

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2年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 渡邊 治雄

令和3（2021）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2年度 総括・研究分担報告書

目次

I. 令和2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2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 34

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 53

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 食品衛生管理部 60

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 71

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 80

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 91

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 102

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 127

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 130

令和2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：

耐性菌調査：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。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。また、*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。健康者の耐性菌保持調査：健康者から分離された大腸菌を対象に、17薬剤に対する薬剤感受性試験を実施した。いずれか1薬剤以上に耐性を示した株は42.3%であり、例年と同様の傾向であった。最も耐性率が高かったのはABPCで27.8%、次いでTC 21.7%、NA 21.0%であった。フルオロキノロン系薬剤耐性は6.4%、セファロスポリン系薬剤耐性は4.6%であり、いずれも例年と同様の傾向であり、健康者の腸内大腸菌にも耐性遺伝子が入り込んでいる実態が明らかになった。コリスチン耐性調査：2018年度に分離された動物由来大腸菌では、*mcr-1*が豚由来株のみから6株（7.2%）検出され、*mcr-2*から*mcr-10*遺伝子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。2015-2019年度のヒト由来サルモネラから*mcr-1*グループ（2株）、食品由来サルモネラから*mcr-5*（1株）、ヒト由来大腸菌から*mcr-1*グループ（2株：EHECと下痢原性株）が検出されたが、食品由来大腸菌からは検出されなかった。コリスチン耐性を示す菌間の伝播経路の関連性に関する詳細調査研究は今後の課題である。研究班で得られた耐性菌のデータは、国内・国外へ発信された。国内においては、「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書2020」、国外においてはWHO GLASSに報告された。

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
小澤真名緒	農林水産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で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了。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ケンサーであるMiniSeq/MiSeq/HiSeq/NovaSeq システム（Illumina 社）、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、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、セフェム系薬剤、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 耐性菌のデータの国内・国外への発信 : 国内においては、「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書 2020」

(<https://www.mhlw.go.jp/content/10906000/000691720.pdf>) に提供した。WHO の GLASS(Global Antimicrobial Resistance Surveillance System)にも報告した

(<https://docs.google.com/spreadsheets/d/157mAK90huHMSvY6zpqxsNSw2BNHqTlFPNq9CYKQsw4/edit#gid=1631684533>)。また、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は、動物医薬品検査所 HP(JVRAM)に掲載した

(http://www.maff.go.jp/nval/yakuzai/yakuzai_p3-1.html)。

- ② 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 ; 2015 年~2020 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。

カンピロバクターについては、2018 年~2020 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。

サルモネラについては、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。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。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 グループはほとんど検出されなかった。その他種類の大腸菌では CTX-M-9 グループ、CTX-M-2 グループ、TEM 型が多く検出され。

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、2015 年~2019 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 以下の菌株を対象にコリスチン耐性遺伝子の検出を実施した。ヒト由来サルモネラから *mcr-1* グループ(2 株)、食品由来サルモネラから *mcr-5* (1 株)が、それぞれ検出された。一方、ヒト由来大腸菌から *mcr-1* グループ(2 株 : EHEC と下痢原性株)が検出されたが、食品由来大腸菌からは検出されなかった。

- ③ 動物由来株のコリスチン耐性について調査 : 大腸菌では、*mcr-1* 及び *mcr-5* 遺伝子が確認された。H30 年分離株では、*mcr-1* が豚由来株のみから 6 株(7.2%)検出され、*mcr-2* から *mcr-10* 遺伝子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。
- ④ 家畜由来カンピロバクターにおけるマクロライド耐性機構 : すべての株で、*erm* (B) 遺伝子を保有していなかった。マクロライド耐性に関与する、23s rRNA の変異を保有している株は 2 株のみであった。機能が不明な 23s rRNA の変異を保有している株が 2 株あった。それぞれの株の Sequence Type には多様性が認められた。
- ⑤ カンピロバクターの薬剤耐性菌出現状況 : 2019 年に東京都内の散発患者から分離された *C. jejuni* 132 株および *C.*

coli 16 株を供試した。フルオロキノロン系薬剤に耐性を示した割合は *C. jejuni* が 74 株 (56.1%), *C. coli* が 11 株 (68.8%) であった。2018 年分離株 (*C. jejuni* 51.8%, *C. coli* 37.5%) と比較して *C. coli* の耐性率が高い傾向であった。カンピロバクター腸炎治療の第一選択薬であるエリスロマイシンに対する耐性率は *C. jejuni* が 2 株

(1.5%) と例年の傾向と同様に低い耐性率であった。一方、*C. coli* では 4 株 (25.0%) で、2018 年の耐性率 62.5% と比較すると低かったが、*C. jejuni* と比較すると耐性率が高い傾向が続いている。

- ⑥ 健康者糞便由来大腸菌の薬剤耐性菌出現状況：2020 年に健康者 281 名から分離された 281 株の大腸菌を対象に、17 薬剤に対する薬剤感受性試験を実施した。いずれか 1 薬剤以上に耐性を示した株は 119 株 (42.3%) であり、例年と同様の傾向であった。最も耐性率が高かったのは ABPC で 27.8%, 次いで TC 21.7%, NA 21.0% であった。フルオロキノロン系薬剤耐性は 6.4%, セファロスポリン系薬剤耐性は 4.6% であり、いずれも例年と同様の傾向であった。2017 年～2020 年に供試した健康者糞便由来大腸菌 1,473 株のうち *mcr* 保有株は 7 株 (0.48%) であった。いずれも *mcr-1* を保有しており、コリスチンに対する MIC は 2～4 μ g/ml であった。

- ⑦ 市販鶏肉由来大腸菌の薬剤耐性菌出現状況：2020 年に搬入された国産鶏肉 124 検体から分離された 198 株および外国産鶏肉 34 検体から分離された 57 株について薬剤感受性試験を実施した。国産鶏肉で耐性率が高かった薬剤は TC (49.0%), SM (47.0%), ABPC (42.4%) であった。一方外国産鶏肉で耐性率が高かった薬剤は TC (36.8%), ABPC (33.3%), GM (21.1%) であり、国産由来株と外国産由来株では耐性薬剤の傾向が異なる成績であった。

NA 耐性率は国産由来が 26.3%, 外国産由来で 14.0%, フルオロキノロン系薬剤耐性率は国産由来 18.7%, 外国産由

来 1.8%, セファロスポリン系薬剤耐性率は国産由来 1.0%, 外国産由来 3.5% で、フルオロキノロン系薬剤耐性率は国産由来株の方が高かった。

- ⑧ 冷凍鶏肉の調査：ESBL 産生大腸菌は冷凍鶏肉製品 105 検体中 51 検体 (49%) より検出されたが、定量試験で菌量としてはほとんどが 25 CFU/g であった。本年度定量成績は、昨年度検討した冷蔵鶏肉製品に比べて有意に低く、冷凍処理が当該耐性菌の汚染制御に有効に機能していると推察された。なお、冷凍鶏肉由来 51 菌株のうち 6 株はメロペネム耐性も示した。遺伝子型別試験では、CTX-M-1 型及び CTX-M-2 型が優勢であった。
- ⑨ 食肉等から分離された MRSA, *mcr* 薬剤耐性菌の分子疫学解析：LA-MRSA (ST398) 8 株は、全て *blaI*、*blaZ*、*ermC*、*tet*(38)、*tet*(M) と *czrC* 陽性であった。7 株が SCCmecIV2b で、1 株が SCCmecV だった。SCCmecIV2b 7 株のうち、3 株がフロルフェニコール耐性遺伝子 (*fexA*)、4 株が消毒薬耐性遺伝子 (*qacG*) を保有していた。SCCmecV 1 株は、多剤耐性株で、アミノグリコシド (*ant*(6)-Ia)、トリメトプリム (*dfpG*)、フロルフェニコール (*fexA*)、リンコマイシン (*lnu*(B)、*lsa*(E)) およびテトラサイクリン (*tet*(K)) の耐性遺伝子を保有していた。これまでの本課題の調査で、国内の MRSA ST398 では SCCmecIVa と SCCmecV が確認され、*czrC* 保有株は全て SCCmecV であった。今回の解析で、*czrC* を保有する SCCmecIV2b が確認され、国内の豚に多様な LA-MRSA が浸潤していることが示された。
- ⑩ コリスチン耐性大腸菌のプラスミド解析：プラスミド性コリスチン耐性遺伝子 (*mcr-1*) 保有大腸菌 10 株の MLST 型は多様 [ST206 (2 株、以下 1 株)、ST 10、ST2614、ST101、ST1112、ST135、ST5826、UT (6-5-188-8-24-8-6)、ST1196] であった。*mcr-1* は、IncI2 プラスミド上に存在し、サブタイプは 9 株が *mcr1.1* で 1 株が *mcr1.12* であった。その他、アミノグリコシド耐性遺伝子 [*aadA5* (1 株)、*aph*(3'')-Ib (4 株)、*aph*(6)-Id (4 株)、

aph(3')-Ia(2 株)], テトラサイクリン耐性遺伝子[*tet(A)*、*tet(B)* 3 株ずつ]などの他、プラスミド性キノロン耐性遺伝子(*qnrS13*)を保有する1株が認められた。これらのことから、鶏肉を汚染するコリスチン耐性大腸菌は多様で、薬剤耐性の保有状況も株間で異なっていた。

- ⑪ 市販肉の交差汚染経路の解析：複数の枝肉から同一の PFGE 型の大腸菌や *Klebsiella* が分離され、交差汚染が示唆された。また、食肉処理段階で汚染した細菌は水洗前後においても同一の PFGE 型で、汚染が継続することが示された。これらから、流通前の枝肉は腸内細菌で汚染し、食肉処理段階で交差汚染を引き起こすことが示唆された。また、食肉処理工程の水洗・トリミング等の工程で汚染細菌を除去することは困難であると考えられた。

薬剤耐性菌による食品の汚染では、生産段階に分布する薬剤耐性菌がと畜場での食肉処理段階で残存することに起因すること、および肉用鶏では生産段階での薬剤耐性菌の分布に、種鶏場や孵化場での抗菌剤の使用が関連することが示唆された。

D. 考察

まず、研究班で得られた耐性菌のデータが、国内・国外へ情報発信に貢献していることは大きな成果である。国内においては、「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書 2020」、国外においては WHO GLASS にされていることを特記したい。

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、および地方衛生研究所全国協議会のような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との理由で、食品由来細菌の耐性菌調査を地研に担当してもらった。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。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。

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」とされた。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。その後、令和 2 年度に新たな科学的知見を踏まえて食品安全委員会において再評価が行われた結果、リスクの程度は「低

度」に引き下げられた。ただし、この評価は上記のリスク管理措置を前提としたものであることから、農林水産省はこれらのリスク管理措置を継続することとしている。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 分布及び *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、ヒト由来大腸菌やサルモネラから *mcr* 遺伝子陽性株が検出されていることから、すでにヒト由来株に伝播してしまっている状況が確認された。今後の動向を把握していくためにも引き続きと畜場、食鳥処理場、市販食品およびヒト由来の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持状況を調査していく必要があると考える。

E. 結論。

食品由来耐性菌の動向把握を継続的に進めるため、全国 23 の地方衛生研究所の協力のもとサルモネラ、カンピロバクター、大腸菌の耐性菌のモニタリング体制を構築した。統一された方法による組織だった全国規模の調査は、本研究班におけるものが我が国においては最初のものである。その結果得られたデータが、「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書 2020」、および WHO GLASS に提供できた。食品由来細菌の薬剤耐性データを JANIS や JVARM など既存の薬剤耐性データベースと統合的に解析し、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。

なし。

なお、家畜、食品およびヒトから分離されるセファロsporin系薬剤およびフルオロキノロン系薬剤耐性大腸菌の分離頻度は、依然として高い状態が続いている。特に人から分離される頻度の増加傾向がみられており、耐性菌の選択圧（不適切使用）を減じる対策の強化が必要である。我が国では家畜等への使用が平成 30 年に禁じられたコリスチンに対する耐性菌が依然として分離されている。過去に使用され

