3 月末に TGC から SM に変更した鶏肉生産者 1 社で、孵卵場（死籠り卵）、肉用鶏農場（食鳥処理場の盲腸内容物）および鶏肉における TGC 耐性サルモネラ汚染状況を中心にサルモネラの耐性状況を調査した。薬剤感受性試験は、微量液体希釈法を用い、12 剤（アンピシリン、セファゾリン、セフトキサシム、ストレプトマイシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、テトラサイクリン、ナリジクス酸、シプロフロキサシン、コリスチン、クロラムフェニコール及びトリメトプリム）について実施した。なお、当該鶏肉生産者の種鶏場ではマイコプラズマ症対策として TC が使用されている。

さらに、上記とは別の鶏肉生産者 1 社が所有する種鶏場 17 か所（TC 不使用）のサルモネラ汚染状況を調査した。

A 農場の一ロット由来 CTX-M-3 産生腸内細菌科細菌 9 株（大腸菌 3 株、*Enterobacter cloacae* 3 株、*Klebsiella pneumoniae* 3 株）と B 農場由来 CTX-M-25 産生腸内細菌科細菌 5 株（初生びな由来 *Enterobacter cloacae* 2 株と *Klebsiella pneumoniae* 1 株及び 1 年後の肥育鶏由来大腸菌 1 株）のプラスミドの塩基配列を次世代シーケンサーで解析した。

（３）国内豚から分離された LA-MRSA の分子疫学解析

51 農場からと畜場に出荷された豚の耳 102 検体

（1 農場当たり 2 頭）を収集して MRSA を検索した。また、と畜場において豚の MRSA 汚染実態調査を実施する際の適切な分離材料を検討するため、と畜場において 92 農場 276 頭から鼻腔内壁、耳介背及び枝肉頸部からスワブを採材し、MRSA を検索した。

分離培養は、6.5%NaCl 加トリプトニック broth (TSB) で前増菌培養し、セフトキサシム・アストラオラム添加 6.5%NaCl 加 TSB を用いて増菌培養した。その後、増菌培養液を加菌液-MRSA と MRSA 分離培地 II (栄研) へ塗抹し、MRSA を分離した。分離菌の SCCmec 型、MLST 型、spa 型及び薬剤感受性を常法で調べた。Panton-Valentine-Leukocidin (PVL) 遺伝子及び *czrC* 遺伝子は PCR 法により検出した。亜鉛の MIC は寒天平板希釈法で決定した。

（倫理面への配慮）

特になし

C. 研究結果

（１）市販肉の交差汚染経路の解析

枝肉ふき取り材料からの分離菌は、*Klebsiella pneumoniae* spp *pneumonia* (豚 14 検体、牛 16 検体)、*Escherichia coli* (豚 6 検体、牛 20 検体)、*Enterobacter cloacae* complex (豚 5 検体、牛 10 検体)、*Enterobacter gergoviae* (豚 5 検体、牛 4 検体) の順で 15 菌種分離された（表 1）。牛枝肉由来 *Escherichia coli* (n=24) では、ABPC、TC、CP に対する耐性が約 10%で認められ、KM、NA、CPFX と ST に対する耐性が約 5%で認められた。一方、*Klebsiella pneumoniae* (n=16) では、TC、CP、ST に対する耐性が 10~20%で認められた（図 1）。豚の枝肉由来 *Klebsiella pneumoniae* (n=14) では、TC と CP に対する耐性が 1 株（7.1%）で認められた。

施設間の洗浄消毒方法に大きな違いは認められなかった。交差汚染の認められた施設と認められなかった施設での違いは、洗剤の使用の有無で、交差汚染の認められない施設では洗剤が

使用されていた。

(2) 鶏肉のフードチェーンにおける腸内細菌の薬剤耐性獲得ポイントの推定

孵卵場の死籠り卵 80 検体中 12 検体 (15.0%)

(表 4)、盲腸内容物 24 検体中 23 検体 (95.8%)

及び鶏肉 24 検体のすべて (100%) から分離された。全株が SM 耐性を示し、TGC 耐性は認められなかった (表 5)。

種鶏場調査では 2 か所 (11.8%) からサルモネラが分離され、1 株は KM 耐性であったもの、残り 1 株は供試薬剤すべてに感受性であった。

同一ロット由来 CTX-M-3 産生腸内細菌科細菌 9 株 (大腸菌 3 株、*Enterobacter cloacae* 3 株、*Klebsiella pneumoniae* 3 株) のプラスミドは、*E. cloacae* (3 株中 1 株) のプラスミドを除いて、きわめて類似していた。また、同一農場由来 CTX-M-25 産生腸内細菌科細菌 5 株 (初生びな由来 *Enterobacter cloacae* 2 株と *Klebsiella pneumoniae* 1 株及び 1 年後の肥育鶏由来大腸菌 1 株) では、大腸菌のプラスミドは *Klebsiella pneumoniae* のプラスミドと近縁であった。

(3) 国内豚由来 MRSA の性状解析

国内の浸潤状況を明らかにするため、2019 年度は豚における LA-MRSA 汚染の実態調査とモニタリング材料の検討を行った。関東を中心に 51 農場からと畜場に出荷された豚の耳 102 検体 (2 頭/農場) を供試した。13 農場 (25.5%) 16 検体 (15.7%) から MRSA 16 株が分離され、ST398 が 7 農場 (13.7%) 8 株、ST5 が 4 農場 (7.8%) 6 株及び ST8 が 2 農場 (3.9%) 2 株であった。ST398 の SCC_{mec} は型別できなかつたが、ST398 の全 8 株が *czrC* を保有し、テトラサイクリンとエリスロマイシン耐性を示した。さらに、と畜場において豚の MRSA 汚染実態調査を実施する際の適切な分離材料を検討するため、と畜場において 92 農場 276 頭から鼻腔内壁、耳介背及び枝肉頸部からスワブを採材し、MRSA は 25 農場 (27.2%) の 48 頭 (17.4%) のいずれかの検体が

ら分離され、耳介背スワブ (40 検体)、鼻腔内壁スワブ (22 検体)、枝肉頸部 (1 検体) の順であった (表 6)。

D. 考察

食肉処理場の枝肉から様々な細菌が昨年と同様に分離された。豚枝肉由来と牛枝肉由来大腸菌や *Klebsiella pneumoniae* における薬剤耐性菌の割合は低率であった。今後、個体ごとに分離菌の遺伝子型を PFGE 等で比較検討する。また、昨年度交差汚染が認められなかった施設では、洗剤が使用されていたことから、交差汚染の認められた施設へ事例として紹介することを検討する。

昨年度、東北地方の 11% の養豚場から MRSA ST398 が分離されたが、関東地方においては 25% の養豚場から分離された。本年、検査材料の検討した結果、東北地方の 27% で ST398 が認められ、家畜関連 MRSA (LA-MRSA) の浸潤が進行している可能性が示された。今年度の検査材料の比較研究では、耳介背スワブ、鼻腔内壁スワブと枝肉頸部の比較を行い、耳介背スワブが適切であることを示唆する成績が得られた。また、枝肉の MRSA 汚染は低度であったことから、細菌の生息部位が汚染の程度に影響する可能性が考えられた。今後、全国モニタリングを実施するためには、検出感度の高い耳介背スワブを用いた検査方法のプロトコールを作成していくことが適切と考えられる。

肉用鶏の生産システムにおける抗菌薬使用とサルモネラの薬剤耐性に関して、素びなのほとんどを自社生産する A 社 (種鶏場でマイコプラズマ症対策としてテトラサイクリン使用、孵化場でストレプトマイシンを *in ovo* 使用) では、肉用鶏農場と孵化場で同じ薬剤耐性型を示すサルモネラ (Manhattan) が分離され、孵化場に浸潤するサルモネラによって肉用鶏農場が汚染することが示唆された。また、素びなを自社孵化場 (ストレプトマイシン *in ovo* 使用) 及び複数

他社（抗菌薬の種類は不明）から導入する B 社では、分離株の一部がカナマイシン耐性を示し、自社以外の孵化場からの導入が影響する可能性が示唆された。さらに、TC 不使用種鶏場から分離されたサルモネラは TC 感受性であった。このように、肉用鶏由来サルモネラの薬剤耐性は、肉用鶏農場で使用される抗菌薬に加え、その上流の抗菌薬使用によっても影響を受ける可能性があることが示唆された。

今回保存菌株を用いて農場内の耐性菌の伝播を調査した。初生ひなによる持ち込みなどによる若齢鶏が保菌する薬剤耐性菌が飼育期間に薬剤耐性因子が腸内細菌科細菌間で伝播すること、農場内で維持される可能性が示唆された。以上から、農場へ持ち込まれる段階（種鶏場と孵化場）の管理が重要であることが明らかとなった。

E. 結論

本研究によって、各段階の薬剤耐性菌による汚染には、素畜（ひな）、飼育期間に感染した動物の食肉処理場への搬入、食肉処理工程での環境等複数の要因が存在することが示唆された。飼育期間中の耐性菌対策を講じるために、飼育農場における薬剤耐性菌の拡散様式を明らかにするとともに、食肉処理場における薬剤耐性菌制御システムを構築することが必要である。

F. 健康危険情報

（分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入）

G. 研究発表

1. 論文発表

Suzuki K, Yossapol M, Sugiyama M, Asai T.

Effects of antimicrobial administration on the prevalence of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* in broiler flocks. *Jpn J Infect Dis.* 72(3):179-184, 2019.

2. 学会発表

浅井鉄夫 Antimicrobial-resistant bacteria in animals（第 93 回日本感染症学会総会、2019 年 4 月 5 日、名古屋）

浅井鉄夫 JVARM とリスク管理措置（動物用抗菌剤研究会、2019 年 4 月 20 日、東京、）

浅井鉄夫 畜産分野における薬剤耐性菌の対策と課題（第 89 回日本感染症学会西日本地方学術集会・第 62 回日本感染症学会中日本地方学術集会・第 67 回日本化学療法学会西日本支部総会、2019 年 11 月 8 日、静岡県浜松市）

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

浅井鉄夫 動物由来の薬剤耐性菌について（アルボースセミナー、2019 年 10 月 23 日 大阪・10 月 24 日 名古屋・11 月 12 日 福岡・11 月 28 日 東京、250 名、株式会社アルボース）

表1 枝肉から分離された細菌の構成

菌種	牛由来		豚由来	
	検体数	株数	検体数	株数
<i>Escherichia coli</i>	20	24	6	6
<i>Klebsiella pneumoniae</i> spp <i>pneumoniae</i>	16	16	14	14
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	10	12	5	5
<i>Enterobacter gergoviae</i>	4	4	5	5
<i>Leclercia adecarboxylate</i>	5	5	1	1
<i>Klebsiella oxytoca</i>	3	3	1	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2	2	2	2
<i>Citrobacter freundii</i>	1	1	1	1
<i>Pantoea</i> spp	2	2		
<i>Yersinia enterocolitica/frederikse</i>	2	2		
<i>Serratia liquefaciens</i> group	1	1		
<i>Enterobacter asburiae</i>			1	1
<i>Escherichia hermannii</i>			1	1
<i>Kluyvera intermedia</i>	1	1		
<i>Raoultella planticola</i>			1	1
総計	67	73	38	38