た残存の影響なのかを含め、今後の動向を追っていくことは重要である。

G. 研究発表

(1) 国内合計 3 件（発表済み 3 件、今年度中発表予定 0 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 佐々木貴正・百瀬愛佳・朝倉 宏・浅井鉄夫 孵化場におけるセフトオフル使用中止後のブロイラー鶏群由来および鶏肉由来サルモネラの薬剤耐性 鶏病研報 56(2), 47-52, 2020.
- ③ 石井良和ら。第 31 回 日本臨床微生物学会総会・学術集会、令和元年 1 月 31 日、金沢、一般演題 (*bla*_{CTX-M-2} 搭載 IncN-pST5 プラスミドのカルバペネマーゼ遺伝子獲得に関する研究)

(2) 海外合計 12 件（発表済み 11 件、今年度中発表予定 1 件）

- ① Yamamoto S, Kitagawa W, Nakano M, Asakura H, Iwabuchi E, Sone T, Asano K. Plasmid sequences of four large plasmids carrying antimicrobial resistance genes in *Escherichia coli* strains isolated from beef cattle in Japan. Microbiol Resour Announc. 2020; 9(20): e00219-20.
- ② Sasaki Y, Asai T, Haruna M, Sekizuka T, Kuroda M, Yamada Y. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from pigs in Japan. Jpn J. Vet. Res. 68(3): 197-202, 2020.
- ③ Sasaki Y, Yamanaka M, Nara K, Tanaka S, Uema M, Asai T, Tamura Y. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from pigs at abattoirs in Tohoku region, Japan. J Vet Med Sci. 82(9):1400-1403, 2020.
- ④ Yossapol M, Suzuki K, Odoi JO, Sugiyama M, Usui M, Asai T. Persistence of extended-spectrum β -lactamase plasmids among Enterobacteriaceae in commercial

- broiler farms. Microbiol Immunol. 2020;64:712-718.
- ⑤ Sasaki Y, Sakurada H, Yamanaka M, Nara K, Tanaka S, Uema M, Ishii Y, Tamura Y, Asai T. Effectiveness of ear skin swabs for monitoring methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in pigs at abattoirs. J Vet Med Sci. 2021 (印刷中)
- ⑥ Tanimoto K, Nomura T, Hashimoto Y, Hirakawa H, Watanabe H, Tomita H. Isolation of *Serratia fonticola* producing FONA, a minor extended-spectrum β -lactamase (ESBL), from imported chicken meat in Japan. Jpn J Infect Dis. 74(1), 2021.
- ⑦ Hashimoto Y, Kita I, Suzuki M, Hirakawa H, Ohtaki H, Tomita H. First Report of the Local Spread of Vancomycin-Resistant Enterococci Ascribed to the Interspecies Transmission of a vanA Gene Cluster-Carrying Linear Plasmid. mSphere. 5(2):e00102-20. doi: 10.1128/mSphere.00102-20. 2020.
- ⑧ Toshiki Kajihara, Koji Yahara, Sergey Romualdovich Eremin, Barbara Tornimbene, Visanu Thamlikitkul, John Stelling, Aki Hirabayashi, Eiko Anzai, Satoyo Wakai, Nobuaki Matsunaga, Kayoko Hayakawa, Norio Ohmagari, Motoyuki Sugai, and Keigo Shibayama. Comparison of de-duplication methods used by WHO Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) and Japan Nosocomial Infections Surveillance (JANIS) in the surveillance of antimicrobial resistance. PLoS One, 2020 Jun 26;15(6):e0228234. doi: 10.1371/journal.pone.0228234
- ⑨ Soliman AM, Ramadan H, Ghazy E, Yu L, Hisatsune J, Kayama S, Sugai M, Nariya H, Shimamoto T, Jackson CR, Shimamoto T. Emergence of *Salmonella* genomic island 1 variant SGI1-C in a multidrug-resistant clinical isolate of *Klebsiella pneumoniae* ST485 from Egypt. Antimicrob Agents Chemother, 64: 9 e01055-20, 2020.
- ⑩ Sadek M, Nariya H, Shimamoto T, Kayama S, Yu L, Hisatsune J, Sugai M, Nordmann P, Poirel L, Shimamoto T. First genomic characterization of *bla*_{VIM-1} and *mcr-9*-coharbouring *Enterobacter hormaechei* isolated from food of animal origin. Pathogens, 9, 687, 2020.
- ⑪ Khalifa H, Soliman A, Saito T, Kayama S, Yu L, Hisatsune J, Sugai M, Nariya H, Ahmed A, Shimamoto T, Matsumoto T, Shimamoto T. First report of foodborne *Klebsiella pneumoniae* coharboring *bla*_{VIM-1}, *bla*_{NDM-1}, and *mcr-9*. Antimicrob Agents Chemother, 64 aac.00882-20. 2020.
- ⑫ Kitagawa H, Ohge H, Yu L, Kayama S, Hara T, Kashiya 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, 26, 316-320, 2020.

その他の実績（予定を含む）

学会発表 合計 8 件

- ① 第 93 回日本細菌学会総会、2020 年 2 月 19 日（水）～21 日（金）、名古屋・ウインク愛知、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
- ② 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 アクションプランに基づく JVARМ の強化、今後の JVARМ
- ③ 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) 対策アクションプランに基づく動物由来薬剤耐性菌モニタリング (JVARМ : Japanese Veterinary Antimicrobial Resistance Monitoring System) の強化について
- ④ 四宮博人、その他。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年8月19-21日、東京、

- ⑤ (IUMS2020、2020年11月16-20日、韓国 Daejeon 市 (オンライン)、国内に流通する鶏肉製品における ESBL 産生大腸菌の汚染実態及び分離株の耐性遺伝子伝播効率を発表した。)

- ⑥ (第94回日本細菌学会総会、オンライン開催、2021年3月、国内流通鶏肉及び食鳥とたいにおける ESBL 産生大腸菌

並びに腸内細菌科菌群の定性・定量的評価を発表予定。)

- ⑦ 谷本弘一、野村隆浩、橋本佑輔、平川秀忠、富田治芳. 鶏肉からの *Serratia fonticola* の分離と minor ESBL である FONA の解析. 第49回薬剤耐性菌研究会、2020年11月13日、埼玉県熊谷市
- ⑧ Wellcome Trust Conference “Antimicrobial Resistance – Genomes, Big Data and Emerging Technologies (Virtual Conference)”, 2020/11/5. Hinxton, UK. 英国 Wellcome Trust

厚生労働省科学研究費(令和2年度)

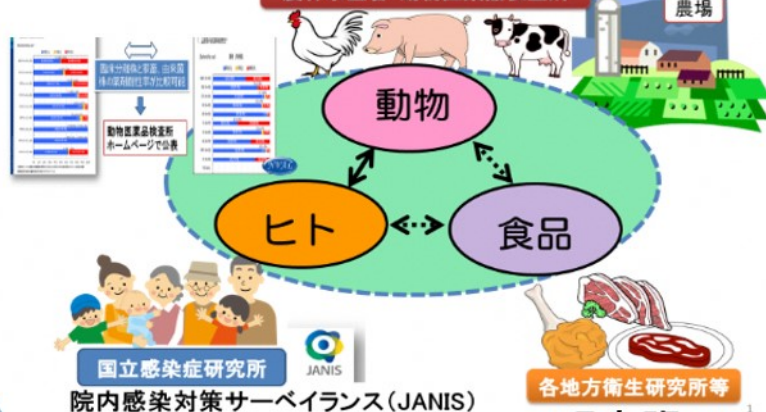
食品由来薬剤耐性菌のサーベイランスのための研究

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)

農林水産省 動物医薬品検査所



ワンヘルス 動向調査報告書作成・報告



2018~2020 年度の報告書を作成
するのに利用された

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。
- ②JANIS, JVARMおよび食品由来耐性菌のワンヘルスマプローチによる相互のデータの比較を行う、および「ワンヘルスマプローチ調査年次報告書」WHOの薬剤耐性のグローバルサーベイランス(GLASS)にデータ提出する
- ③家畜、食品、ヒト由来薬剤耐性菌／耐性遺伝子の解析を行い、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, Amp^rCMC^r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「ワンヘルスマプローチ調査年次報告書2020」および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) コリスチン耐性菌が食鳥処理場由来大腸菌、食肉由来大腸菌、健康者糞便由来大腸菌から分離された。拡散が広がっている現状が明らかになった。
- 5) 健康者由来大腸菌の6%GT耐性、6.4%GPF耐性であり、毎年同程度で分離された。かなり高い率耐性菌が人の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)

池田徹也、森本 洋

山上剛志、高橋洋平、橋本恭奈

(青森県環境保健センター)

高橋陽子、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、安藤直史

(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)

木全恵子、前西絵美、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、芦田澄江

(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、西嶋駿弥、若林友騎、河原隆二

(大阪健康安全基盤研究所)

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)

川上優太、小谷麻祐子、林 宏樹

(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、佐藤香緒里、池田伸代、

(広島市衛生研究所)

末永朱美

福田千恵美、関 和美、岩下陽子、

(香川県環境保健研究センター)

多田郁美

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)

青木紀子、浅野由紀子、氏家絢子

(愛媛県立衛生環境研究所)

矢儀田優佳

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（2020 年）分離株と合わせ、サルモネラに関しては、2015 年～2020 年に分離されたヒト由来 1,947 株中の 774 株(39.8%)、及び食品由来 715 株中の 651 株(91.0%)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～2020 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～2020年分離のヒト由来 1,852 株中の 658 株(35.5%)、及び食品由来 96 株中の 51 株(53.1%)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～2020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～2019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目指す。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、2020年にヒト（患者）及び食品から分離され、サルモネラ属菌（非チフス性）、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～2019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～2020 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、2019 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、昨年度報告書に記載した「渡邊班地研グループ ESBL, AmpC 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～2019 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、末尾に添付した「渡邊班地研グループコリスチン耐性遺伝子検査プロトコル」にしたがって検出を行った。

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も審査され、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

2020 年に収集されたサルモネラは、ヒト由来 211 株、食品由来 129 株、総計 340 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 2021 年 2 月 28 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 39.3%、食品由来株 96.1% で、本研究班のこれまでの結果と同様であった。2020 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～2020 年に収集されたヒト由来 1,947 株及び食品由来 715 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 CFX, NFLX、ホスホマイシン系薬 FOM 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 に対する耐性菌はほと

んど認められなかった。全体として、年次別に顕著な違いは認められなかった。

2020 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 4 株、食品由来 10 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 2 株、食品由来 7 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～2020 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（715 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、2020 年に収集された *S. Infantis*, *S. Schwarzengrund*, *S. Manhattan* の計 106 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. Infantis* では CTX, CAZ, CFX 耐性が認められたが、*S. Schwarzengrund* と *S. Manhattan* ではほとんど認められなかった。また、*S. Manhattan* では他の 2 種の血清型と異なり、KM 耐性が認められなかった。以上の傾向は全体としては、昨年度の報告書で示した、2015 年～2019 年分離株での傾向と同様であるが、2020 年では 3 種の血清型中の *S. Schwarzengrund* 株数の割合が特に高いことや *S. Infantis* の耐性率がやや低いことなどは、これまでと異なる傾向である。

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（2020 年分離 115 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

いが SM, TC 耐性率は高かった。一方、鶏肉よりも鶏卵から分離される *S. Enteritidis* では SM, TC 耐性率は低く、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～2019 年分離株での傾向と同様であった。