図1 枝肉から分離された*Escherichia coli*と*Klebsiella pneumoniae*の薬剤感受性

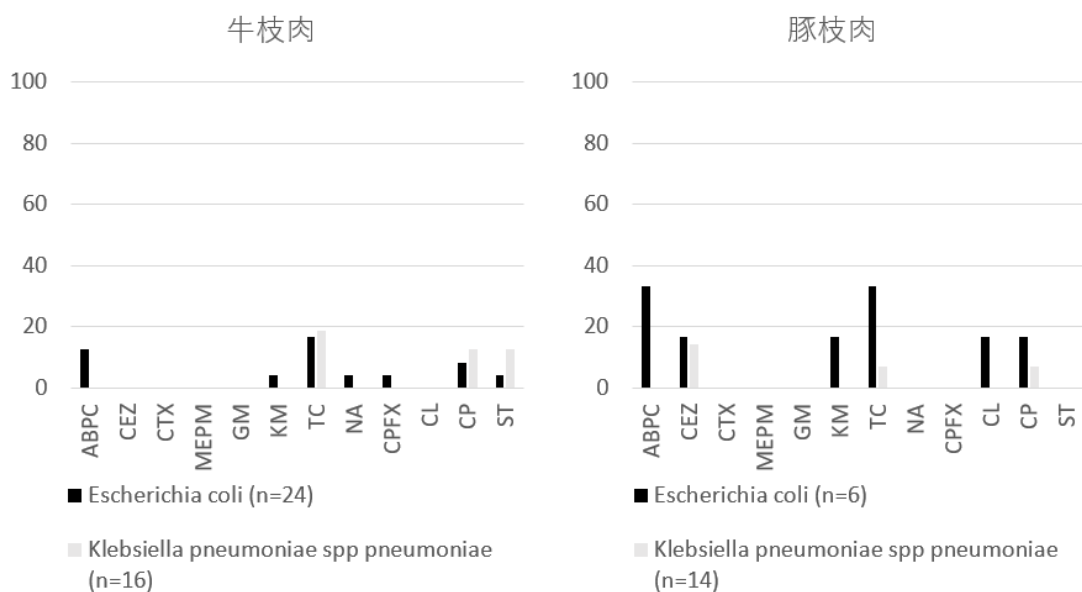


表2 牛の食肉処理施設における洗浄方法と細菌分離数

施設	床洗浄	熱湯	洗剤	次亜塩素酸	菌数 (CFU/cm ²)						
					シンクレバー	クレーンスイッチ	まな板	包装台	手袋	コンベア	スクレイパー柄
施設①	-	+	+	+	6						
施設②	高压洗浄	+	+	+	17	4	1	1			
施設④	-	+	+	+					1		
施設⑤	ブラシ	+	-	+		20	3		11	1	2

施設⑤では使用器具や場所で交差汚染が認められた

参考（昨年度の成績）：食肉処理施設で分離された細菌のPFGE像

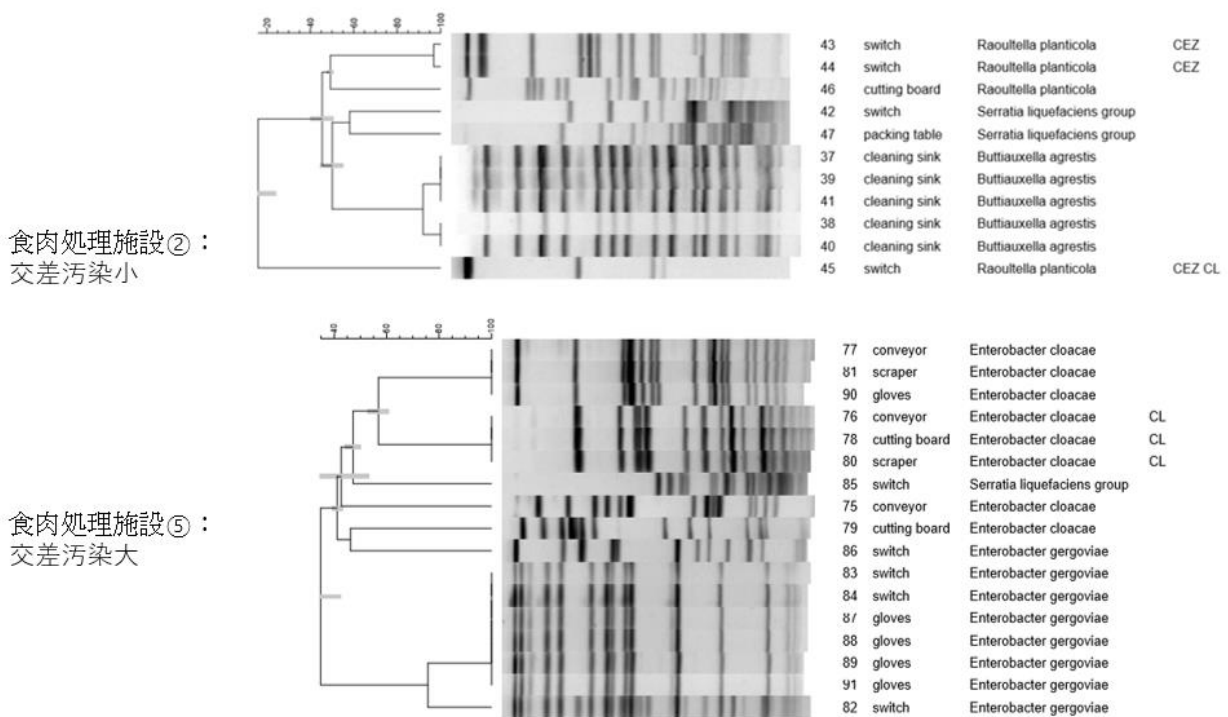
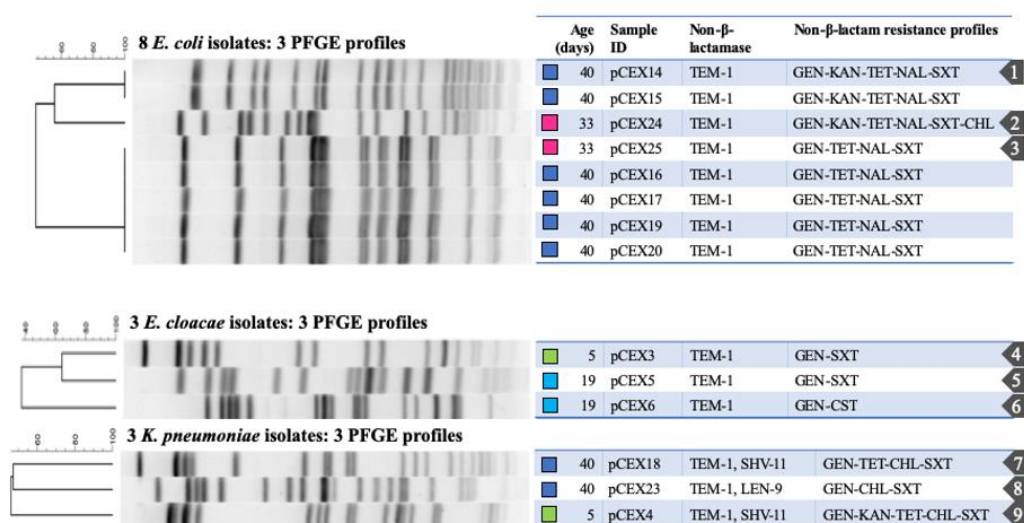
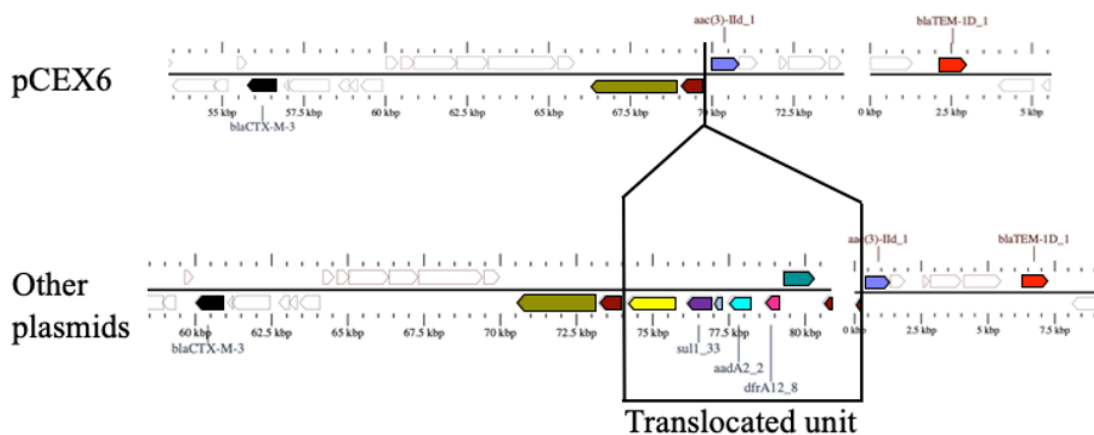


図2 CTX-M-3プラスミドの保有株のPFGE型



3菌種からPFGE型に基づき菌株を選定してトランスコンジュガントを作成し、プラスミドの比較を行った。

図3 鶏群で飼育期間中に認められたプラスミドの比較



CTX-M-3産生腸内細菌科細菌9株（大腸菌3株、*E. cloacae* 3株、*K. pneumoniae* 3株）のプラスミドを比較したところ、19日齢時に分離された*E. cloacae*由来プラスミドpCEX6を除いて同一であった。
飼育期間中に遺伝子の一部が欠損する可能性を示唆

表2 初生びなから分離された CTX-M-25産生菌と1年後に同じ養鶏場で分離されたCTX-M-25産生菌のプラスミド

2016年1~7月に初生びなの敷料由来株

2017年7~8月に肥育鶏の糞便由来株

Yossapol et al., 2017

Plasmid from	<i>E. cloacae</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. coli</i>
Size (Kb)	218.2	250.4	166.3	165.6

CTX-M-25 plasmid は*E. coli* DH5α に伝達し、レプリコン型はIncA/Cであった。

図3 初生びなから分離された CTX-M-25産生菌と1年後に同じ養鶏場で分離されたCTX-M-25産生菌のプラスミドの比較

Comparison between draft CTX-M-25 plasmids in *K. pneumoniae* and *E. coli*

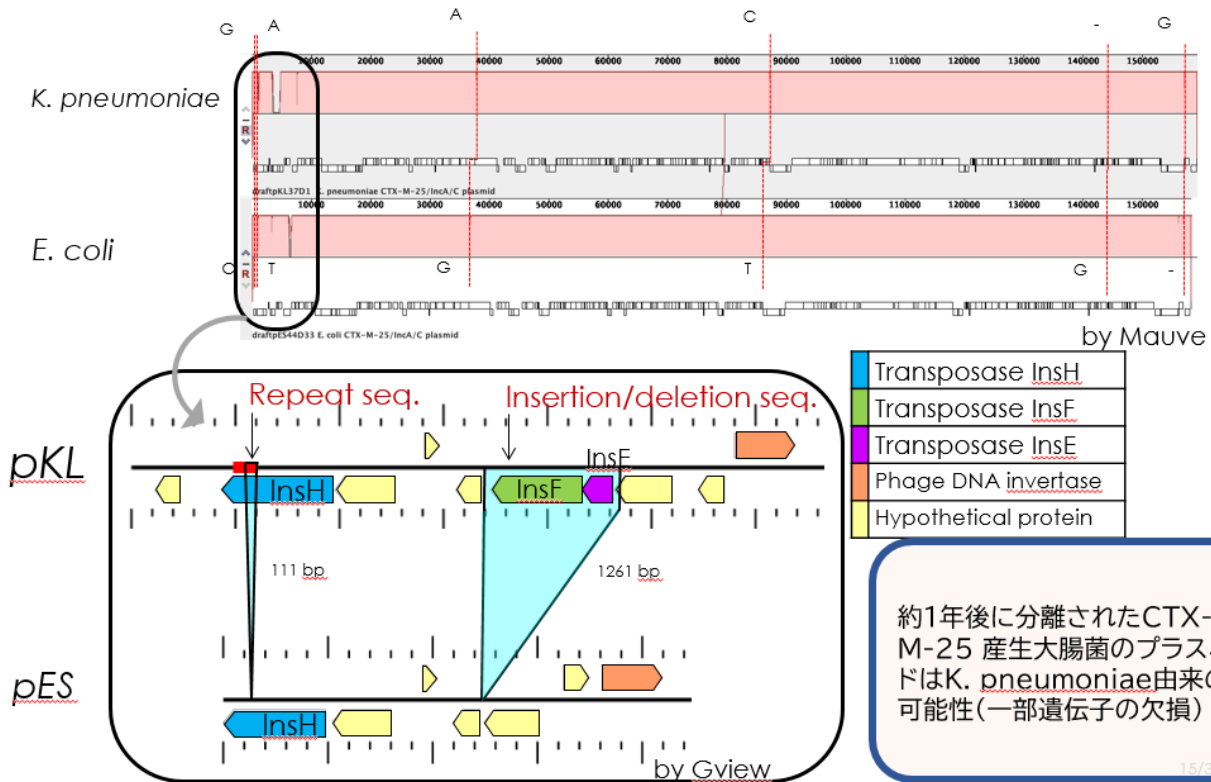


表4 死籠り卵検体におけるサルモネラ分離状況

採取年月日	検体数	陽性数	血清型（耐性パターン） ¹⁾
2018年11月12日	3	2	<i>S. Manhattan</i> (SM+TC)
2018年11月13日	3	3	<i>S. Manhattan</i> (SM+TC)
2018年11月26日	4	0	-
2018年11月27日	6	0	-
2018年12月6日	9	0	-
2018年12月7日	2	0	-
2018年12月8日	7	0	-
2018年12月21日	3	3	<i>S. Infantis</i> (SM+TMP)
2018年12月24日	5	4	<i>S. Infantis</i> (SM+TMP)
2019年1月7日	6	0	-
2019年2月12日	6	0	-
2019年8月8日	5	0	-
2019年12月12日	2	0	-
2019年12月13日	2	0	-
2019年12月14日	3	0	-
2019年12月18日	6	0	-
2020年1月16日	3	0	-
2020年1月17日	3	0	-
2020年1月18日	2	0	-
合計(%)	80	12 (15.0%)	

¹⁾SM; ストレプトマイシン, TC; テトラサイクリン,
TMP; トリメトプリム

表5 サルモネラ分離状況と分離株の性状

検体採取日	農場 記号	盲腸内容物			鶏肉（ムネ肉またはと体）		
		検体 数	陽性 数	血清型 ¹⁾ (薬剤耐性パターン) ²⁾	検体 数	陽性 数	血清型 (薬剤耐性パターン)
2018年6月25日	A	5	4	S. M (SM+TC)	1	1	S. M (SM+TC)
2018年7月2日	B	5	5	S. S (SM+TC)	1	1	S. M (SM+TC)
2018年7月9日	C	5	4	S. S (SM+TC)	1	1	S. M (SM+TC)
2018年7月17日	D	5	2	S. M (SM)	1	1	S. S (SM+TC)
2018年7月23日	E	5	1	S. S (SM+TC+TMP)	1	1	S. S (SM+TC+TMP)
2018年8月6日	F	5	1	S. S (SM+TC+TMP)	1	1	S. S (SM+TC+TMP), S. M (SM+TC)
2018年10月22日	G	5	2	S. M (SM+TC)	5	5	S. M (SM+TC)
2018年10月29日	H	5	4	S. M (SM+TC)	5	5	S. M (SM+TC)
2018年11月5日	I	5	3	S. M (SM+TC)	5	5	S. M (SM+TC)
2018年11月19日	J	5	3	S. S (SM+TC)	5	5	S. S (SM+TC), Untypable (SM+TC)
2018年11月26日	D	5	2	S. M (SM)	5	5	S. M (SM), S. S (SM+TC)
2018年12月4日	K	5	2	S. M (SM+TC)	5	5	S. M (SM+KM+TC), S. S (SM+KM+TC)
2018年12月11日	L	5	2	S. M (SM+TC)	5	5	S. M (SM+TC), S. S (SM+KM+TC+TMP)
2018年12月18日	F	5	3	S. M (SM)	5	5	S. M (SM), S. S (SM+KM+TC+TMP)
2019年1月8日	M	5	0	-	5	5	S. M (SM+TC)
2019年2月12日	N	5	4	S. S (SM+KM+TC+TMP)	5	5	S. S (SM+KM+TC+TMP)
2019年6月17日	O	5	4	S. S (SM+TC)	5	5	S. S (SM+TC)
2019年7月1日	P	5	5	S. M (SM+TC)	5	5	S. M (SM+TC), S. S (SM+KM+TC+TMP)
2019年7月8日	L	5	4	S. S (SM+KM+TC+TMP)	5	5	S. S (SM+KM+TC+TMP)
2019年7月22日	G	5	1	S. M (SM+TC)	5	5	S. M (SM+TC), S. S (SM+TC)
2019年7月29日	M	5	4	S. M (SM+TC)	5	5	S. M (SM+TC), S. S (SM+TC)
2019年8月5日	A	5	2	S. M (SM+TC)	5	5	S. M (SM+TC), S. S (SM+KM+TC+NA)
2019年8月26日	O	5	2	S. S (SM+TC)	5	5	S. M (SM+TC), S. S (SM+TC)
2019年10月28日	O	5	3	S. S (SM+TC)	5	5	S. M (SM+TC), S. S (SM+TC)
計		120	67		96	96	

¹⁾S. M; *S. Manhattan*, S. S; *S. Schwarzengrund*.

²⁾SM; ストレプトマイシン, KM; カナマイシン, TC; テトラサイクリン, NA; ナリジクス酸, TMP; トリメトプリム

表6 と殺豚（276頭）からのMRSA分離状況

検査頭数	陽性頭数	内訳
276	48	
		耳介背＋鼻腔内壁＋枝肉頸部 1
		耳介背＋鼻腔内壁 14
		耳介背 25
		鼻腔内壁 8

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）
平成 31 年度 分担研究報告書

食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究（H31-食品一般-006）
分担課題 食品等から分離される腸内細菌の薬剤耐性調査と遺伝学的伝播様式の解析

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・教授）
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・准教授）

研究要旨

この研究では、環境（家畜、食肉）からヒトへの伝播・拡散が危惧される多剤耐性腸内細菌科菌（ESBL 産生菌、AmpC 産生菌、伝達性コリスチン耐性菌）およびバンコマイシン耐性腸球菌（VRE）について国内で流通する食肉検体を調査し、検出・分離された耐性菌の解析を行った。2018 年度（2019 年 2～3 月）に収集した国内産食肉（鶏肉）100 検体、輸入食肉（鶏肉）90 検体の合計 190 検体を調査した。ESBL 産生菌は 46 検体陽性（24.2%）、AmpC 産生菌は 11 検体陽性（5.8%）であり、それらの分離頻度は昨年度と比較し、低いものであった（昨年度は ESBL 産生菌 39.8%、AmpC 産生菌 14.0%の検出率）。ESBL 産生菌は国産鶏肉から高頻度で検出され（国内産 36.0%、輸入 11.1%）、昨年と同様の傾向であった（昨年度は国内産 52.0%、輸入 25.6%）。AmpC 産生菌の検出率は国内産が 11.0%、輸入食肉が 0%と昨年と同様に国内産鶏肉の方が高かった（昨年度は国内産が 23.0%、輸入食肉が 3.5%）。それら耐性菌の遺伝子型の解析から ESBL 産生菌は国産肉では CTX-M 型（28%）と SHV 型（9%）が多く、輸入肉では CTX-M 型（7%）が多かった。CTX-M 型遺伝子として国内産では主に M2 型グループであり（約 2/3）、CTX-M2 が最も多く分離された（20 株中 19 株；95%）。輸入食肉では CTX-M 型グループ間の明確な差はなかった。AmpC 型遺伝子としては国内外共に CIT 型（CMY-2）のみが検出された。これら食肉から分離された多剤耐性腸内細菌科細菌 70 株中の 68 株は大腸菌であった。昨年同様、ESBL 産生菌として、染色体性に *fona* 遺伝子を保持する *Serratia fonticola* が輸入鶏肉から 1 株検出された。今年度に調査で、タイ産鶏肉 1 検体から伝達性耐性遺伝子 *mcr-1* を保持するコリスチン耐性菌を検出した。一方、国内産（宮崎）食肉 4 検体から VanN 型 VRE が検出された。PFGE 解析と MLST 解析の結果から、今回分離された株は以前より継続的に分離されて国内産鶏肉由来 VRE 株と同一の起源を持つ株であることが示唆された。リネゾリド耐性腸球菌の調査では、国内産鶏肉 45 検体（45%）と国外産鶏肉 1 検体から低度耐性株が検出され、その多くは *optrA* と *fexA* 遺伝子を保持する *E. faecalis* であった。*poxtA* を保持する腸球菌が国内産鶏肉から初めて分離された。

A. 研究目的

1) 臨床では多剤耐性の腸内細菌科菌（大腸菌、肺炎桿菌など）が急激に増加している。特に抗菌薬として最も多く使用されている β -ラクタム剤に対して高度耐性を示す ESBL 産生菌、および AmpC 産生菌の増加が深刻な問題となっている。また近年では、新たにカルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）やコリスチン耐性大腸菌なども問題となっている。これら多剤耐性腸内細菌科菌は環境（家畜）から畜産物、特に食肉を介してヒトへ伝播、拡散する危険性が指摘されている。本研究では食肉のこれら多剤耐性腸内細菌科菌の調査・解析を行い、その関連性を科学的に明確にすることを目的とした。

2) 多剤耐性のバンコマイシン耐性腸球菌 VRE は欧米で院内感染症の主な起因菌として深刻な問題となっている。ヨーロッパにおいては過去の家畜への肥育目的の抗菌薬（アボパルシン）使用による環境中での VRE の増加とそのヒトへの伝播、拡散が指摘されている。幸い日本国内では VRE の分離頻度は欧米に比較し低いが、近年、増加中であり複数件のアウトブレイクが臨床報告されている。しかし国内ではこれまで VRE に関する耐性機構の解析、伝播・拡散機構の解明、分子疫学研究は十分に行われていない。本研究では環境（家畜、食肉）由来 VRE と臨床分離 VRE との関係を明らかにする目的で、国内で流通する食肉における VRE の調査と解析を行った。また VRE などに対す

る新規抗菌薬であるリネゾリドに耐性を示す腸球菌株についても調査を行った。

B. 研究方法

食肉検体（表1）：国内産食肉は国内3ヶ所の食肉検査所から（鹿児島、宮崎、群馬）それぞれ鶏肉30あるいは40検体を収集した。海外食肉は各年度に検疫所で取り扱う輸入鶏肉（ブラジル産57検体、タイ産21検体、米国産10検体、スペイン産1検体、ポーランド産1検体の合計90検体）を収集した。各施設から送付された検体は速やかに凍結保存とし、順次融解の後、解析を行った。検出方法：

1) ESBL産生菌およびAmpC産生菌（腸内細菌科菌）の検出

国内の食肉衛生検査所で採集された肉の拭き取り材料を用いた。輸入肉はミンチ肉を用いた。それぞれABPC添加（40 mg/L）LB液体培地3 mlで一晩培養し、0.1 mlを二種類の薬剤添加DHL寒天培地（CAZを1 mg/LまたはCTXを1 mg/L含む）に塗布した。それぞれの平板上の発育コロニーを2個ずつ釣菌し、純培養後チトクロム・オキシダーゼ試験陰性菌のみを選択した。ESBLおよびAmpCの産生を確認するためにCTX、CAZに対するMIC値2 mg/L以上の株について阻害剤実験を行った。ESBL産生確認のためにクラブラン酸を、AmpC産生確認のためにボロン酸を用い、阻害剤存在下で寒天平板希釈法によりMIC値が1/8以下に低下する事（3管以上の差）が確認された株をそれぞれの産生株として以下の実験に用いた。各々の耐性遺伝子型（ESBL；TEM, SHV, CTX-M, およびAmpC；MOX, CIT, DHA, ACC, EBM, FOX）の確認には各種特異的プライマーを用いたPCR法を用いた。尚、今回の調査においては一つの食肉検体から釣菌した2株が同じ耐性パターンおよび耐性遺伝子型を示した際には、それらは同一株と考え、1株（1検体1株）として結果に示した（またその際は1株のみについて以下の実験を行った）。

上記の方法で分離された耐性株について耐性の接合伝達実験を行なった。受容菌として大腸菌実験株CSH55rif（リファンピシン耐性）を用い、膜フィルターを用いた接合伝達（37℃、8時間培養）を行った。選択培地にはCTXまたはCAZをそれぞれ1 mg/Lとリファンピシン40 mg/Lを含む寒天平板を用いた。接合伝達性を認めた株については、プラスミドのレプリコン型をPCR法によって調べた。