次に、2020 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～2019 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～2020 年分離のヒト由来大腸菌 1,852 株のうち、17 剤中の 1 剤以上に耐性を示した株は 658 株で、耐性率は 35.5% であった（表 14）。大腸菌株の分類別耐性率は、EHEC 27.6%、EHEC 以外の下痢原性大腸菌 70.6%、その他 72.1% 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 96 株のうち、51 株が 1 剤以上に耐性で、耐性率は 53.1% であった。分類別耐性率は、EHEC 29.4%、EHEC 以外の下痢原性大腸菌 62.9% 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, CPFX, 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～2019 年分離ヒト由来サルモネラ 39 株及び食品由来 39 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 グループはほとんど検出されなかった（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～2019 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 以下の菌株を対象にコリスチン耐性遺伝子の検出を実施した（表 16a, b）。ヒト由来サルモネラから *mcr-1* グループ（2 株）、食品由来サルモネラから *mcr-5*（1 株）が、それぞれ検出された（表 16c）。一方、ヒト由来大腸菌から *mcr-1* グループ（2 株：EHEC と下痢原性株）が検出されたが（表 16d）、食品由来大腸菌からは検出されなかった。

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、

2020 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（211 株）は 39.3%、食品由来株（129 株）は 96.1%が、1 剤以上の抗菌剤に耐性を示した。2015 年～2020 年の年次毎の耐性率はほぼ同様に、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 86%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、2020 年は *S. Schwarzengrund* の割合が高かった。

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 4 株、食品由来株中 10 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～2020 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よりも低い傾向があり、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が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、一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, CPFX, 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、コリスチン耐性遺伝子) 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 JVARM 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 JVARM 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、2020 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～2019 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 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、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

- 1) Wakabayashi Y, Sekizuka T, Yamaguchi T, Fukuda A, Suzuki M, Kawahara R, Taguchi M, Kuroda M, Semba K, Shinomiya H, Kawatsu K. Isolation and plasmid characterisation of *Salmonella enterica* serovar Albany harbouring mcr-5 from retail chicken meat in Japan. FEMS Microbiol Lett. 2020 Aug 1;367(15):fnaa127.

2. 学会発表

- 1) 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、2020.8.19-21、東京

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

渡邊班地研グループコリスチン耐性遺伝子検査プロトコル

1 検査概要

(1) 検査項目

コリスチン耐性遺伝子検査

(2) 検体の種類・適用範囲

ヒト（有症者）及び食品由来サルモネラ属菌及び大腸菌（下痢原性大腸菌を含む）のうち、薬剤感受性試験においてコリスチン阻止円径が 11mm 以下及び 12mm の菌株

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 Plus kit Cat No./ID : 206151/206152 キアゲン(株)

・ Mix 100μM プライマー（表 1）

・ Chelex 100 Resin #142-1253 Bio-Rad(株) 同等品

・ TE バッファー

・ Mix 陽性コントロール

感染研分与 PC-DNA を各 10,000 倍希釈し、等量混合したもの。

・ 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 ナカテスク(株) 同等品

・ 電気泳動用 Buffer

・ EtBr 溶液

表 1 プライマー一覧

<i>mcr</i> 遺伝子	Target		Primer	size(bp)
<i>mcr</i> -1 group	<i>mcr</i> -1, <i>mcr</i> -2, <i>mcr</i> -6	<i>mcr</i> -1G_722F	TGTTTCGTCGTCGGTGAGACG	205
		<i>mcr</i> -1G_926R	TGGTATTTGGCGGTATCGAC	
<i>mcr</i> -4	<i>mcr</i> -4	<i>mcr</i> -4_116	AACAACCAGAAGTTGATCCC	272
		<i>mcr</i> -4_387R	CCCAGTCAGCAGTAGATTGG	
<i>mcr</i> -5	<i>mcr</i> -5	<i>mcr</i> -5_112F	TGGAATGCCCTTCTTGCTGG	310
		<i>mcr</i> -5_421R	ACACGGATACGGCTGCAACC	
<i>mcr</i> -3 group	<i>mcr</i> -3, <i>mcr</i> -7	<i>mcr</i> -3G_848	GCATGTTCTCCAATATGGGG	427
		<i>mcr</i> -3G_1275	GAAATCGGTGTAGCGGATGG	
<i>mcr</i> -8	<i>mcr</i> -8	<i>mcr</i> -8_89F	CACTTTGGCAAACACTATGG	528
		<i>mcr</i> -8_616R	GGTAACCATTTCGTATTACGC	
<i>mcr</i> -9 group	<i>mcr</i> -9, <i>mcr</i> -10	<i>mcr</i> -9G_702F	GGTGATTGGCGAAACGGCAC	635
		<i>mcr</i> -9G_1337R	AGCAGCACGGTGTGTACTG	

3 検査手順

(1) 鋳型 DNA の調整

- ア 1.5mL チューブに 5% Chelex TE を 100 μ L 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℃ 10 分加熱し、10,000rpm 10 分遠心して上清を鋳型 DNA とする。
鋳型 DNA は 4℃ で保存する（長期保存は -20℃）。

(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 9 μ L ずつ分注する。

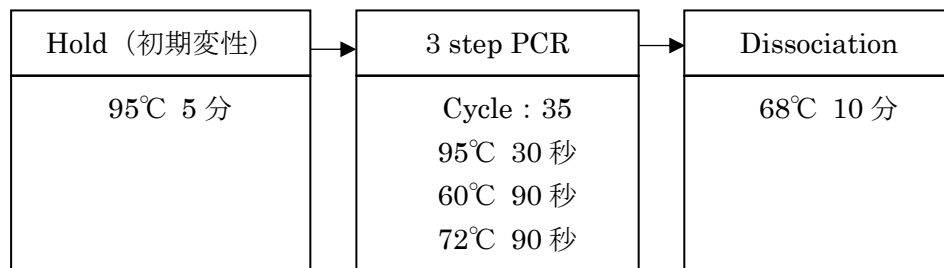
菌株数（調整反応液数）	最終濃度	1 反応液	10(12)	20(22)
2×Multiplex PCR Master mix (μ L)	× 1	5	60	110
プライマーミックス (2 μ L)	0.2 μ M	1	12	22
Q-Solution		1	12	22
CoralLoad Dye, ×10		1	12	22
dH ₂ O		1	12	22
合計液量 (μ L)		9	63.0	198.0

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 dH₂O、鋳型 DNA、Mix 陽性コントロールを各 1 μ L 添加する。
- (イ) チューブにキャップをし、卓上遠心機で遠心後、PCR 反応を行う。

(3) PCR 反応

以下の条件で PCR 反応を開始する。



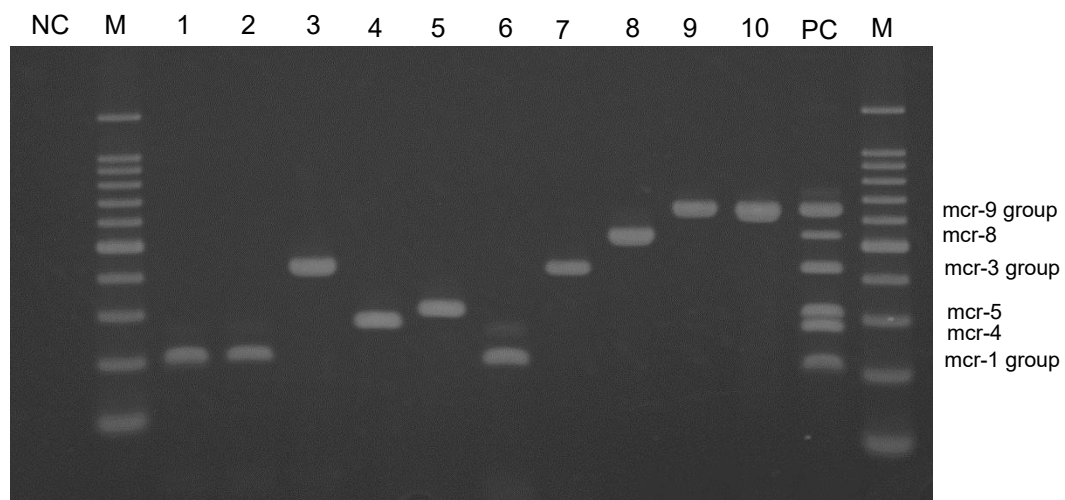
(5) 増幅産物の電気泳動

2.5%アガロースゲルで電気泳動（100V 30 分程度）を実施し、EtBr 染色を行う。

5 検査結果報告方法

結果報告は別添ファイル（コリスチン耐性遺伝子報告用）に入力して報告する。

参考資料：コリスチン耐性遺伝子マルチプレックス PCR 結果



No.1 : mcr-1
No.2 : mcr-2
No.3 : mcr-3
No.4 : mcr-4
No.5 : mcr-5
No.6 : mcr-6
No.7 : mcr-7
No.8 : mcr-8
No.9 : mcr-9
No.10 : mcr-10

表 1. ヒト及び食品由来サルモネラ株の薬剤耐性状況
(2020 年分離株* n = 340)

(2021/2/28 時点)

由来		菌株数	耐性菌株数 #	耐性率
ヒト由来		211	83	39.3%
食品由来	国産鶏肉	115	110	95.7%
	外国産鶏肉	6	6	100.0%
	その他・不明	8	8	100.0%
	合計	129	124	96.1%

*2020 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
(2020 年分離株 n = 211)

(2021/2/28 時点)

検体名	菌株数	耐性菌株数	耐性率
糞便・便	166	67	40.4%
血液・静脈血	9	4	44.4%
尿・中間尿	3	1	33.3%
菌株	1	0	0.0%
膿	1	0	0.0%
関節液	1	0	0.0%
不明・空白	30	11	36.7%
合計	211	83	39.3%

図 1. ヒト及び食品由来サルモネラ株の血清型(2020 年分離株)

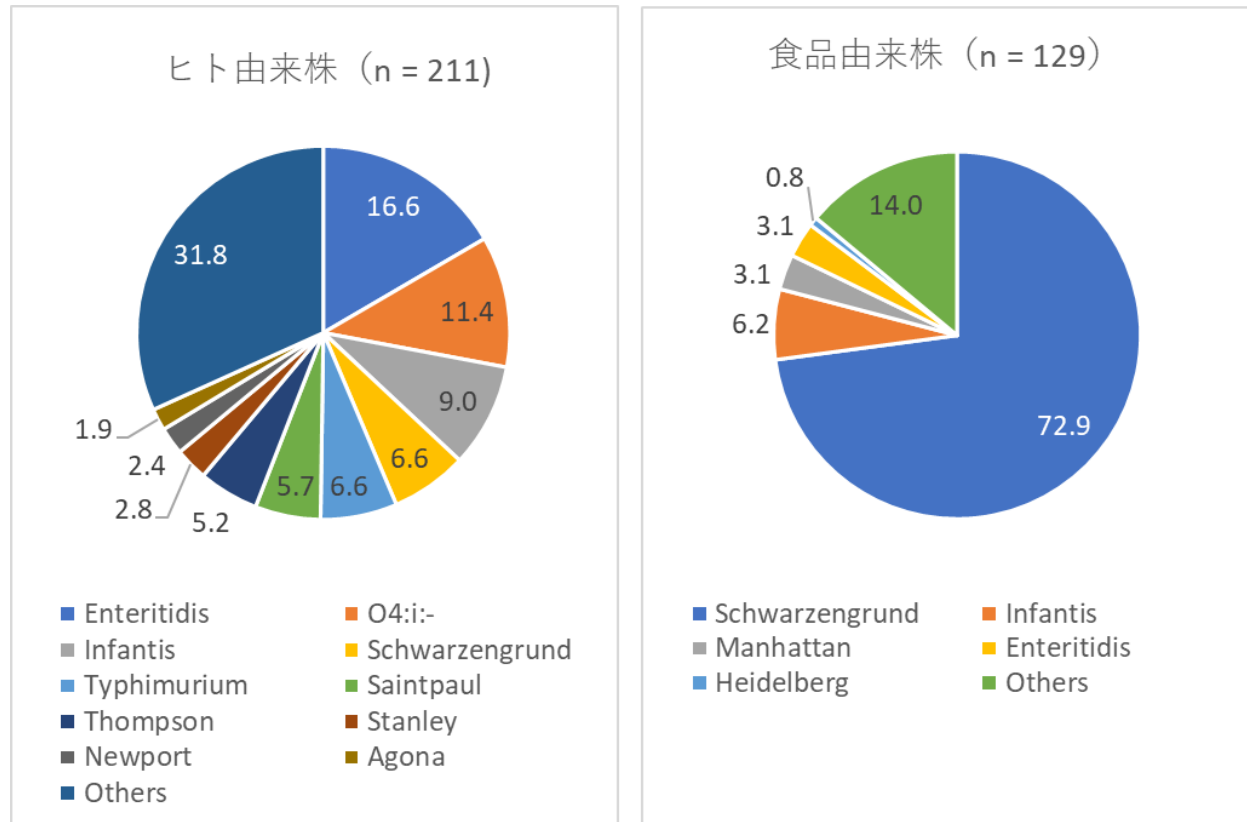


表 3. ヒト由来 non-typhoidal *Salmonella* spp の耐性率(2015-2020 年)