2) コリスチン耐性大腸菌の分離

食肉検体を薬剤非添加のL培地（液体）を用いて前培養し、その0.1 mlをコリスチン1 mg/L含有DHL寒天培地上に塗布し、培養した。平板上で発

育した赤色コロニーを釣菌し（1検体あたり2株）、純培養後に *mcr-1*~*mcr-5* の検出用プライマーを用いたコロニーPCRによって各耐性遺伝子の検出を行った。

3) VREの検出

培地；腸球菌分離にはEnterococcosel Broth (BBL)、Enterococcosel agar (BBL) およびBrain Heart Infusion agar (Difco) を使用。用いた薬剤；バンコマイシン (VCM)、テイコプラニン (TEIC)

腸球菌の分離；VRE検出のための選択的方法を用いた。検体のガーゼのふき取りサンプル、ミンチ肉片を、VCM 4 mg/L 加 Enterococcosel Broth で48時間選択的増菌後、VCM 4 mg/L 加 Bile Esculin Azide agar 選択培地に塗布し、得られたコロニーをVCM 4 mg/L 加 Brain Heart Infusion agar 上で単集落分離を行うことにより選択した。ミンチ肉浸潤液0.1 mlをVRE選択寒天培地に塗布した。選択用寒天平板の培養時間はすべて37℃、48時間培養。薬剤耐性検査は薬剤平板希釈法を用い、接種菌液は1夜液体培地培養後の菌を100倍希釈することにより用いた。VREの検出には *vanA*, *vanB*, *vanC1*, *vanC2/3*, *vanN*, 各種 *ddl* の特異的プライマーを用いたマルチプレックスPCR法を用いた。必要に応じてDNAシーケンス解析 (Big Dye primer 法)、PFGE解析、MLST解析を行った。

（倫理面への配慮）

全ての臨床分離株は患者個人を同定できる情報を含まない検体として収集し、本研究に用いた。

C. 研究結果

1) ESBL産生菌およびAmpC産生菌の調査・検出のために2018年度（2019年2月～3月）に収集した国内産鶏肉100検体、輸入鶏肉90検体の合計190検体を解析した（表1～表15、図1）。

ESBL産生菌は46検体陽性（24.2%）、AmpC産生菌は11検体陽性（5.8%）であり、それらの分離頻度は昨年度と比較し、低いものであった（昨年度はESBL産生菌39.8%、AmpC産生菌14.0%の検出率）。ESBL産生菌は国産鶏肉から高頻度で検出され（国内産36.0%、輸入11.1%）、昨年と同様の傾向であった（昨年度は国内産52.0%、輸入25.6%）。一方、AmpC産生菌の検出率は国内産が11.0%、輸入食肉が0%と昨年と同様に国内産鶏肉の方が高かった（昨年度は国内産が23.0%、輸入食肉が3.5%）。これら耐性菌の産地別の分離頻度は異なっており、特に国内産鶏肉ではその差は著しく、分離頻度が高いところでは50%～80%、低いところでは0%であった（表2、表3、表8、表9）。耐性菌の遺伝子型の解析から、ESBL産生菌は国産肉では

CTX-M 型 (28%) と SHV 型 (9%) が多く、輸入肉では CTX-M 型 (7%) が多かった。CTX-M 型遺伝子として国内産では主に M2 型グループであり (約 2/3)、CTX-M2 が最も多く分離された (20 株中 19 株; 95%)。輸入食肉では CTX-M 型グループ間の明確な差はなかった。AmpC 型遺伝子としては国内外共に CIT 型 (CMY-2) のみが検出された。食肉から分離される耐性株の遺伝子型の傾向として、全体の陽性率が低いためもあり、これまで比較的多かったブラジル産食肉由来耐性株に特異的とされる CTX-M8 型の ESBL 産生株の検出が少なかった (表 4、表 5、表 10~13)。

鶏肉由来 ESBL および AmpC 産生株 (国内産鶏肉由来 52 株と輸入鶏肉由来株 13 株) の合計 69 株について、寒天平板上で大腸菌実験株との接合伝達実験を行なった。その結果、国内産鶏肉由来 17 株 (32.7%) および輸入鶏肉由来株 7 株 (53.8%) については ESBL 遺伝子を伝達する株が見出され、これらの株においては耐性遺伝子が伝達性プラスミド上に存在していることが示唆された。プラスミドのレプリコン型を解析したところ、10 株が incI1 型で、4 株が incFIB 型であった (表 14)。

ESBL 産生株、AmpC 産生株 (国内 57 株、国外 13 株、合計 70 株) の菌種としては *Escherichia coli* が最多であり (68 株 97%)、国内産から *Pantonea agglomerans* と国外産から *Serratia fonticola* がそれぞれ 1 株ずつ分離された (表 6、表 15)。昨年度は ESBL 産生菌として、染色体性に *fonA* 遺伝子を保持する *Serratia fonticola* がブラジル産と米国産鶏肉から検出されたが、今年度も同種菌がタイ産鶏肉から検出された (表 7、図 1)。今年度は食肉検体から病原性細菌であるサルモネラ属は分離されなかった。

2) コリスチン耐性大腸菌の検出 (表 16)

コリスチン含有 DHL 培地 (1mg/L) に発育した (赤色コロニー形成) 大腸菌株について PCR を行ったところ、*mcr-1* 遺伝子陽性株 (コリスチン MIC: 16mg/L) がタイ産鶏肉 1 検体から検出された。MLST 解析では ST1246 に分類され、既知のクローナル・コンプレックス (クラスター形成) には属さない株であった。接合伝達実験を行ったところ、液体培地中でも高頻度でのコリスチン耐性の伝達性を認めた (供与菌当たり 3×10^{-4})。この耐性プラスミドの *Inc* は non-typeable であり (以前のブラジル産由来 *mcr-1* プラスミドは incX4)、他の薬剤耐性は示さなかった (表 16)。

3) VRE の検出 (図 2、図 3)

VRE について、今年度は VanN 型 VRE 型 VRE (*E. faecium*) 株が国産 (宮崎) 鶏肉 4 検体から検出された (図 2、図 3)。今回分離された 6 株の VanN 型 VRE について過去の本調査において国内鶏肉

から分離された VanN 型 VRE 株と比較解析を行った。PFGE 解析の結果、4 検体のうち 2 検体から分離された株はこれまでの本調査において、国産鶏肉から継続的に分離されてきた VanN 型 VRE (*E. faecium*) の 2 種類の株とそれぞれ類似のパターンを示した。また MLST 解析により、これらは PFGE 結果で示された類似株と同一の ST 型に分類され、互いに同一の起源を有する近縁株であることが確認された。

4) リネゾリド (LZD) 耐性腸球菌の検出 (表 17、表 18、図 4、図 5)

今年度は、食肉検体から LZD 耐性腸球菌の検出とその耐性遺伝子の解析を行った。その結果、国内産鶏肉 45 検体と国外産鶏肉 1 検体から LZD 低度耐性株 (MIC: 4-8 mg/L) が検出された。国内産の陽性検体は主に国産鶏肉からであり、特に群馬の全 40 検体から LZD 低度耐性 *E. faecalis* (*optrA+*, *fexA+*) 株が検出された。宮崎県産 4 検体から *E. faecium* (*poxtA+*, *fexB+*) 株、鹿児島県産 1 検体から *E. faecalis* (*poxtA+*) 株がそれぞれ検出された。またタイ産鶏肉 1 検体から *E. faecalis* (*optrA+*, *fexA+*) 株が検出された。これまでに国内産食肉からの *poxtA* 陽性腸球菌の検出の報告はなく、今回が初めてであった。また宮崎県産検体から分離された *E. faecium* (*poxtA+*, *fexB+*) の LZD 耐性の一部は伝達性を示した (図 5、表 18)。

D. 考察

ESBL/AmpC 産生株の調査においては、3 年前より検出方法を改善 (Ampicillin を添加した液体培地で前培養・増菌処理を行なう工程を追加) した以後、耐性菌の検出率は良好であると考えられる。一方で増菌処理により、少量の耐性菌の検出も可能となり、いわゆる定性的な検出方法による調査であるから、他の定量的な調査による結果とは、分離頻度の単純な比較はできず、解釈が異なることに留意する必要がある。

これまでの調査結果と比較し、ESBL 産生菌、AmpC 産生菌の分離頻度の傾向は類似しており、国外産鶏肉からは主に ESBL 産生菌が多く分離され (約 11%)、国産鶏肉からは ESBL 産生菌および AmpC 産生菌のいずれも比較的多く分離された (11~80%)。しかし、その分離頻度は全体的に徐々に低下してきている。一方で、これまで同様に、産地別の耐性菌の分離頻度、特に国内での分離頻度は著しく異なっており、今年も国内産食肉における ESBL/AmpC 産生株の検出頻度に著しい地域差を認めた。特に群馬県産食肉からは ESBL 産生あるいは AmpC 産生の腸内細菌科細菌が全く検出されずにオキシダーゼ陽性菌の発育のみであった。

一方で、全ての群馬県産検体から同一菌種、同一耐性型の LZD 耐性腸球菌株が検出されたことから、食肉処理過程での何らかの共通する事象、汚染等が疑われた（表 17、図 4）。しかし、群馬県の検体採取担当者に確認したところでは、例年通りにチラー水処理の前に拭き取り検査を行ったとの回答から、それについては不明であった。

近年、中国をはじめ海外の家畜環境中での、腸内細菌科細菌の伝達性コリスチン耐性遺伝子 *mcr* の急速な拡散と蔓延、ヒトへの伝播が危惧されているが、今回収集した鶏肉検体においては伝達性（プラスミド性）高度コリスチン耐性遺伝子（*mcr-1*）を保持する大腸菌株がタイ産鶏肉から検出された。他の調査、研究では、タイでの環境中へのコリスチン耐性菌の拡散と蔓延、流通食材への付着、汚染が報告されており、今回の結果は、それを反映したものと考えられる。

VRE に関しては、これまでの調査ではしばしば VanN 型 VRE (*E. faecium*) が検出されていたが、今年度の調査でも検出され、過去数年間に分離された株は全て同一の起源を持つ近縁株であることが明らかとなった。理由は不明ではあるが、ブラジルの養鶏環境において、遺伝背景が同じクローン株が存在し、拡散していることを強く示唆している。一方、これまでブラジル産鶏肉からしばしば分離されていた VanA 型 VRE 株はいずれの検体からも検出されなかった。

今年度の調査では新たにリネゾリド耐性腸球菌の検出とその解析を行った。リネゾリド (LZD) は VRE およびバンコマイシン耐性 MRSA (VRSA) など多剤耐性グラム陽性菌に有効なオキサゾリジノン系の新規治療薬である。LZD の臨床での使用量増加に伴い、今後の耐性菌の動向が注目されている。特に黄色ブドウ球菌や腸球菌で報告されたプラスミド性高度耐性遺伝子 *cfr* (23S rRNA メチル化酵素遺伝子) や耐性関連遺伝子 (*poxA*, *optrA*, *fexA*, *fexB*) の伝播と拡散が危惧されている。今回の調査では *cfr* 遺伝子陽性の高度耐性株は検出されなかったが、低度耐性株が国内外の食肉から分離された。特に LZD 耐性遺伝子 *optrA* と家畜用抗菌薬フロルフェニコール耐性遺伝子 *fexA* を共に保持する *E. faecalis* が国産鶏肉検体から多く分離された。また *poxA* を保持する腸球菌が国内産鶏肉から初めて分離され、一部は伝達性を示した。*poxA* の多くはプラスミド性 *cfr* と隣接して存在し、その関連性が報告されていることから今後の動向に注意する必要がある。

E. 結論

ESBL 産生または AmpC 産生の多剤耐性腸内細菌科菌（主に大腸菌）が一部の国内産鶏肉の約 4 割

から、また輸入鶏肉全体の約 1 割から、それぞれ検出された。一方、タイ産の鶏肉検体からは伝達性高度コリスチン耐性大腸菌を検出した。VanN 型 VRE 株が国産鶏肉 4 検体から検出された。リネゾリド低度耐性腸球菌が、主に国内産鶏肉から検出された。

F. 健康危険情報

（分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入）

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hashimoto Y, Taniguchi M, Uesaka K, Nomura T, Hirakawa H, Tanimoto K, Tamai K, Ruan G, Zheng B, Tomita H. Novel multidrug-resistant enterococcal mobile linear plasmid pELF1 encoding *vanA* and *vanM* gene clusters from a Japanese vancomycin-resistant enterococci isolate. *Front Microbiol.* (2019) 10: 2568.
- 2) Hirakawa H, Takita A, Kato M, Mizumoto H, Tomita H. Roles of CytR, an anti-activator of cyclic-AMP receptor protein (CRP) on flagellar expression and virulence in uropathogenic *Escherichia coli*. *Biochem Biophys Res Commun.* (2020) 521: 555-561.
- 3) Hirakawa H, Suzue K, Kurabayashi K, Tomita H. The Tol-Pal system of uropathogenic *Escherichia coli* is responsible for optimal internalization into and aggregation within bladder epithelial cells, colonization of the urinary tract of mice, and bacterial motility. *Front Microbiol.* (2019) 10: 1827.