	2015 (n=387)	2016 (n=360)	2017 (n=409)	2018 (n=315)	2019 (n=265)	2020 (n=211)	計 (n=1947)
ABPC	17.3	18.1	15.6	19.4	14.7	14.7	16.8
GM	0.3	0.6	0.7	0.6	1.5	0.5	0.7
KM	5.9	11.7	7.3	8.3	6.4	6.2	7.8
SM	27.4	30.0	26.4	29.2	23.8	25.6	27.3
TC	32.6	29.2	27.1	25.4	22.6	26.1	27.6
ST	4.4	6.7	7.8	6.3	3.4	9.0	6.2
CP	2.3	6.4	5.1	6.0	5.3	5.2	5.0
CTX	0.3	2.5	3.2	3.2	1.5	0.9	2.0
CAZ	0.3	2.2	1.7	1.9	0.8	0.9	1.3
CFX	0.0	1.4	0.5	0.6	0.0	0.9	0.6
FOM	0.0	0.3	0.2	0.3	0.4	0.5	0.3
NA	7.0	8.1	8.8	5.7	4.2	5.2	6.8
CPFX	0.3	0.8	1.7	0.3	0.4	0.0	0.7
NFLX	0.3	0.8	0.5	0.0	0.8	0.0	0.4
AMK	0.0	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	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.1
1 剤以上耐性数	164	161	152	125	89	83	774
1 剤以上耐性率	42.4	44.7	37.2	39.7	33.6	39.3	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(2015-2020 年)

	2015 (n=156)	2016 (n=110)	2017 (n=86)	2018 (n=108)	2019 (n=126)	2020 (n=129)	計 (n=715)
ABPC	17.9	13.6	11.6	12.0	11.1	12.4	13.4
GM	0.0	0.9	1.2	0.0	0.0	0.0	0.3
KM	48.1	47.3	45.3	50.0	57.1	65.9	52.7
SM	82.7	70.9	69.8	77.8	64.3	70.5	73.1
TC	85.9	76.4	73.3	78.7	70.6	82.9	78.6
ST	19.9	16.4	12.8	38.0	25.4	24.8	23.1
CP	7.1	10.0	2.3	8.3	4.0	7.0	6.6
CTX	5.1	5.5	8.1	6.5	6.3	4.7	5.9
CAZ	4.5	6.4	8.1	6.5	4.8	3.9	5.5
CFX	2.6	3.6	8.1	4.6	5.6	5.4	4.8
FOM	0.0	0.9	1.2	0.0	0.0	0.0	0.3
NA	18.6	18.2	14.0	16.7	27.0	23.3	20.0
CPFX	0.0	0.9	1.2	0.0	0.0	0.0	0.3
NFLX	0.0	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	0.0
IPM	0.0	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	0.0
1 剤以上耐性数	143	96	77	98	113	124	651
1 剤以上耐性率	91.7	87.3	89.5	90.7	89.7	96.1	91.0

図 2. 6 剤以上に耐性を示したサルモネラ株
(2020 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
2020	6	R	S	I	R	R	R	R	S	S	S	S	R	I	S	S	S	S
2020	6	R	S	I	R	R	R	R	S	S	S	S	R	I	S	S	S	S
2020	7	R	S	S	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
2020	8	R	S	S	R	R	S	S	R	R	R	S	R	I	S	S	S	R

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
2020	6	R	S	S	S	R	S	S	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S
2020	6	S	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	I	S	S	S	S
2020	6	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	I	I	S	S	S	S
2020	6	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	I	S	S	S	S	S
2020	6	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	I	S	S	S	S
2020	6	R	S	S	S	R	S	S	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S
2020	7	R	S	R	S	R	S	S	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S
2020	7	R	S	R	R	R	R	R	I	S	S	S	R	I	S	S	S	S
2020	8	R	S	R	S	R	R	S	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S

図 3. セフェム系薬剤に耐性を示したサルモネラ株
(2020 年分離株)

ヒト由来株

分離年	耐性薬剤数	CTX	CAZ	CFX
2020	7	R	R	R
2020	8	R	R	R

食品由来株

分離年	薬剤耐性数	CTX	CAZ	CFX
2020	6	R	R	R
2020	8	R	R	R
2020	7	R	R	R
2020	6	R	R	R
2020	6	R	R	R
2020	5	R	S	R
2020	5	I	S	R

表5. 食品由来 <i>S. Infantis</i> の耐性率 (2015-2020年)							
	2015 (n=65)	2016 (n=33)	2017 (n=19)	2018 (n=27)	2019 (n=24)	2020 (n=8)	計 (n=176)
ABPC	10.8	12.1	5.3	14.8	8.3	37.5	11.9
GM	0.0	3.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.6
KM	46.2	42.4	15.8	33.3	37.5	62.5	39.8
SM	81.5	72.7	68.4	85.2	58.3	50.0	74.4
TC	89.2	81.8	68.4	85.2	58.3	37.5	78.4
ST	18.5	30.3	0.0	44.4	12.5	0.0	21.0
CP	3.1	3.0	0.0	0.0	0.0	12.5	2.3
CTX	4.6	6.1	5.3	11.1	8.3	12.5	6.8
CAZ	3.1	9.1	5.3	11.1	0.0	12.5	5.7
CFX	4.6	9.1	5.3	14.8	8.3	25.0	8.5
FOM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NA	3.1	9.1	0.0	3.7	16.7	0.0	5.7
CPFX	0.0	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	0.0
AMK	0.0	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	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

表6. 食品由来 <i>S. Schwarzengrund</i> の耐性率 (2015-2020年)							
	2015 (n=47)	2016 (n=38)	2017 (n=45)	2018 (n=51)	2019 (n=66)	2020 (n=94)	計 (n=341)
ABPC	17.0	5.3	0.0	7.8	3.0	5.3	6.2
GM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
KM	85.1	86.8	77.8	80.4	92.4	74.5	82.1
SM	93.6	78.9	82.2	76.5	74.2	79.8	80.4
TC	95.7	84.2	80.0	86.3	81.8	93.6	87.7
ST	36.2	18.4	24.4	56.9	43.9	29.8	35.5
CP	19.1	13.2	4.4	9.8	6.1	5.3	8.8
CTX	0.0	0.0	2.2	0.0	0.0	1.1	0.6
CAZ	0.0	0.0	2.2	0.0	0.0	0.0	0.3
CFX	0.0	0.0	2.2	0.0	0.0	1.1	0.6
FOM	0.0	2.6	2.2	0.0	0.0	0.0	0.6
NA	25.5	21.1	6.7	23.5	27.3	20.2	21.1
CPFX	0.0	2.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3
NFLX	0.0	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	0.0
IPM	0.0	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	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
(2020 年分離株 n = 106)

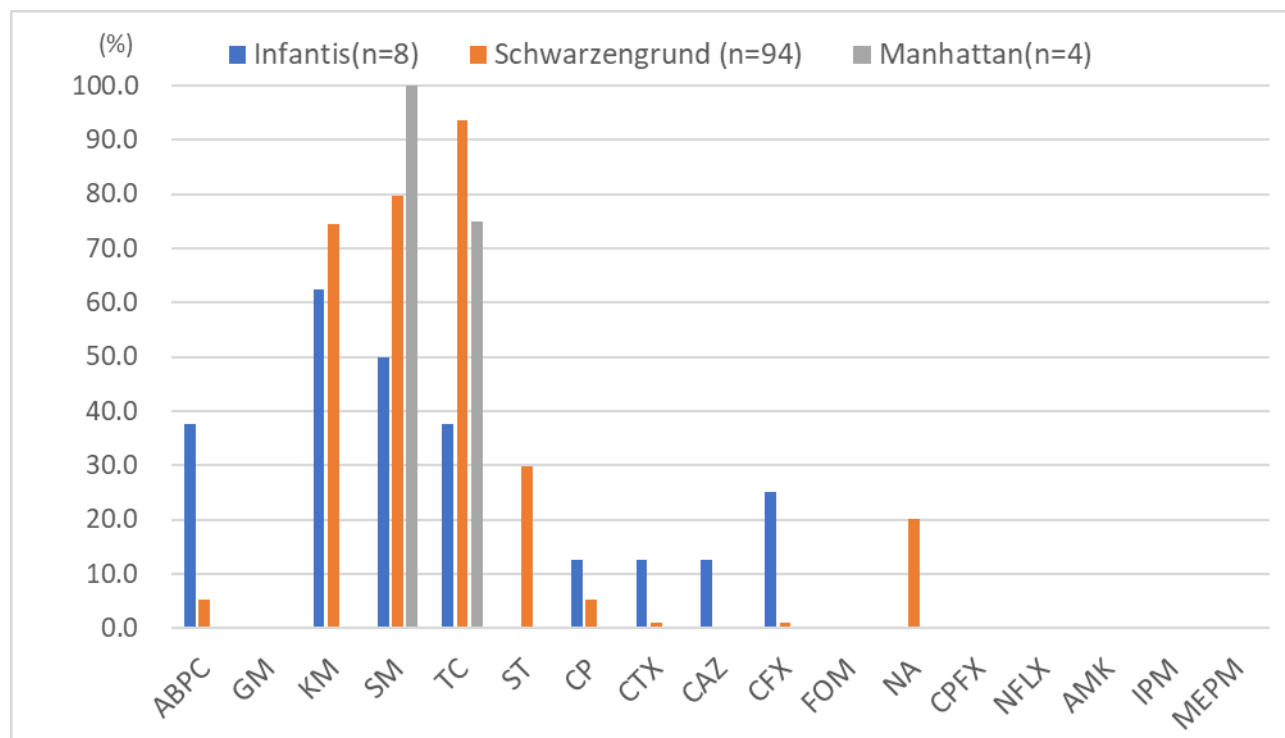


表7. ヒト由来 *S. Infantis* の耐性率 (2015-2020年)

	2015 (n=34)	2016 (n=48)	2017 (n=48)	2018 (n=22)	2019 (n=16)	2020 (n=19)	計 (n=187)
ABPC	0.0	2.1	0.0	9.1	6.3	5.3	2.7
GM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
KM	20.6	14.6	6.3	22.7	12.5	5.3	13.4
SM	29.4	33.3	20.8	50.0	31.3	26.3	30.5
TC	47.1	33.3	22.9	54.5	37.5	47.4	37.4
ST	14.7	14.6	2.1	18.2	0.0	21.1	11.2
CP	0.0	0.0	0.0	9.1	6.3	5.3	2.1
CTX	0.0	0.0	0.0	4.5	6.3	5.3	1.6
CAZ	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.3	0.5
CFX	0.0	2.1	0.0	0.0	0.0	5.3	1.1
FOM	0.0	0.0	0.0	0.0	6.3	0.0	0.5
NA	8.8	4.2	8.3	0.0	12.5	5.3	6.4
CPFX	0.0	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	0.0
AMK	0.0	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	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

表8. ヒト由来 <i>S. Enteritidis</i> の耐性率 (2015-2020年)							
	2015	2016	2017	2018	2019	2020	計
	(n=39)	(n=41)	(n=50)	(n=43)	(n=37)	(n=35)	(n=245)
ABPC	5.1	19.5	6.0	7.0	5.4	0.0	7.3
GM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
KM	2.6	2.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.8
SM	12.8	12.2	14.0	14.0	5.4	2.9	10.6
TC	10.3	2.4	6.0	9.3	5.4	2.9	6.1
ST	5.1	0.0	0.0	0.0	0.0	5.7	1.6
CP	2.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4
CTX	0.0	2.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4
CAZ	0.0	2.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.4
CFX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
FOM	0.0	0.0	0.0	2.3	0.0	0.0	0.4
NA	10.3	26.8	14.0	25.6	10.8	14.3	17.1
CPFX	0.0	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	0.0
AMK	0.0	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	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

表9. ヒト由来 <i>S. Thompson</i> の耐性率 (2015-2020年)							
	2015	2016	2017	2018	2019	2020	計
	(n=28)	(n=28)	(n=30)	(n=29)	(n=27)	(n=11)	(n=153)
ABPC	0.0	10.7	0.0	0.0	7.4	0.0	3.3
GM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
KM	7.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.3
SM	7.1	7.1	3.3	6.9	0.0	0.0	4.6
TC	3.6	7.1	6.7	0.0	0.0	0.0	3.3
ST	0.0	7.1	0.0	0.0	0.0	0.0	1.3
CP	0.0	7.1	0.0	0.0	0.0	0.0	1.3
CTX	0.0	10.7	0.0	0.0	0.0	0.0	2.0
CAZ	0.0	7.1	0.0	0.0	0.0	0.0	1.3
CFX	0.0	7.1	0.0	0.0	0.0	0.0	1.3
FOM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NA	0.0	0.0	0.0	3.4	0.0	0.0	0.7
CPFX	0.0	7.1	0.0	0.0	0.0	0.0	1.3
NFLX	0.0	7.1	0.0	0.0	0.0	0.0	1.3
AMK	0.0	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	0.0
MEPM	0.0	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 (2015-2020年)							
	2015	2016	2017	2018	2019	2020	計
	(n=60)	(n=37)	(n=36)	(n=36)	(n=23)	(n=24)	(n=216)
ABPC	71.7	64.9	77.8	86.1	82.6	79.2	75.9
GM	1.7	0.0	2.8	0.0	0.0	0.0	0.9
KM	3.3	5.4	2.8	8.3	4.3	4.2	4.6
SM	73.3	70.3	80.6	91.7	82.6	70.8	77.8
TC	85.0	62.2	77.8	80.6	65.2	50.0	73.1
ST	5.0	10.8	5.6	8.3	8.7	0.0	6.5
CP	3.3	10.8	8.3	13.9	8.7	4.2	7.9
CTX	0.0	2.7	2.8	2.8	0.0	0.0	1.4
CAZ	0.0	2.7	2.8	0.0	0.0	0.0	0.9
CFX	0.0	0.0	2.8	0.0	0.0	0.0	0.5
FOM	0.0	2.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5
NA	1.7	2.7	5.6	0.0	0.0	0.0	1.9
CPFX	0.0	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	0.0
AMK	0.0	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	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

表11. ヒト由来 S.Saintpaul の耐性率 (2015-2020年)							
	2015	2016	2017	2018	2019	2020	計
	(n=27)	(n=26)	(n=42)	(n=10)	(n=8)	(n=12)	(n=125)
ABPC	7.4	7.7	14.3	10.0	0.0	8.3	9.6
GM	0.0	0.0	2.4	0.0	0.0	0.0	0.8
KM	0.0	3.8	4.8	0.0	0.0	0.0	2.4
SM	3.7	3.8	11.9	0.0	0.0	8.3	6.4
TC	40.7	15.4	21.4	10.0	12.5	25.0	23.2
ST	0.0	11.5	16.7	10.0	12.5	8.3	10.4
CP	3.7	0.0	14.3	0.0	12.5	0.0	6.4
CTX	0.0	0.0	11.9	0.0	0.0	0.0	4.0
CAZ	0.0	0.0	2.4	0.0	0.0	0.0	0.8
CFX	0.0	3.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.8
FOM	0.0	0.0	2.4	0.0	0.0	0.0	0.8
NA	7.4	3.8	19.0	0.0	0.0	0.0	8.8
CPFX	3.7	0.0	9.5	0.0	0.0	0.0	4.0
NFLX	3.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.8
AMK	0.0	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	0.0
MEPM	0.0	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
(2020 年分離株 n=115)

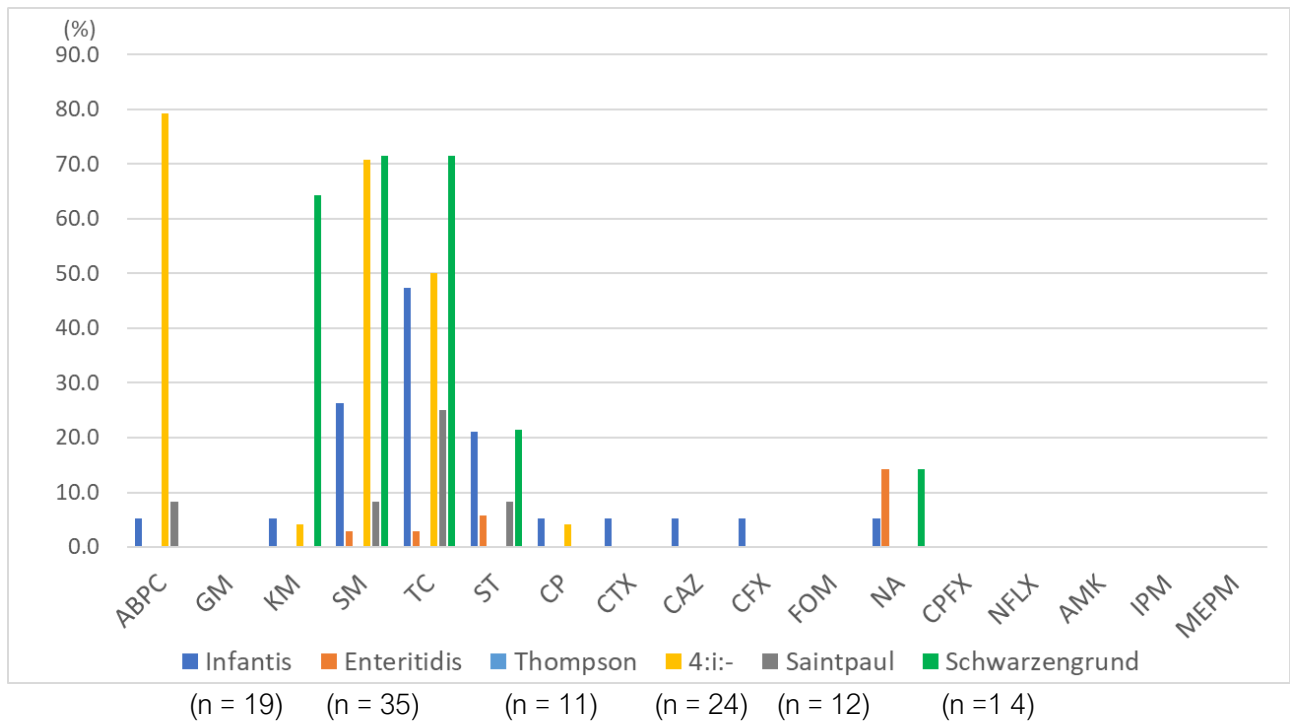


表12. ヒト及び食品から検出される *S. Infantis*, *S. Schwarzengrund*, *S. Manhattan* の耐性率 (2020年)

	Infantis		Schwarzengrund		Manhattan	
	ヒト (n=19)	食品 (n=8)	ヒト (n=14)	食品 (n=94)	ヒト (n=5)	食品 (n=4)
ABPC	5.3	37.5	0.0	5.3	0.0	0.0
GM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
KM	5.3	62.5	64.3	74.5	0.0	0.0
SM	26.3	50.0	71.4	79.8	100.0	100.0
TC	47.4	37.5	71.4	93.6	100.0	75.0
ST	21.1	0.0	21.4	29.8	0.0	0.0
CP	5.3	12.5	0.0	5.3	0.0	0.0
CTX	5.3	12.5	0.0	1.1	0.0	0.0
CAZ	5.3	12.5	0.0	0.0	0.0	0.0
CFX	5.3	25.0	0.0	1.1	0.0	0.0
FOM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NA	5.3	0.0	14.3	20.2	0.0	0.0
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

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
(2020 年分離株) (表 12 のグラフ)

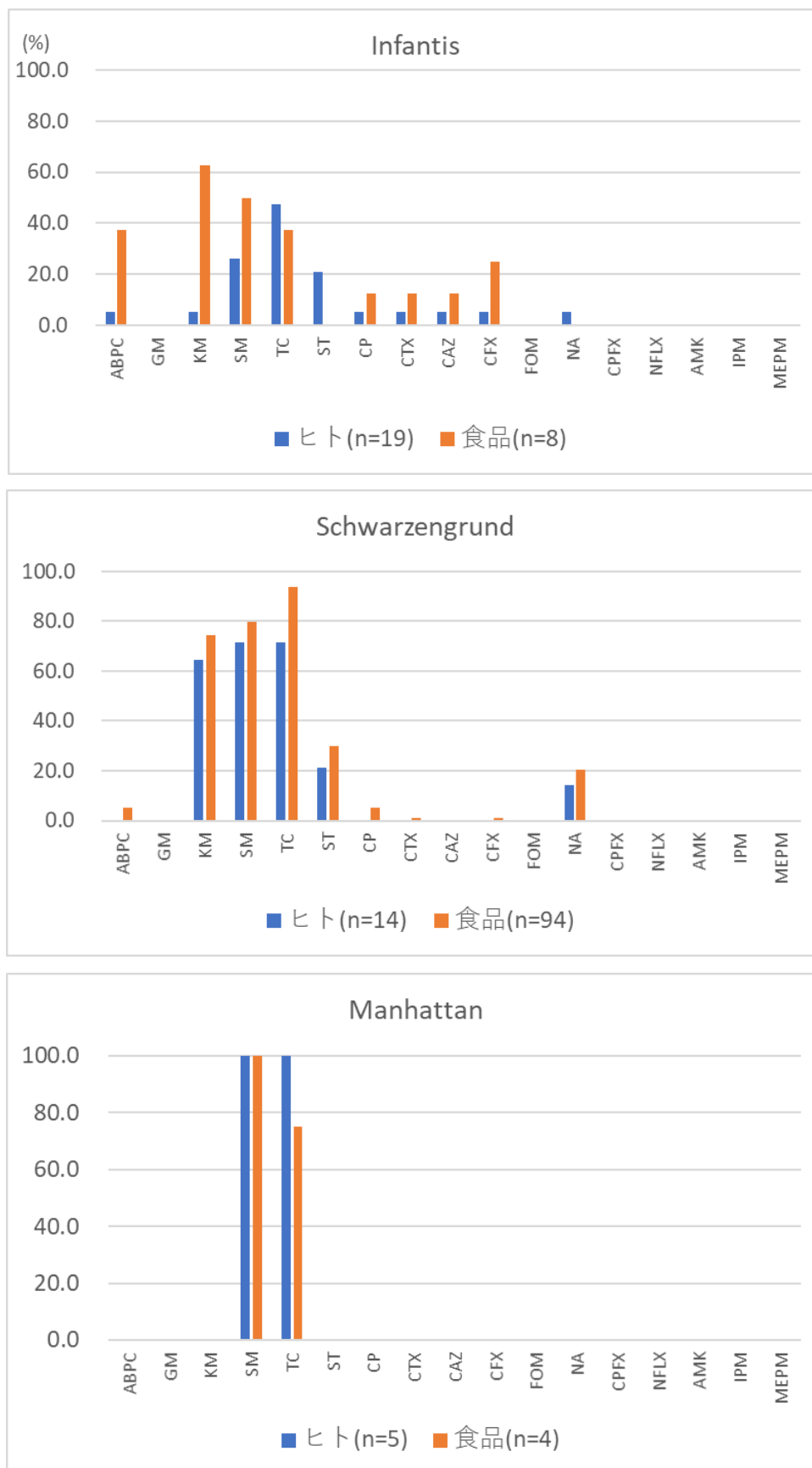


表13. 本研究で用いた大腸菌株の分類

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</i> , EAF	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</i> , CVD432	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
(2015～2020年分離株)