2. 学会発表

- 1) 谷本弘一, 野村隆浩, 橋本佑輔, 平川秀忠, 富田治芳. 「輸入トリ肉から分離された FONA 産生 *Serratia fonticola*」第 93 回日本細菌学会総会（名古屋 2020 年 2 月 20 日）
- 2) 野村隆浩, 谷本弘一, 渡邊治雄, 富田治芳. 「鶏肉より分離したリネゾリドに対して低度耐性を示す腸球菌の解析」第 93 回日本細菌学会総会（名古屋 2020 年 2 月 19 日）

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他

表1. 2019年収集検体

国内産鶏肉(拭き取りスワブ)

	鹿児島県	宮崎県	群馬県	合計
検体数	30	30	40	100

海外産鶏肉(ミンチ肉)

	ブラジル	タイ	米国	スペイン	ポーランド	合計
検体数	57	21	10	1	1	90

表2. ESBL/AmpC産生腸内細菌科細菌

輸入鶏肉90検体：陽性**検体数**

耐性遺伝子	耐性菌陽性 検体数
ESBL*	10 (11.1 %)
AmpC	0 <small>AmpC産生株は分離されず</small>
ESBL or AmpC	10 (11.1 %)

* FONAをESBLとして集計

CAZ、CTXの選択平板にはコロニーが得られるが殆どのコロニーがOxidase-positiveのため除外された

表3. 輸入鶏肉：陽性検体数

ブラジル (57検体)	耐性菌陽性検体数
ESBL	7 (12.3 %)
AmpC	0
タイ (21検体)	耐性菌陽性検体数
ESBL	2 (9.5 %)
AmpC	0
アメリカ (10検体)	耐性菌陽性検体数
ESBL	1 (10.0 %)
AmpC	0

表4. 輸入鶏肉: ESBL型別**検体数**

遺伝子型	陽性 検体数
CTX-M	6 (60 %)
SHV	3 (30 %)
FONA	1 (10 %)
計	10

表5. 輸入鶏肉: ESBL/AmpC型別株数

TEM-1 + SHV2a	1 (7.7 %)
SHV	4 (30.8 %)
CTX-M-1Gp (M55)	2 (15.4 %)
CTX-M-1Gp (M55) + TEM-1	1 (7.7 %)
CTX-M-2Gp (M2)	2 (15.4 %)
CTX-M-8/25Gp (M8)	2 (15.4 %)
FONA	1 (7.7 %)
計	13 (Tra ⁺ : 7)

8/25Gpの1株がアメリカ産検体由来、1Gpの1株とFONAの1株がタイ産検体由来で、
他はブラジル産検体由来
Tra^{+/-}は寒天平板上での接合伝達

表6. 輸入鶏肉: ESBL/AmpC産生株菌種

菌種	株数
<i>E. coli</i>	12 (92.3 %)
<i>Serratia fonticola</i>	1 (7.7 %)
計	13

表7. 輸入鶏肉から分離された *fonA*保有*S. fonticola*の薬剤感受性

β-lactam耐性以外に目立った耐性は持っていない

Strain	KT	分離年	原産国	受入 税関	ABPC	CAZ	CAZ/C VA	CTX	CTX/C VA	IPM	MEPM	GM	KM	SM	AMK	TC	CPFX
113	2480	2018	ブラジル	東京	128<	≤1	0.5	>128	0.5	0.5	≤0.25	≤0.25	0.5	0.5	0.5	4	≤0.25
126	2481	2018	ブラジル	那覇	128<	≤1	0.25	16	≤0.25	≤0.25	≤0.25	≤0.25	≤0.25	0.5	≤0.25	2	≤0.25
149	2482	2018	ブラジル	小樽	128<	≤1	0.25	4	≤0.25	0.5	≤0.25	≤0.25	≤0.25	0.5	≤0.25	4	≤0.25
157	2483	2018	US	神戸	128<	≤1	0.5	64	1	1	≤0.25	≤0.25	0.5	2	0.5	4	≤0.25
140	2520	2019	タイ	大阪	128<	≤1	0.5	8	≤0.25	0.5	≤0.25	≤0.25	0.5	1	0.5	4	≤0.25

図1. bla_{FONA} と bla_{CTX-M} 遺伝子の系統樹解析



表8. ESBL/AmpC産生腸内細菌科細菌

国産鶏肉100検体：陽性**検体数**

地域	耐性菌陽性 検体数
宮崎 (30)	24 (80.0 %)
群馬 (40)	0 <small>(殆どのコロニーがOxidase-positive)</small>
鹿児島(30)	15 (50.0 %)
合計 (100)	39 (39.0 % <small>(群馬を除くと65.0 %)</small>)

表9. 国産鶏肉：陽性検体数

宮崎 (30検体)	検体数 (陽性24検体中)
-----------	---------------

ESBL	24 (80.0 %)
------	-------------

AmpC	3 (10.0 %)
------	------------

群馬 (40検体)	陽性検体なし
-----------	--------

殆どのコロニーがOxidase-positive

鹿児島(30検体)	検体数 (陽性15検体中)
-----------	---------------

ESBL	12 (40.0 %)
------	-------------

AmpC	8 (26.7 %)
------	------------

表10. 国産鶏肉：耐性遺伝子（検体数）

	宮崎	鹿児島	合計
TEM*	1	3	4 (4 %)**
SHV	6	3	9 (9 %)
CTX-M	22	6	28 (28 %)
AmpC (CIT)	3	8	11 (11 %)

*TEMはESBL

**群馬を含め総検体数を100としたときの割合

表11. 国産鶏肉：耐性遺伝子(株数)

	宮崎	鹿児島	合計
TEM*	1	3	4
SHV	6	3	9
CTX-M	24	6	30
AmpC (CIT: CMY-2)	3	9	12

*4株のTEMはESBL

表12. 国産鶏肉：CTX-M型別（株数）

	宮崎	鹿児島	合計
CTX-M-1Gp	5	0	5 (16.7 %)
CTX-M-2Gp	15	5	20 (66.7 %)
CTX-M-8/25Gp	1	0	1 (3.4 %)
CTX-M-9Gp	3	1	4 (13.3 %)

表13. 国産鶏肉：CTX-M型別（株数）

Group	宮崎	鹿児島	合計
Gp 1	5 (M15: 3, M55: 2)	0	5 (16.7 %)
Gp 2	15 (M2: 14, M97: 1)	5 (M2)	20 (66.7 %)
Gp 8/25	1 (M25)	0	1 (3.4 %)
Gp 9	3 (M14)	1 (M14)	4 (13.3 %)

表14. Tra⁺株と*inc* group

<i>inc</i> group	輸入	国内産
A/C		1
FIB	2	2
I1	5	5
L/M		1
X		1
non-typeable		7
Tra ⁺ 株 (総株数)	7 (13)	17 (52)

ABPC^r(40mg/L)伝達性を示した株のtransconjugantを用いてPCRにて判定

表15. 国産鶏肉:ESBL/AmpC産生菌菌種

菌種	株数
<i>E. coli</i>	56 (98.2 %)
<i>Pantoea agglomerans</i>	1 (1.8 %)
計	57

表16. *mcr-1*⁺ *E. coli*の感受性試験

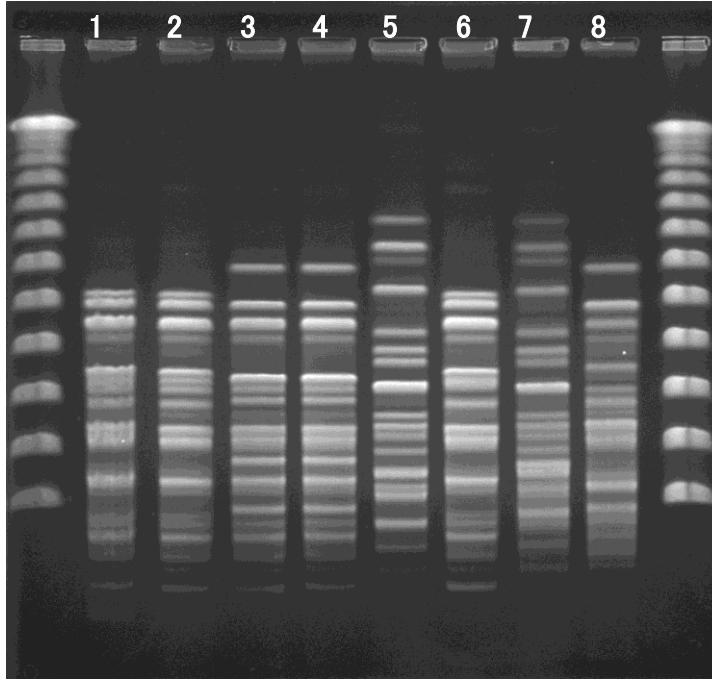
KT#	分離年	原産国	受入税関	ABPC	IPM	MEPM
#84	2518	タイ	福岡	4	≤0.25	≤0.25
#213	2519	タイ	福岡	4	≤0.25	≤0.25

GM	KM	SM	AMK	TC	CPFX	COL
≤0.25	2	2	1	4	≤0.25	16
≤0.25	2	2	1	4	≤0.25	16

(mg/L)

図2. VanN型VRE (*E. faecium*) 株のPFGE解析

- 12.1は2009年度に宮崎県の検体から分離された株(AA-22)と類似
- 7.1と7.2は2011年度に宮崎県の検体から分離された株(AA-80)と類似



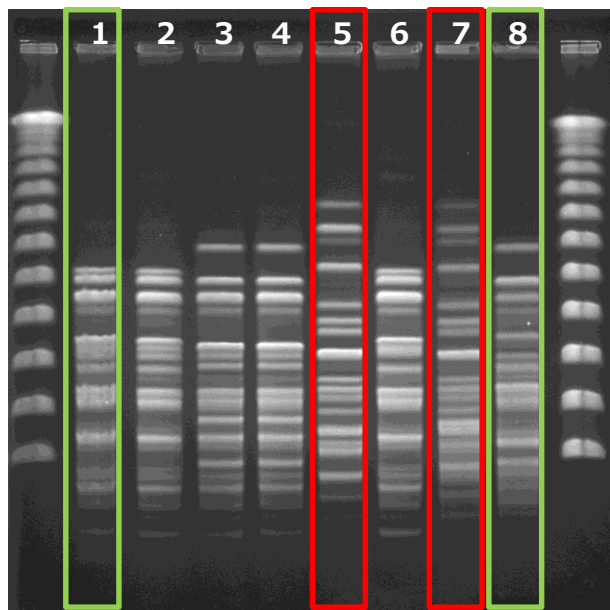
AA-22: 2009年度宮崎県より分離
AA-80: 2011年度宮崎県より分離