ヒト由来株 (n=1852)					食品由来株 (n=96)				
	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	35	30.4	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	74	43.3		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	56	35	62.5		下痢原性	15	9	60.0
	その他	36	26	72.2		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	35	24	68.6		下痢原性	2	1	50.0
	その他	27	20	74.1		その他	1	0	0.0
	計	344	117	34.0		計	5	2	40.0
2020	EHEC	326	93	28.5	2020	EHEC	5	1	20.0
	下痢原性	25	18	72.0		下痢原性	5	3	60.0
	その他	13	11	84.6		その他	11	4	36.4
	計	364	122	33.5		計	21	8	38.1
計	EHEC	1515	418	27.6	計	EHEC	17	5	29.4
	下痢原性	197	139	70.6		下痢原性	35	22	62.9
	その他	140	101	72.1		その他	44	24	54.5
	計	1852	658	35.5		計	96	51	53.1

下痢原性EC：ETEC, EIEC, EPEC, EAggEC, 他の下痢原性EC

その他：病原因子陰性株及び病原因子未検査株

食品由来株には外国産のものも含む

図7. ヒト由来大腸菌株の多剤耐性状況
(2015～2020年分離株の1剤以上耐性株)

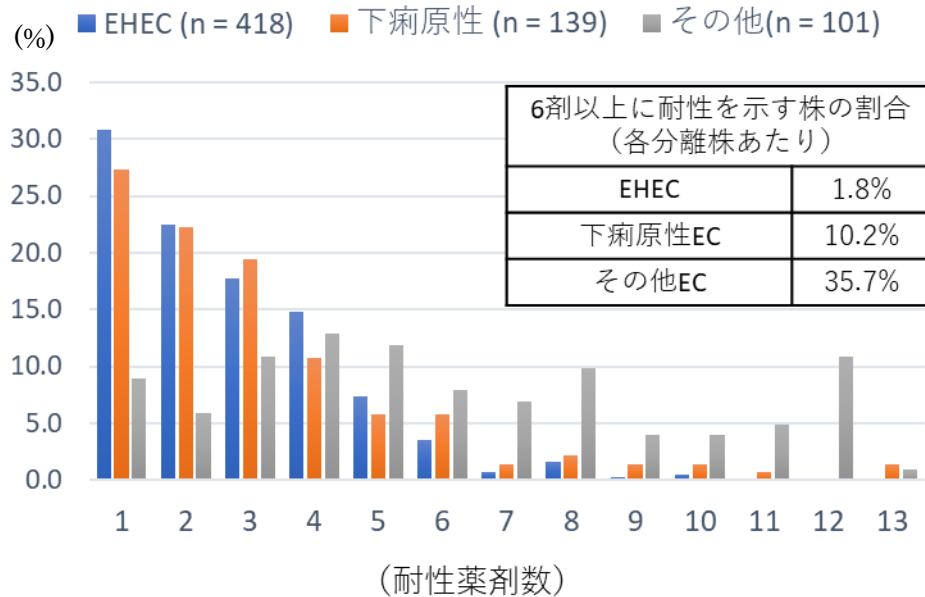


図8. ヒト由来大腸菌株の各種薬剤耐性率
(2015～2020年分離株)

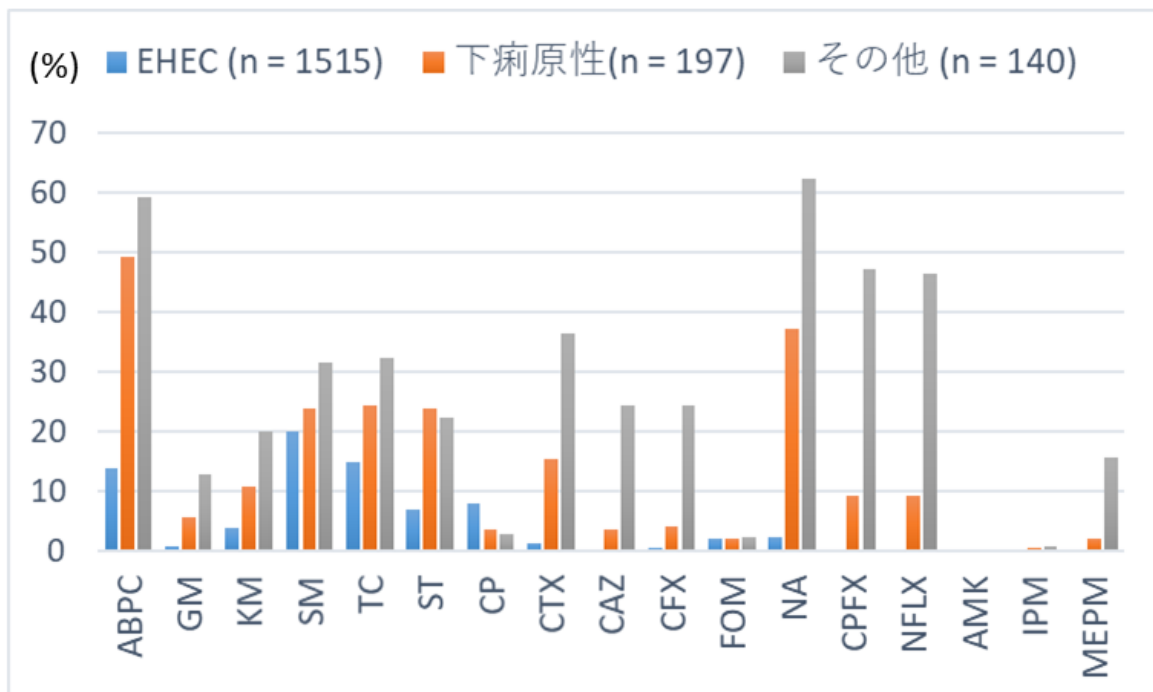


表15. ヒト及び食品由来*C. jejuni/coli* の耐性率
(2018～2020年分離株)

ヒト由来C.jejuni及びC.coliの耐性率(2018-2020)																					
	2018			2019			2020			2018-2020											
	jejuni (n=94)	coli (n=6)	合計 (n=100)	jejuni (n=145)	coli (n=10)	合計 (n=155)	jejuni (n=100)	coli (n=7)	合計 (n=107)	jejuni (n=339)	coli (n=23)	合計 (n=362)									
EM	2.1	16.7	3.0	1.4	10.0	1.9	0.0	28.6	1.9	1.2	17.4	2.2									
TC	16.0	33.3	17.0	31.0	30.0	31.0	28.0	57.1	29.9	26.0	39.1	26.8									
CET	92.6	100.0	93.0	98.6	100.0	98.7	99.0	100.0	99.1	97.1	100.0	97.2									
CPFX	44.7	83.3	47.0	66.9	80.0	67.7	55.0	42.9	54.2	57.2	69.6	58.0									
NA	45.7	83.3	48.0	66.2	80.0	67.1	56.0	42.9	55.1	57.5	69.6	58.3									
ABPC	11.7	33.3	13.0	23.4	40.0	24.5	13.0	14.3	13.1	17.1	30.4	18.0									
1剤以上耐性数	89	6	95	145	10	155	100	7	107	334	23	357									
1剤以上耐性率	94.7	100.0	95.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	100.0	98.5	100.0	98.6									

食品由来 <i>C.jejuni</i> 及び <i>C.coli</i> の耐性率(2018-2020)															
	2018				2019				2020				2018-2020		
	<i>jejuni</i> (n=60)	<i>coli</i> (n=12)	合計 (n=72)		<i>jejuni</i> (n=74)	<i>coli</i> (n=12)	合計 (n=86)		<i>jejuni</i> (n=103)	<i>coli</i> (n=8)	合計 (n=111)		<i>jejuni</i> (n=237)	<i>coli</i> (n=32)	合計 (n=269)
EM	0.0	25.0	4.2		1.4	25.0	4.7		0.0	50.0	3.6		0.4	31.3	4.1
TC	25.0	58.3	30.6		31.1	66.7	36.0		28.2	50.0	29.7		28.3	59.4	32.0
CET	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0		99.0	100.0	99.1		99.6	100.0	99.6
CPFX	35.0	58.3	38.9		44.6	58.3	46.5		41.7	50.0	42.3		40.9	56.3	42.8
NA	35.0	58.3	38.9		44.6	58.3	46.5		42.7	50.0	43.2		41.4	56.3	43.1
ABPC	30.0	16.7	27.8		18.9	50.0	23.3		21.4	25.0	21.6		22.8	31.3	23.8
1剤以上耐性数	60	12	72		74	12	86		102	8	110		236	32	268
1剤以上耐性率	100.0	100.0	100.0		100.0	100.0	100.0		99.0	100.0	99.1		99.6	100.0	99.6

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)
(2018～2020年分離株)

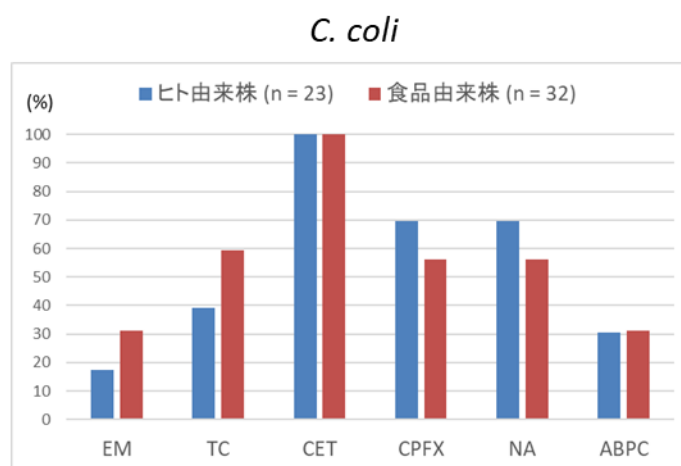
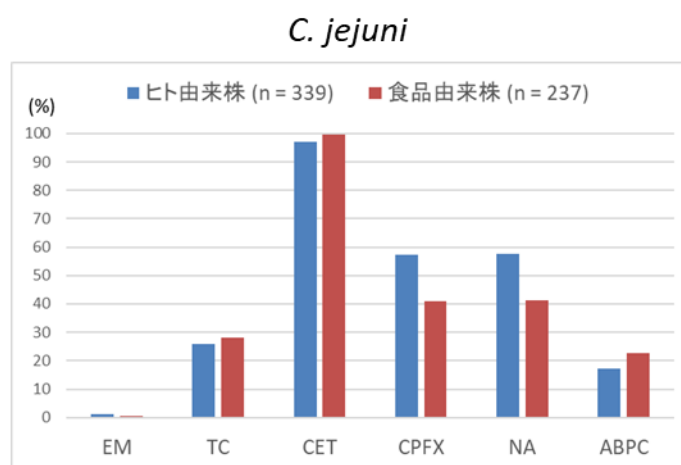


図10. サルモネラ株及び大腸菌株におけるESBL産生遺伝子及びAmpC遺伝子の検出

対象菌株：2015～2019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を鋳型にPCR反応で検出

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	CCAGCAGGATCTGGTGGACTAC	231bp	EBC型	EBCMF	TCCGTAAGCCGATGTTGCGG	302bp
	SHV-517R	CCGGGAAGCGCCTCAT			EBCMR	CTTCACTGCGGCTGCCAGTT	
CTX-M-1型	cbxm1-115F	GAATTAGAGCGGCAGTCGGG	588bp	ACC型	ACCMF	AACAGCCTCAGCAGCCGGTTA	346bp
	cbxm1-702R	CACAACCCAGGAAGCAGGC			ACCMR	TTCCGCCCAATCATCCCTAGC	
CTX-M-2型	cbxm2-39F	GATGGCGACGCTACCCC	107bp	DHA型	DHAMF	AACTTTCACAGGTGTGCTGGGT	405bp
	cbxm2-145R	CAAGCCGACCTCCCGAAC			DHAMR	CCGTACGCATACTGGCTTTGC	
CTX-M-8/25型	cbxm8g25g-533F	GCGACCCGCGCGATAC	186bp	CIT型	CITMF	TGGCCAGAACTGACAGGCAAA	462bp
	cbxm8g25g-718R	TGCCGGTTTTATCCCCG			CITMR	TTTCTCTGAACGTGGCTGGC	
CTX-M-9型	cbxm9-16F	GTGCAACGGATGATGTTCCG	475bp	MOX型	MOXMF	GCTGCTCAAGGAGCACAGGAT	520bp
	cbxm9-490R	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
(2015～2019年分離株)

ヒト由来株					食品由来株				
分離年	耐性数	CTX	CAZ	CFX	分離年	耐性数	CTX	CAZ	CFX
1 2015	5	R	R	S	1 2015	9	R	R	R
2 2016	2	R	S	S	2 2015	6	R	R	R
3 2016	6	R	R	R	3 2015	8	R	R	R
4 2016	5	R	R	S	4 2015	5	R	R	S
5 2016	7	R	R	S	5 2015	5	R	R	S
6 2016	7	R	R	S	6 2015	5	R	R	S
7 2016	7	R	R	S	7 2015	6	R	R	S
8 2016	8	R	R	S	8 2015	7	R	I	R
9 2016	10	R	R	R	9 2016	6	R	R	R
10 2016	10	R	R	R	10 2016	8	R	R	R
11 2016	3	S	S	R	11 2016	8	R	R	R
12 2016	2	S	S	R	12 2016	7	R	R	S
13 2017	7	R	R	S	13 2016	7	R	R	S
14 2017	7	R	R	S	14 2016	5	R	R	S
15 2017	5	R	R	S	15 2016	7	I	R	R
16 2017	5	R	R	S	16 2017	7	R	R	R
17 2017	7	R	S	S	17 2017	7	R	R	R
18 2017	4	R	S	S	18 2017	7	R	R	R
19 2017	8	R	I	S	19 2017	6	R	R	R
20 2017	8	R	I	S	20 2017	6	R	R	R
21 2017	2	R	S	S	21 2017	6	R	R	R
22 2017	8	R	S	S	22 2017	6	R	S	S
23 2017	8	R	R	R	23 2017	6	I	R	R
24 2017	9	R	R	R	24 2018	7	R	R	R
25 2017	11	R	R	S	25 2018	8	R	R	R
26 2018	2	R	I	S	26 2018	8	R	R	R
27 2018	6	R	I	S	27 2018	7	R	R	R
28 2018	6	R	R	R	28 2018	5	R	R	S
29 2018	4	R	I	I	29 2018	7	R	R	S
30 2018	3	R	R	S	30 2018	6	I	I	R
31 2018	7	R	R	S	31 2018	6	R	R	R
32 2018	3	R	R	S	32 2019	6	R	R	R
33 2018	7	R	R	S	33 2019	6	R	R	R
34 2018	8	R	R	R	34 2019	6	R	R	R
35 2018	11	R	R	S	35 2019	6	R	R	R
36 2019	7	R	R	S	36 2019	6	R	R	R
37 2019	7	R	R	S	37 2019	5	R	R	S
38 2019	8	R	S	S	38 2019	3	R	I	R
39 2019	9	R	S	S	39 2019	5	R	I	R
40 2020	7	R	R	R	40 2020	6	R	R	R
41 2020	8	R	R	R	41 2020	8	R	R	R
					42 2020	7	R	R	R
					43 2020	6	R	R	R
					44 2020	6	R	R	R
					45 2020	5	R	S	R
					46 2020	5	I	S	R

耐性遺伝子	ヒト由来株	食品由来株
ESBL (gr: group)		
CTX-M-1 gr.	11	6
CTX-M-2 gr.	1	1
CTX-M-8/25 gr.	0	0
CTX-M-9 gr.	6	0
SHV型	1	0
TEM型	6	6
AmpC		
ACC型	0	0
CIT型	5	22
DHA型	1	0
EBC型	0	3
FOX型	0	0
MOX型	0	0

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
(2015～2019年分離株)

分類	分離年	耐性数	CTX	CAZ	CFX
1 EHEC	2016	3	R	I	S
2 EHEC	2016	1	R	S	S
3 EHEC	2017	3	R	S	S
4 EHEC	2018	2	R	I	S
5 EHEC	2018	2	R	I	I
6 EHEC	2018	2	R	I	S
7 EHEC	2018	3	R	R	S
8 EHEC	2018	2	R	S	S
9 EHEC	2019	2	R	S	S
10 EHEC	2019	2	R	S	S
11 EHEC	2019	2	R	I	S
12 EHEC	2019	2	R	I	S
13 EHEC	2019	2	R	I	S
14 EHEC	2019	2	R	S	S
15 EHEC	2019	2	R	I	S
16 EHEC	2019	2	R	I	S
17 EHEC	2019	2	R	S	S
18 EHEC	2019	2	R	I	S
19 EHEC	2019	2	R	I	S
20 EHEC	2019	2	R	I	S
21 EHEC	2020	8	S	S	R
22 EHEC	2020	8	S	S	R
23 EHEC	2020	8	S	S	R
24 EHEC	2017	9	S	S	R
25 EHEC	2017	10	S	S	R
26 EHEC	2017	10	S	S	R
27 下痢性株	2015	3	R	S	S
28 下痢性株	2016	6	R	S	S
29 下痢性株	2015	2	R	S	S
30 下痢性株	2015	4	R	S	S
31 下痢性株	2016	3	R	S	S
32 下痢性株	2016	2	R	S	S
33 下痢性株	2016	2	R	I	S
34 下痢性株	2019	6	R	S	S
35 下痢性株	2016	4	R	R	S
36 下痢性株	2016	3	R	S	S
37 下痢性株	2017	4	R	S	S
38 下痢性株	2020	6	R	S	S
39 下痢性株	2018	3	R	I	S
40 下痢性株	2018	9	R	S	S
41 下痢性株	2018	5	R	S	S
42 下痢性株	2019	3	R	S	S
43 下痢性株	2019	4	R	S	S
44 下痢性株	2019	4	R	R	S
45 下痢性株	2020	9	R	I	S
46 下痢性株	2020	9	R	R	R
47 下痢性株	2018	5	S	S	S
48 下痢性株	2018	10	R	R	R
49 下痢性株	2019	2	R	S	S
50 下痢性株	2020	2	R	S	S
51 下痢性株	2020	2	R	S	S
52 下痢性株	2019	11	R	R	S
53 下痢性株	2018	13	R	R	R
54 下痢性株	2018	13	R	R	R
55 下痢性株	2020	2	R	I	S
56 下痢性株	2020	5	R	S	S
57 下痢性株	2018	2	I	I	R
58 下痢性株	2018	2	I	I	R
59 下痢性株	2019	3	S	S	R
60 下痢性株	2020	4	S	S	R

分類	分離年	耐性数	CTX	CAZ	CFX
61 その他	2015	8	R	R	R
62 その他	2015	10	R	R	R
63 その他	2016	2	R	S	S
64 その他	2016	6	R	R	S
65 その他	2016	6	R	R	S
66 その他	2017	5	R	S	S
67 その他	2017	8	R	R	R
68 その他	2017	11	R	R	R
69 その他	2017	12	R	R	R
70 その他	2017	11	R	R	R
71 その他	2017	12	R	R	R
72 その他	2017	9	R	I	R
73 その他	2017	12	R	R	R
74 その他	2017	7	R	R	R
75 その他	2017	8	R	R	R
76 その他	2017	5	R	S	I
77 その他	2017	6	R	R	S
78 その他	2017	5	R	S	S
79 その他	2017	9	R	R	S
80 その他	2017	12	R	R	I
81 その他	2018	12	R	S	R
82 その他	2018	8	R	R	R
83 その他	2018	5	R	S	S
84 その他	2018	7	R	S	S
85 その他	2018	5	R	S	S
86 その他	2018	6	R	S	R
87 その他	2018	8	R	I	S
88 その他	2018	7	R	S	I
89 その他	2018	13	R	R	R
90 その他	2018	11	R	R	R
91 その他	2018	9	R	R	R
92 その他	2018	12	R	R	R
93 その他	2018	12	R	R	R
94 その他	2018	12	R	R	R
95 その他	2018	12	R	R	R
96 その他	2019	8	R	S	S
97 その他	2019	5	R	S	S
98 その他	2019	8	R	R	R
99 その他	2019	10	R	R	R
100 その他	2019	11	R	R	R
101 その他	2019	9	R	R	R
102 その他	2019	10	R	R	R
103 その他	2019	12	R	R	R
104 その他	2019	8	R	R	R
105 その他	2020	6	R	S	S
106 その他	2020	2	R	S	S
107 その他	2020	11	R	R	R
108 その他	2020	12	R	R	R
109 その他	2020	10	R	R	R
110 その他	2020	8	R	R	R
111 その他	2020	7	R	S	S
112 その他	2017	3	I	I	R
113 その他	2019	9	S	S	R

耐性遺伝子	EH EC	下痢原性	その他
ESBL (gr: group)			
CTX-M-1 gr.	16	13	8
CTX-M-2 gr.	1	2	16
CTX-M-8/25 gr.	0	0	0
CTX-M-9 gr.	0	9	18
SHV型	0	0	0
TEM型	16	9	16
AmpC			
ACC型	0	0	0
CIT型	0	0	1
DHA型	0	0	2
EBC型	0	0	0
FOX型	0	0	0
MOX型	0	0	0

表16. 2015～2019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を実施)

表16a

サルモネラ株

		11mm以下	12mm
ヒト由来	2015	4	69
	2016	9	33
	2017	3	64
	2018	1	22
	2019	6	7
	小計	23	195
食品由来	2015	3	25
	2016	2	10
	2017	1	1
	2018	0	2
	2019	6	1
	小計	12	39
合計		35	234

表16b

耐性遺伝子	ヒト由来株	食品由来株
mcr-1group	2	0
mcr-4	0	0
mcr-5	0	1
mcr-3group	0	0
mcr-8	0	0
mcr-9group	0	0

表16c

大腸菌株

		分類	11mm以下	12mm
ヒト由来	2015	EHEC	2	11
		下痢	0	0
		その他	0	0
	2016	EHEC	0	8
		下痢	0	1
		その他	0	0
	2017	EHEC	6	25
		下痢	0	1
		その他	1	3
	2018	EHEC	5	33
		下痢	1	3
		その他	6	4
	2019	EHEC	0	13
		下痢	0	0
		その他	2	0
合計		23	102	

表16d

耐性遺伝子	EHEC	下痢原性	その他
mcr-1group	1	1	0
mcr-4	0	0	0
mcr-5	0	0	0
mcr-3group	0	0	0
mcr-8	0	0	0
mcr-9group	0	0	0