*Sma*I digest

Lane No.	衛生検査所No.	採取農場及び鶏舎	検査所	県	送付年月日	処理年月日	菌種	遺伝子型	Glycopeptide耐性値 (MIC, µg/ml) (E-TEST)	
									Vancomycin	Teicoplanin
1	2.1	A	宮崎高崎食肉衛生検査所	宮崎県	平成31年2月13日	平成31年3月7日	<i>E. faecium</i>	<i>vanN</i>	8	1.5
2	2.2	A	宮崎高崎食肉衛生検査所	宮崎県	平成31年2月13日	平成31年3月7日	<i>E. faecium</i>	<i>vanN</i>	6	0.75
3	7.1	A	宮崎高崎食肉衛生検査所	宮崎県	平成31年2月13日	平成31年3月7日	<i>E. faecium</i>	<i>vanN</i>	8	1.5
4	7.2	A	宮崎高崎食肉衛生検査所	宮崎県	平成31年2月13日	平成31年3月7日	<i>E. faecium</i>	<i>vanN</i>	8	1.5
5	12.1	C	宮崎高崎食肉衛生検査所	宮崎県	平成31年2月13日	平成31年3月7日	<i>E. faecium</i>	<i>vanN</i>	8	2
6	21.1	D-3	宮崎高崎食肉衛生検査所	宮崎県	平成31年2月13日	平成31年3月7日	<i>E. faecium</i>	<i>vanN</i>	8	2
7	AA-22		宮崎高崎食肉衛生検査所	宮崎県	2009年度分離		<i>E. faecium</i>	<i>vanN</i>	8	1.5
8	AA-80		宮崎高崎食肉衛生検査所	宮崎県	2011年度分離		<i>E. faecium</i>	<i>vanN</i>	12	1

図3. VanN型VRE (*E. faecium*) 株の MLST解析

- ・2.1は2009年度に宮崎県の検体から分離した株(AA-22)と同一のST669
- ・12.1は2011年度に宮崎県の検体から分離した株(AA-80)と同一のST862



AA-22: 2009年度宮崎県より分離

AA-80: 2011年度宮崎県より分離

UCN71: 2008年にフランスで分離され2011年に報告された株

Lane No.	strain	allelic profile							ST
		<i>atpA</i>	<i>ddl</i>	<i>gdh</i>	<i>purK</i>	<i>gyd</i>	<i>pstS</i>	<i>adk</i>	
1	2.1	9	8	14	58	6	27	6	669
5	12.1	72	13	9	33	10	19	6	862
7	AA-22	72	13	9	33	10	19	6	862
8	AA-80	9	8	14	58	6	27	6	669
	UCN 71	25	13	9	33	10	19	6	240

表17-1. リネゾリド耐性腸球菌の検出①

- LZD低度耐性株(4 mg/L)を46検体から合計88株分離
- 宮崎県4検体5株、鹿児島県1検体1株、群馬県40検体80株、タイ1検体2株

群大No.	検体番号	検体採取鶏舎 (検体採取農場)	送付機関名	検体採取機関名 (検疫所又は検査所)	原産国名	送付年月日	処理年月日	菌種 (DDL)	poxtA	optrA	fexA	fexB
6	6	1 2	A	宮崎高崎食肉衛生検査所	宮崎県	平成31年2月13日	平成31年3月7日	<i>E. faecium</i>	+	-	-	+
17	17	2	D-1	宮崎高崎食肉衛生検査所	宮崎県	平成31年2月13日	平成31年3月7日	<i>E. faecium</i>	+	-	-	+
19	19	2	D-2	宮崎高崎食肉衛生検査所	宮崎県	平成31年2月13日	平成31年3月7日	<i>E. faecium</i>	+	-	-	+
22	22	2	D-3	宮崎高崎食肉衛生検査所	宮崎県	平成31年2月13日	平成31年3月7日	<i>E. faecium</i>	+	-	-	+
97	鹿児島-27	2	F18-4	鹿児島県鹿屋食肉衛生検査所	鹿児島県	平成31年2月26日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	+	-	-	-
169	66348559	1		神戸検疫所輸入食品・検疫検査センター	大阪		平成31年4月18日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
169	66348559	2			タイ	平成31年2月19日		<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
31	1	1 2	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
32	2	1 2	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
33	3	1 2	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
34	4	1 2	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
35	5	1 2	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
36	6	1 2	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
37	7	1 2	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
38	8	1 2	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
39	9	1 2	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
40	10	1 2	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
41	11	1 2	A-2	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
42	12	1 2	A-2	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
43	13	1 2	A-2	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
44	14	1 2	A-2	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
45	15	1 2	A-2	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-

表17-2. リネゾリド耐性腸球菌の検出②

群大No.	検体番号	検体採取鶏舎 (検体採取農場)	検体採取機関名 (検疫所又は検査所)	送付機関名	原産国名	送付年月日	処理年月日	菌種 (DDL)	poxtA	optrA	fexA	fexB
46	16	1	A-2	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
47	17	1	A-2	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
48	18	1	A-2	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
49	19	1	A-2	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
50	20	1	A-2	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
51	21	1	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
52	22	1	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
53	23	1	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
54	24	1	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
55	25	1	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
56	26	1	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
57	27	1	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
58	28	1	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
59	29	1	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
60	30	1	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
61	31	1	B-2	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
62	32	1	B-2	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
63	33	1	B-2	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
64	34	1	B-2	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
65	35	1	B-2	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
66	36	1	B-2	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
67	37	1	B-2	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
68	38	1	B-2	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
69	39	1	B-2	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
70	40	1	B-2	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	平成31年2月25日	平成31年3月7日	<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-
		2						<i>E. faecalis</i>	-	+	+	-

図4. LZD耐性腸球菌株のPFGE解析

- 宮崎県で検出されたLZD低度耐性株は6.1株、6.2株が違う消化パターンを示したが他の株はほぼ同一のパターンを示した
- 群馬県で検出された80株はほぼ同一のパターンを示した(写真の一部のみ)
- 国または県を跨いでの同一パターンの株は存在しなかった

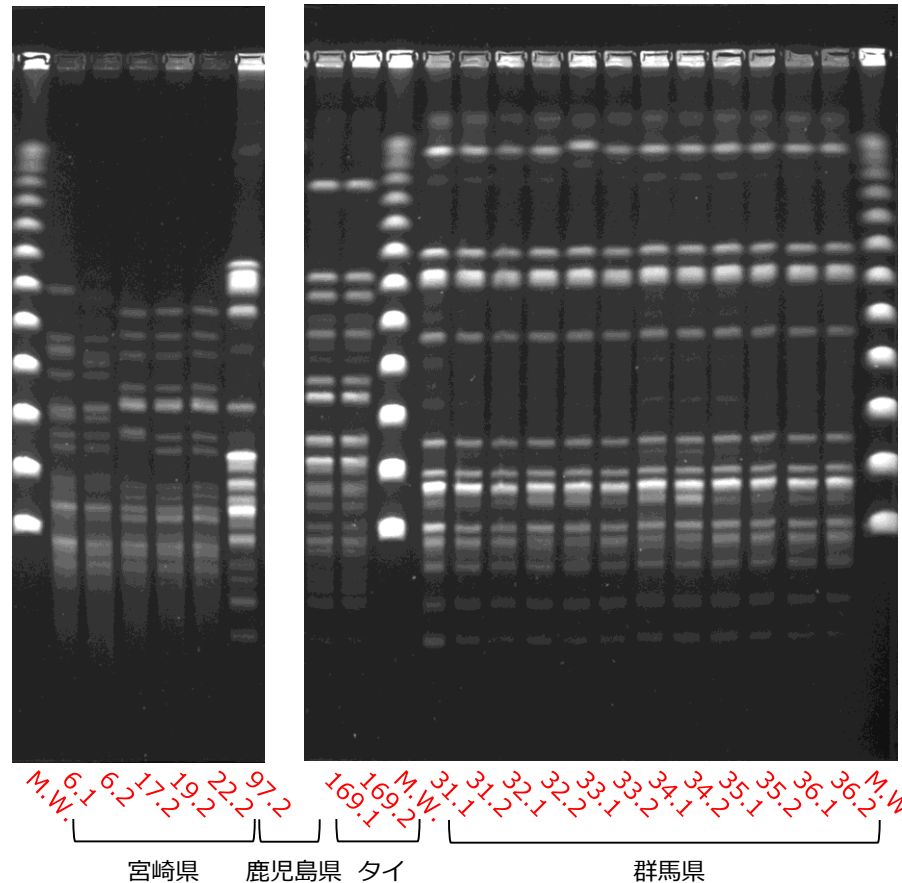
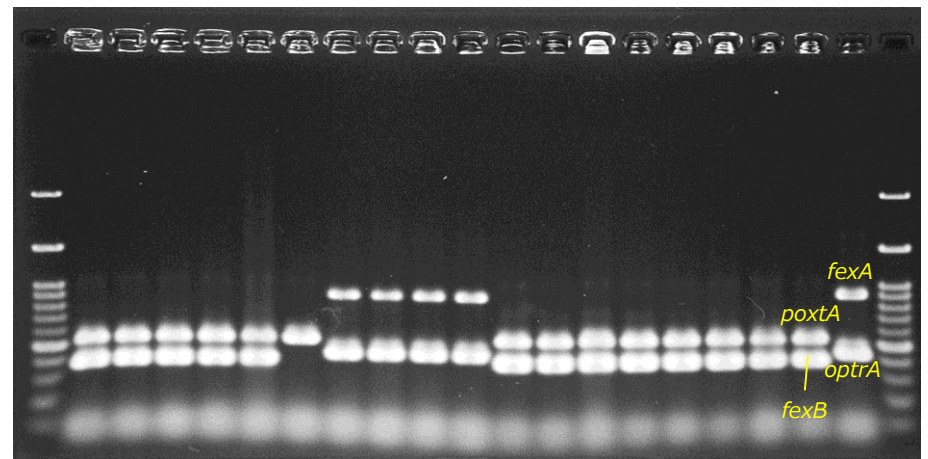
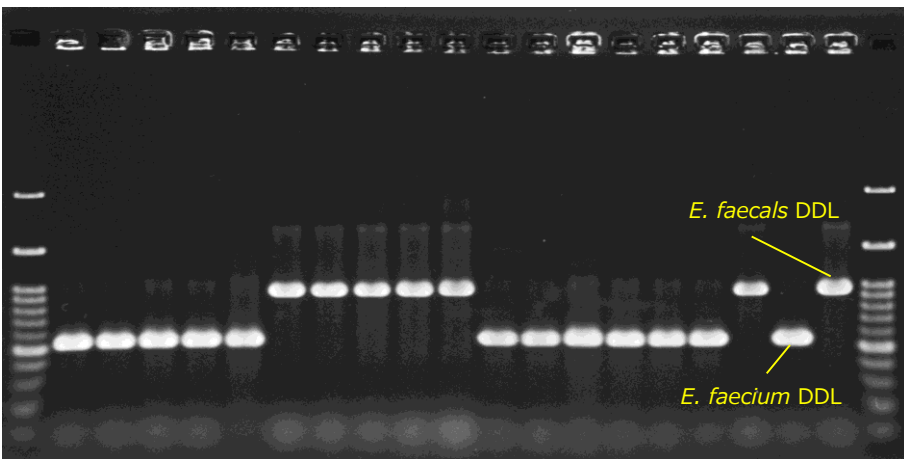


図5. LZD耐性腸球菌の菌種と耐性遺伝子の同定

- 既知のプラスミド性LZD耐性遺伝子(*optrA*、*poxtA*、*cfr*)、および薬剤排出型フロルフェニコール耐性遺伝子(*fexA*、*fexB*)に対するMultiplex PCRを行った
- 腸球菌種に特異的なDDL遺伝子プライマーを用いたMultiplex PCRを行った
- 宮崎県産鶏肉から分離された株はすべて*poxtA*と*fexB*を持つ*E. faecium*
- 鹿児島県産鶏肉から分離された株は*poxtA*のみを持つ*E. faecalis*
- 群馬県産鶏肉から分離された株はすべて*optrA*と*fexA*を持つ*E. faecalis*



6.1 6.2 17.2 19.2 22.2 97.2 169.1 169.2 31.1 32.1 B6.1.5 B6.1.6 B6.1.7 B6.2.1 B6.2.5 F6.2.8 P.C.1 P.C.2
 宮崎県 鹿児島県 タイ 群馬県 6.1伝達株 6.2伝達株 コントロール株

6.1 6.2 17.2 19.2 22.2 97.2 169.1 169.2 31.1 32.1 B6.1.5 B6.1.6 B6.1.7 B6.2.1 B6.2.5 B6.2.8 F6.2.8 P.C.1 P.C.2
 宮崎県 鹿児島県 タイ 群馬県 6.1伝達株 6.2伝達株 コントロール株

表18. LZD耐性腸球菌株のMIC値

- LZD低度耐性10株(宮崎県5株、鹿児島県1株、群馬県2株)と6.1株と6.2株の耐性伝達株(B6.1.5, 7, 8、B6.2.1, 5, 8, F6.2.1)のMIC値を測定
- 6.1株と6.2株のLZD耐性は他のアンピシリン、ビアペネム、テトラサイクリンの各耐性とは独立して伝達

No.	MIC (mg / L)																		
	LZD	FFC	CP	EM	LCM	TC	TGC	CPFX	FOS	ABPC	BIPM	VCM	TEIC	SM	KM	SPC	GM	RFP	FA
6.1	2	32	8	≥256	≥256	128	≤1	8	32	64	≥256	≤1	0.5	16	≥256	≥256	≤8	≤1	2
6.2	4	32	8	≤1	16	128	≤1	8	32	64	≥256	≤1	0.5	16	64	≥256	≤8	≤1	2
17.2	4	32	8	≤1	16	128	≤1	32	32	64	≥256	2	0.5	≥256	64	32	≤8	≤1	2
19.2	8	32	8	≤1	16	128	≤1	32	32	64	≥256	2	0.5	≥256	64	64	≤8	≤1	2
22.2	4	32	8	≤1	16	128	≤1	32	32	64	≥256	2	0.5	≥256	64	64	≤8	≤1	2
97.2	4	16	4	≤1	64	128	≤1	2	32	≤1	4	2	0.25	64	≥256	64	≥256	≤1	2
169.1	4	64	16	≥256	≥256	128	≤1	2	32	≤1	2	4	0.5	64	≥256	≥256	16	≤1	2
169.2	4	64	16	≥256	≥256	128	≤1	2	32	≤1	2	4	0.5	64	≥256	≥256	16	≤1	2
31.1	4	128	16	8	≥256	128	≤1	2	32	≤1	4	2	0.5	64	64	≥256	16	≤1	4
32.1	4	128	64	≥256	≥256	≥256	≤1	2	32	≤1	4	2	0.25	64	≥256	≥256	≥256	≤1	4
B6.1.5	8	128	16	≤1	32	≤1	≤1	2	32	≤1	8	≤1	0.5	16	≥256	128	≤8	≥256	128
B6.1.6	8	128	16	≤1	32	≤1	≤1	2	32	≤1	8	≤1	0.5	16	≥256	128	≤8	≥256	128
B6.1.7	4	64	8	≤1	16	≤1	≤1	2	64	≤1	8	≤1	0.5	16	≥256	64	≤8	≥256	128
B6.2.1	4	64	8	≤1	32	≤1	≤1	2	32	≤1	8	≤1	0.5	16	≥256	128	≤8	≥256	128
B6.2.5	8	128	16	≤1	32	≤1	≤1	2	32	≤1	8	≤1	0.5	16	≥256	128	≤8	≥256	128
B6.2.8	8	128	16	≤1	32	≤1	≤1	2	32	≤1	8	≤1	0.5	16	≥256	128	≤8	≥256	128
F6.2.1	4	32	4	≤1	32	≤1	≤1	2	128	≤1	8	2	0.5	64	64	64	16	≥256	≥256
BM4105RF	2	2	≤1	2	32	≤1	≤1	2	32	≤1	16	2	0.25	16	≥256	128	≤8	≥256	≥256
FA2-2	2	2	2	2	64	≤1	2	2	128	≤1	8	2	0.5	64	64	64	16	≥256	≥256
ATCC29212	2	2	2	2	64	32	2	2	32	≤1	2	4	0.5	64	32	64	≤8	≤1	2

研究課題名：食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究

分担課題名：ヒト・家畜・食品等由来耐性菌が保有する薬剤耐性伝達因子の解析及び伝達過程の関連性の解明

研究分担者：石井 良和 東邦大学医学部微生物・感染症学講座・教授

研究協力者：青木 弘太郎（東邦大学医学部微生物・感染症学講座）

研究要旨

患者・家畜・食品および伴侶動物由来の薬剤耐性菌から検出される薬剤耐性伝達因子の伝達過程を明らかにすることは、それらの拡散制御方法を策定する上で重要な情報である。我々のグループでは、本邦において第三セファロスポリン系薬剤耐性大腸菌が広く拡散する以前の菌株を対象として、薬剤耐性伝達因子を塩基配列レベルで明らかにした。また、ペットおよび飼主の糞便から同一遺伝子型の基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼが陽性の大腸菌を分離した。

A. 研究目的

近年、国内外において、患者、家畜、食肉、および伴侶動物からプラスミドに媒介される基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) およびコリスチン耐性遺伝子陽性腸内細菌科細菌が分離され、問題となっている。本研究では、ヒト・家畜・伴侶動物間での薬剤耐性遺伝子の伝達過程を明らかにすることを目的とした。

B. 研究方法

大きく以下の 2 つの方法により本研究を実施した。

[1] 本邦で ESBL が拡散する以前の ESBL 産生大腸菌保存菌株を対象とした全ゲノム解析 (表 1)

[2] 伴侶動物およびその飼い主の糞便を対象に分離・収集した ESBL/AmpC 産生大腸菌の全ゲノム解析 (表 2)

全ゲノム解析は次世代シーケンサーの MiSeq (イルミナ) および MinION (オックスフ

ード ナノポアテクノロジー) により行った。2 機種から出力された塩基配列を *in silico* で組み合わせた *de novo assembly* により、完全長ゲノム (各複製単位で環状化) 塩基配列の取得を試みた。得られたゲノムを分子疫学および分子生物学的見地から解析し、得られた結果について解釈した。

糞便からの大腸菌および ESBL/AmpC 産生大腸菌の分離培養には、クロモアガー-ECC およびクロモアガー-ESBL (関東化学) を用いた。

(倫理面への配慮)

人を対象とする医学系研究に関する倫理指針および病原体等安全管理規程を遵守して本研究を行った。

C. 研究結果

1996 年~2001 年に臨床材料および健常ブローラーより分離された ESBL あるいは AmpC 型 β -ラクタマーゼ陽性大腸菌それぞれ 12 株および

16株を対象に全ゲノム解析を行った(表1)。その結果、臨床材料から分離された大腸菌は全株が *bla*_{CTX-M-14} 陽性だった。一方、健常ブロイラー由来 ESBL 陽性大腸菌は11株が *bla*_{CMY-2} 陽性、5株が *bla*_{CTX-M-2} 陽性だった。*bla*_{CTX-M-14} 陽性株のうち、9株が sequence type (ST) 405, 1株ずつに ST10, ST62, および ST68 だった(図1)。*bla*_{CMY-2} 陽性株はすべてが異なる ST に属する大腸菌だった。うち3株は *bla*_{CMY-2} が plasmid sequence type (pST) 3 に属する不和合性グループ IncA/C プラスミドに搭載されていた(図2)。それらのプラスミドは過去に米国でヒトおよびウシから検出されたプラスミドと骨格構造が酷似していた(図3)。5株のうち3株から検出された *bla*_{CTX-M-2} 搭載 pST5 に属する IncN プラスミドは、2009年に検出された *bla*_{CTX-M-2} および *bla*_{IMP-6} 搭載プラスミドに骨格が酷似していた(図4)。ペットおよびその飼主の糞便サンプルは、40組のボランティアに採便キットを送付し、22組分回収された(表2)。そのうち1組でペットおよび飼主から *bla*_{CTX-M-9} グループが共通して陽性の大腸菌が検出された。さらに、飼主のみから *bla*_{CTX-M-9} グループ陽性大腸菌が検出された組、猫のみから *bla*_{CTX-M-1} グループ陽性大腸菌が検出された組が認められた。今後、残りの18組の採便キットの回収および、分離菌の全ゲノム解析を実施する。

D. 考察

第三世代セファロスポリン系薬耐性大腸菌から検出された ESBL/AmpC 遺伝子型は、由来別に明らかに偏っていた。近年、特定の薬剤耐性遺伝子を媒介する流行プラスミド骨格が報告されつつあるが、*bla*_{CMY-2} は IncA/C-pST3 プラスミ

ドにより広く拡散したことが強く示唆された。また、*bla*_{CTX-M-2} が大阪地域における *bla*_{IMP-6} 陽性腸内細菌科細菌の大規模アウトブレイクの原因となった菌株から検出された IncN-pST5 プラスミドから検出されたことは、流行プラスミドの観点から極めて興味深い。

E. 結論

薬剤耐性遺伝子ごとに媒介するプラスミドの特徴が異なっていた。本研究の結果から、薬剤耐性遺伝子のみならず、それらを媒介するプラスミドの拡散にも注意を向ける必要性が示唆された。

F. 健康危険情報

(分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入)

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表 1. 供試大腸菌の保有薬剤耐性遺伝子、由来および分離年次

ESBL/AmpC	年次	ヒト由来 (株)	動物由来 (株)
<i>bla</i> _{CTX-M-14}	1996	9	0
	1999	1	0
	2001	2	0
<i>bla</i> _{CMY-2}	1999	0	2
	2000	0	6
	2001	0	1
	2009	0	2
<i>bla</i> _{CTX-M-2}	2001	0	3
	2004	0	1
	計	12	15

表 2. ペットおよびその宿主糞便から分離された ESBL 産生大腸菌

ペット種	ペア数	ESBL 産生大腸菌	
		宿主	ペット
犬	14	2 (<i>bla</i> _{CTX-M-9G})*	1 (<i>bla</i> _{CTX-M-9G})*
猫	8	0	1 (<i>bla</i> _{CTX-M-1G})
未返送	18	-	-
計	40	2	2

*1 株が同一ペア由来

図 1. *bla*_{CTX-M-14} 陽性大腸菌の遺伝的背景と薬剤耐性遺伝子の周辺構造

CTX-M-14 (MiSeqのみ)

大腸菌遺伝的背景と*bla*_{CTX-M-14}の周辺構造

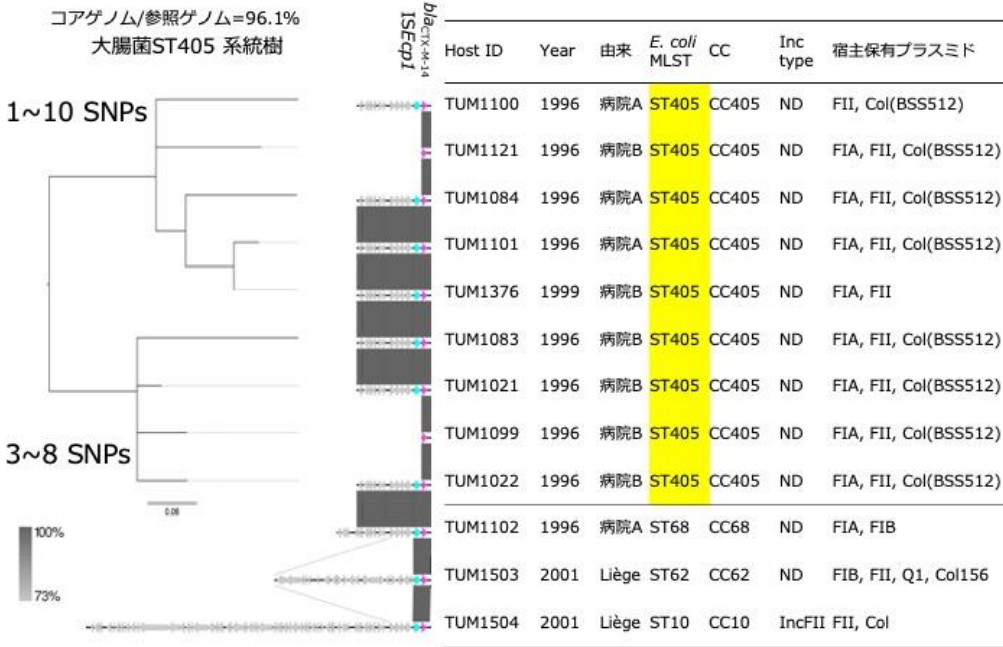


図 2. *bla*_{CMY-2} 周辺構造と宿主大腸菌の関係

CMY-2 (MiSeq+MinION)

*bla*_{CMY-2} 周辺領域と宿主大腸菌の関係

約98.5Kb 部分配列

図 3. *bla*_{CMY-2} 搭載 IncA/C-pST3 プラスミドの構造比較

CMY-2 (MiSeq+MinION)

*bla*_{CMY-2} 搭載 IncA/C-ST3 プラスミド

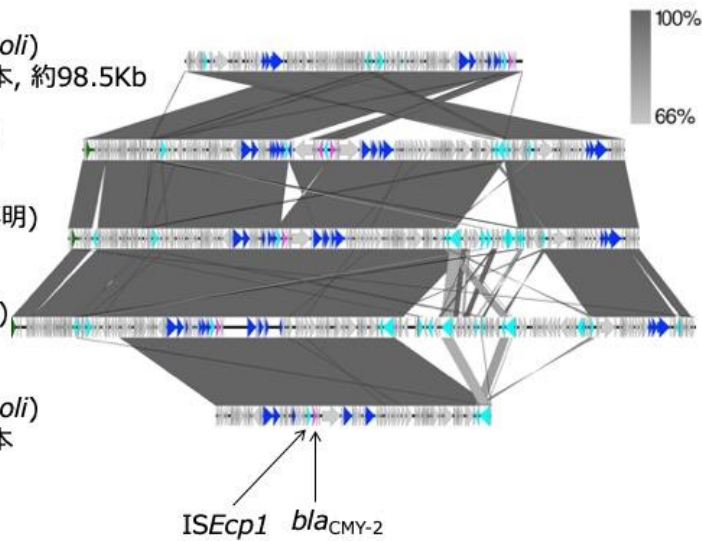
pC11-C-217¹ Partial (*E. coli*)
健康プロイラー, 1999, 日本, 約98.5Kb

pAM04528² (*S. Newport*)
ヒト, 1998, 米国

pAR060302² (*E. coli* ST不明)
ウシ, 2002, 米国

pYDC367³ (*E. coli* ST不明)
ヒト, 2013, 米国

pC12-C-140¹ Partial (*E. coli*)
健康プロイラー, 2000, 日本



¹本研究

²AAC. 2010 Feb;54(2):590-6.

³AAC. 2015 Jul;59(7):4360-1.

水色：トランスポゼース遺伝子
青：接合伝達関連遺伝子

図 4. *bla*_{CTX-M-2} 搭載 IncN-pST5 プラスミドの構造比較

CTX-M-2 (MiSeq+MinION)

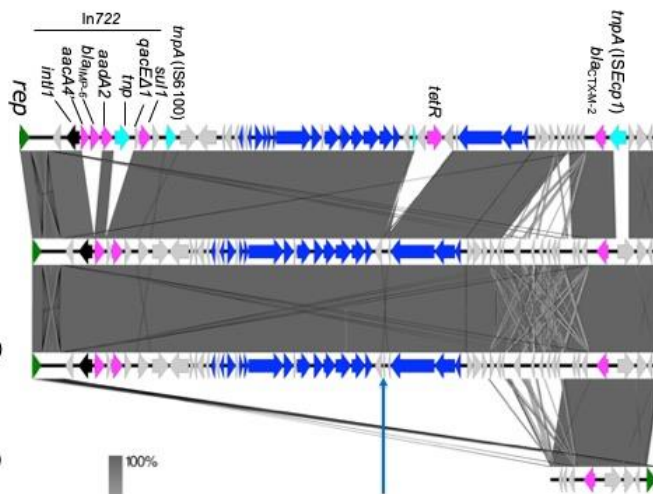
*bla*_{CTX-M-2} 搭載 IncN-ST5 プラスミド

pKPI-6¹ (*K. pneumoniae*)
ヒト, 2009, 日本 (約47kb)

p13-C-033 (*E. coli* ST345[CC10])
健康プロイラー, 2001, 日本
環状(仮)

p13-C-006 (*E. coli* ST1072[CC10])
健康プロイラー, 2001, 日本
環状(仮)

pMTY2255 (*E. coli* ST1060[CC10])
健康プロイラー?, 2004, 日本
水色：トランスポゼース遺伝子
青：接合伝達関連遺伝子



このあたりに残るGapを
PCR+sangerでclose予定

¹ Antimicrob Agents Chemother. 2015 Feb;59(2):1356-9.

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
なし							

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Suzuki, K.et al	Effects of antimicrobial administration on the prevalence of antimicrobial-resistant <i>Escherichia coli</i> in broiler flocks	Jpn. J. Infect. Dis.	72	179	2019
Watahiki M et al.	Multiplex Polymerase Chain Reaction in a Single Tube for Detecting Genes Encoding Carbapenemase of <i>Enterobacteriaceae</i> .	Jpn J Infect Dis	in press		2019
Morita M,et al	Genome Sequence of a <i>Salmonella enterica</i> Serotype Senftenberg Strain Lacking Salmonella Pathogenicity Island-1 and Isolated in Japan. Microbiol Resour Announc.	Microbiol Resour Announc	15	pii: e00653-19	2019
Chiba N et al	Detection of <i>mcr-1</i> -mediated colistin resistance in <i>E. coli</i> isolate from imported chicken meat from Brazil.	J Glob Antimicrob Resist	16	248	2019

Hashimoto Y, Taniguchi M, Uesaka K, Nomura T, Hirakawa A H, Tanimoto K, Tamai K, Ruan G, Zheng B, Tomita H.	Novel Multidrug-Resistant Enterococcal Mobile Linear Plasmid pELF1 Encoding vanA and vanM Gene Clusters From a Japanese Vancomycin-Resistant Enterococci Isolate.	Front Microbiol	10	2568	2019
M. Kijima,et al.	Trends in the serovar and antimicrobial resistance in clinical isolates of <i>Salmonella enterica</i> from cattle and pigs between 2002 and 2016 in Japan.	Journal of Applied Microbiology	127	1869	2019
Kitagawa H,et al	<i>Aeromonas dhakensis</i> is not a rare cause of <i>Aeromonas</i> bacteremia in Hiroshima, Japan.	J Infect Chemother	Sep 27	pii: S1341-321X(19)30270-3	2019
Suzuki K, Yossapol M, Sugiyama M, Asai T.	Effects of antimicrobial administration on the prevalence of antimicrobial-resistant <i>Escherichia coli</i> in broiler flocks.	Jpn J Infect Dis.	72(3)	179-184	2019
Hirakawa H, Takita A, Kato M, Mizumoto H, Tomita H.	Roles of CytR, an anti-activator of cyclic-AMP receptor protein (CRP) on flagellar expression and virulence in uropathogenic <i>Escherichia coli</i> .	Biochem Biophys Res Commun.	521	555-561	2019
Hirakawa H, Suzue K, Kurabayashi K, Tomita H.	The Tol-Pal System of Uropathogenic <i>Escherichia coli</i> Is Responsible for Optimal Internalization Into and Aggregation Within Bladder Epithelial Cells, Colonization of the Urinary Tract of Mice, and Bacterial Motility.	Front. Microbiol.	10	1827.	2019

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆守



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業
2. 研究課題名 食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究
3. 研究者名 (所属部局・職名) 細菌第一部 客員研究員
(氏名・フリガナ) 渡邊 治雄・ワタナベ ハルオ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和2年4月2日

厚生労働大臣 殿

機関名 農林水産省動物医薬品検査所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 小原 健児 印



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業
- 研究課題名 食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究
- 研究者名 (所属部局・職名) 検査第二部・上席主任研究官
(氏名・フリガナ) 小澤 真名緒・オザワ マナオ
- 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (無の場合はその理由: 審査を研究代表機関に委託)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関: 国立感染症研究所)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

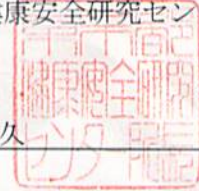
令和2年3月12日

厚生労働大臣 殿

機関名 東京都健康安全研究センター

所属研究機関長 職名 所長

氏名 吉村 和久 印



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業
- 2. 研究課題名 食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究
- 3. 研究者名 (所属部局・職名) 微生物部 食品微生物研究科 主任研究員
(氏名・フリガナ) 小西 典子・コニシ ノリコ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	東京都健康安全研究センター 倫理審査委員会	<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和2年3月13日

厚生労働大臣 殿

機関名 愛媛県立衛生環境研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 四宮 博人



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業
2. 研究課題名 食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究
3. 研究者名 (所属部局・職名) 所長
(氏名・フリガナ) 四宮 博人 (シノミヤ ヒロト)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	愛媛県立衛生環境研究所倫理審査委員会	<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。

・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

(様式第7号)

研究計画決定通知書

元衛環第709号

令和2年2月12日

研究責任者

愛媛県立衛生環境研究所

所長 四宮博人 様

愛媛県立衛生環境研究所長



令和2年2月6日付けで依頼のあった下記の研究計画について、次のとおり決定したので通知します。

研究課題名	食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究 ※上記に係る分担研究 地研ネットワークを利用した食品及びヒトから分離されるサルモネラ、大腸菌、カンピロバクター等の薬剤耐性の動向調査
研究責任者 (所属・職・氏名)	愛媛県立衛生環境研究所 所長 四宮博人
判定	① 承認 ② 条件付承認 ③ 計画の変更 ④ 不承認 ⑤ 研究の停止又は中止 ⑥ その他 ()
判定理由	(承認の場合は不要)
条件、変更の内容、意見等	(承認の場合は不要)
その他	

注 判定欄は、いずれかに○印をつけること。6 その他の場合は、具体的に記載すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆字



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業事業
2. 研究課題名 食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究
3. 研究者名 (所属部局・職名) 薬剤耐性研究センター・センター長
(氏名・フリガナ) 菅井 基行・スガイ モトユキ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和2年4月17日

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 脇田 隆宇



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業
- 2. 研究課題名 食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究
- 3. 研究者名 (所属部局・職名) 副所長
(氏名・フリガナ) 大西 真・オオニシ マコト

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する口にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和2年3月27日

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 奥田 晴宏



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業

2. 研究課題名 食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究

3. 研究者名 (所属部局・職名) 食品衛生管理部・部長

(氏名・フリガナ) 朝倉 宏 ・ アサクラ ヒロシ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

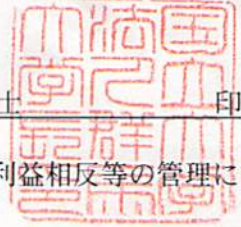
(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立大学法人群馬大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 平塚 浩士 印



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業
- 研究課題名 食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究
- 研究者名 (所属部局・職名) 大学院医学系研究科 教授
(氏名・フリガナ) 富田 治芳 (トミタ ハルヨシ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立大学法人岐阜大学

所属研究機関長 職名 学長

氏名 森 脇 久 隆 印



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業
2. 研究課題名 食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究
3. 研究者名 (所属部局・職名) 連合獣医学研究科 教授
(氏名・フリガナ) 浅井 鉄夫 ・ アサイテツオ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和 2 年 3 月 19 日

厚生労働大臣 殿

機関名 東 邦 大 学
所属研究機関長 職 名 学 長
氏 名 高 松 研 究 印



次の職員の令和元年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 食品の安全確保推進研究事業
2. 研究課題名 食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究
3. 研究者名 (所属部局・職名) 医学部・教授
(氏名・フリガナ) 石井 良和 ・イシイ ヨシカズ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
人を対象とする医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	東邦大学	<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称: 病原体等安全管理規程)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	東邦大学	<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」や「臨床研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。