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2年度 分担研究報告書

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	センター長
研究協力者	柴山 恵吾	国立感染症研究所細菌第二部	部長
	鈴木 里和	国立感染症研究所薬剤耐性研究センター	
	松井 真理	国立感染症研究所薬剤耐性研究センター	
	鈴木 仁人	国立感染症研究所薬剤耐性研究センター	
	矢原 耕史	国立感染症研究所薬剤耐性研究センター	
	平林 亜希	国立感染症研究所薬剤耐性研究センター	
	川上 小夜子	国立感染症研究所薬剤耐性研究センター	
	Liansheng Yu	国立感染症研究所薬剤耐性研究センター	
	鹿山 鎮男	国立感染症研究所薬剤耐性研究センター	
	久恒 順三	国立感染症研究所薬剤耐性研究センター	
	荒井 千夏	国立大学法人広島大学大学院医系科学研究科細菌学	
	島本 整	国立大学法人広島大学大学院統合生命科学研究科食品生命科学	
	梶原 俊樹	国立感染症研究所薬剤耐性研究センター	
	近藤 恒平	国立感染症研究所薬剤耐性研究センター	
	杳野 祥子	国立感染症研究所薬剤耐性研究センター	

研究要旨 GLASS の重複処理と JANIS の重複処理の違いを整理し、その違いによる集計値のズレが軽微であることを示した。WHO GLASS 方式により都道府県単位で集計したデータを国立国際医療研究センターのワンヘルスプラットフォームに提供し web 閲覧を可能にした。広島大学院内感染症プロジェクト研究センターにて 2008 年から収集した臨床分離 ESBL 産生株のうち初期の株を用い、ESBL 遺伝子保有状況、レプリコン型別により大腸菌 22 株、肺炎桿菌 8 株、*Proteus mirabilis* 2 株を選択し、合計 25 株分のプラスミド完全塩基配列を取得した。食品由来菌株として国内小売店で購入した鶏肉から *bla_{TEM-1}* と *mcr-9* を保有するプラスミド、*bla_{NDM-1}* を保有するプラスミドをもつ肺炎桿菌、国内小売店で購入した生野菜から *bla_{NDM-1}* を保有する IncFII (K) プラスミドを持つ肺炎桿菌、*bla_{NDM-1}*、*bla_{CTX-M-15}* を保有する IncFII (K) プラスミド、*bla_{OXA-72}* を 2 コピー保有する GR2 プラスミドを持つ *Acinetobacter baumannii*、エジプトの牛肉から分離された *bla_{TEM-1}* と *mcr-9* を保有する IncHI2 プラスミドを持つ *Enterobacter hormaechei* を報告した。本研究班で構築した multiplex PCR による *mcr-1*～*mcr-10* の検出方法について作業手順書を作成し、地方衛生研究所に PCR 陽性コントロールとともに手順書を配布した。

（2 段で記載）

A. 研究目的

日本と世界各国の薬剤耐性の状況を比較するために、JANIS のデータを WHO GLASS が求める方式で集計可能にすると同時に、その重複処理の方式の違いが集計値にどの程度の影響を与えるのかを明らかにする。その上で、WHO GLASS 方式で集計したデータを一般に公開する。

ESBL 産生腸内細菌目細菌に関する基盤情報を

整えるため、広島県で経年的に分離した ESBL 産生株からヒト由来代表株を選択し、その Inc 型別を行う。選択した代表株についてゲノム解析を実施し、経年的な分子疫学解析を行うとともに家畜由来の ESBL 産生菌のプラスミドとの比較を行う。また、食品から分離される薬剤耐性菌について、すでに市場に出回っている野菜からの薬剤耐性菌の分離を試みる。

日本国内外の研究機関との共同研究にて、ESBL 産生株、カルバペネマーゼ産生株、および *mcr* 遺伝子保有株の遺伝子検査を行う。また、共同研究を通じて、臨床上問題となる薬剤耐性菌感染症の発生状況および動向を把握し、将来的に新たな予防・治療法等の開発へ貢献も試みる。

B. 研究方法

JANISデータの統計法に基づく研究利用申請を行った上で、GLASSの求める検査材料別の重複処理を行う機能を開発し、JANIS方式の重複処理を行った場合と集計値を比較する。さらに、WHO GLASS方式で都道府県単位での集計も行い、集計データをWebから閲覧可能にする。

ヒト由来ESBL産生株は広島県内の医療施設にて分離された菌株を使用した。また、野菜からの薬剤耐性菌の分離は選択培地を使用し、菌種同定をMALDI Biotyperにて実施するとともに、薬剤感受性パターンの測定を行った。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った。必要に応じて、MinIONを併用して完全長塩基配列を構築し、プラスミドの配列比較を行った。

共同研究機関にて臨床、食肉、野菜から分離された薬剤耐性菌を対象に、Illumina社のショートリードシーケンサーMiniSeq/MiSeq/HiSeqおよびOxford Nanopore Technologies社のロングリードシーケンサーMinION/GridIONを用いて、一塩基多型(SNP)による系統樹解析、染色体やプラスミド上の薬剤耐性遺伝子の詳細な解析を行う。

C. 研究結果

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国際誌に発表し、Wellcome Trust主催の国際カンファレンス発表した(口頭発表部門の第二位に選ばれた)。また、WHO GLASS方式により都道府県単位で集計したデータを、国立国際医療研究センターのワンヘルスプラットフォームに提供し、Webから閲覧可能にした。

広島大学 院内感染症プロジェクト研究センターにて2008年より収集した臨床由来ESBL産生株を今回の検討に使用した。収集対象菌種は *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *P. mirabilis*

であり、収集開始当時の基準であった CLSI M100-S18 に準拠し Double-disk synergy test (DDST)やPCRにて薬剤耐性遺伝子の確認を実施済の10,259株(図1)を用いた。これらの株から広島由来ESBL株の基本構成を確認する目的で、サーベイランス初期の株から完全長塩基配列を取得する株を選択した。菌種やPCR結果より得られたESBL遺伝子保有状況およびレプリコンタイプの情報をもとに代表株32株を選択した。内訳は、大腸菌22株、*K. pneumoniae* 8株、*Proteus mirabilis* 2株であった(図2)。

短鎖型シーケンサー (MiniSeq/ MiSeq/ HiSeq/ NovaSeq システム) および長鎖型シーケンサー (MinION/ GridION) にて完全長塩基配列決定を実施した。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った。

ESBL別では、

*bla*_{CTX-M-1} group 8株

*bla*_{CTX-M-2} group 5株

*bla*_{CTX-M-8} group 3株

*bla*_{CTX-M-9} group 9株

の合計25株分のプラスミド完全長塩基配列が得られた(図3)。

菌種別に見た場合、大腸菌ではプラスミドのみに *bla*_{CTX-M} を保有するものが12株、染色体のみに *bla*_{CTX-M} を保有するものが3株、それぞれ完全長塩基配列が得られた。5株は、染色体とプラスミドの両方にESBL遺伝子の存在が認められた。染色体とプラスミドで異なる種類の *bla*_{CTX-M} を保有する株は認められなかった(図4)。*K. pneumoniae* ではプラスミドのみに *bla*_{CTX-M} を保有するものが8株、染色体とプラスミドの両方に *bla*_{CTX-M} を保有するものが3株認められた。大腸菌と同様に、染色体とプラスミドで異なる種類の *bla*_{CTX-M} を保有する株は認められなかった(図5)。

プラスミドのInc type別で比較解析を実施した(図6~9)。IncNのように、基本骨格は保持しながら付加領域は比較的多様な構成のもの(図6)がある一方で、IncII、IncB/O/K/Z、IncFIIのようにプラスミド全体を通して比較的高い相同性が維持されているInc typeが存在した(図7~9)。

次に、プラスミド上と染色体上にそれぞれ存在する *bla*_{CTX-M} の周辺構造の類似性を比較する目的で、*bla*_{CTX-M} の5'-および3'-側のそれぞれ5kb周辺の塩基配列解析を行った(図10)。*bla*_{CTX-M-3}、*bla*_{CTX-M-14}、*bla*_{CTX-M-15}、*bla*_{CTX-M-55} の5'-側には転移因子ISEcpIが共通して認められ、ISEcpI-*bla*_{CTX-M} 周辺の塩基配列の構成は大きく異なっていた(図11~14)。このことから、*bla*_{CTX-M} の種類に関

わらず *ISEcp1* が転移に重要な働きをしていることが推察された。また、*bla_{CTX-M-2}* は 5'-側に *ISEcp1* が存在する株と存在しない株が認められた (図 1 5)。このことより、*bla_{CTX-M-2}* の伝播様式は他の *bla_{CTX-M}* とは異なるメカニズムの関与が推定された。一方で、*bla_{CTX-M-27}* の周辺は 5'-側に *ISEcp1* が存在するタイプと 5'-, 3'-側に転移因子 *IS26* が存在するタイプが認められた (図 1 6)。このように、周辺に *IS26* が存在するタイプとして *bla_{CTX-M-8}* があつた (図 1 7)。全国的にも分離報告数が少ない *bla_{CTX-M-8}* 保有プラスミドを比較したところ、医療施設や菌種が異なってもプラスミドの基本骨格の相同性が高いことが判明した。*IS26* による転移の報告は多数存在するが、なぜ周囲を *IS26* で囲まれていながら *bla_{CTX-M-8}* 保有プラスミドの構造が安定に保持されているのかは不明である。

これら *bla_{CTX-M}* 周辺の転移因子に着目して解析した結果をまとめた (図 1 8)。*bla_{CTX-M}* は *ISEcp1* による転移の頻度が最も多いと推定され、ついで *IS26* によるものも確認された。

今後、プラスミドの完全塩基配列データを引き続き経年的に取得すると共に、家畜由来の ESBL 産生菌のプラスミドとの比較を行う予定である。

共同研究にて以下の薬剤耐性菌の解析を行い、研究結果が国際学術雑誌に掲載された (表 1)。

1) 国内の食料品店の鶏肉から分離された *bla_{VIM-1}*、*bla_{NDM-1}*、*mcr-9* 保有 *K. pneumoniae* (LM22-1 株) の解析を実施し、*bla_{VIM-1}* と *mcr-9* を保有する IncHI2A プラスミドに pLM22-1-VIM-1 (281, 251 bp) と名付けるとともに *bla_{NDM-1}* を保有するプラスミドに pLM22-1-NDM-1 (124, 214 bp) と名付け、解析の結果を報告した (Antimicrob Agents Chemother, 64 aac. 00882-20, 2020)。(図 1 9)

2) *Salmonella* で報告されていた *Salmonella* genomic island のサブタイプを、エジプトにおける患者の尿路由来多剤耐性 *K. pneumoniae* Kpu48 株が保有する例を初めて報告した (Antimicrob Agents Chemother, 64: 9 e01055-20, 2020)。(図 2 0)

3) エジプトの牛肉から分離された *bla_{VIM-1}* と *mcr-9* を同時に保有する *E. hormaechei* MS37 株について完全塩基配列を解析したところ、これらの薬剤耐性遺伝子は共に IncHI2/pMLST1 plasmid 上に存在することが判明し、そのプラスミドを pMS37a (270.9 kb) と名付け報告した (Pathogens, 9, 687, 2020)。(図 2 1)

4) 国内のスーパーマーケットの野菜から分離された *K. pneumoniae* A015、A022 について、*bla_{NDM-1}*、*bla_{CTX-M-15}*、*bla_{TEM-1A}* を持つ IncFII(K):IncR プラスミドの比較解析を行ったところ、以前国産食肉か

ら分離された *K. pneumoniae* のプラスミド pLM22-1-NDM-1 と相同性が高いことが分かった。このプラスミドを保有する *K. pneumoniae* は野菜由来として日本で初めて報告された。また、*A. baumannii* A022 の染色体に *AbaR4-like genomic resistance island (GI)* が存在することが明らかにした。(Applied and Environmental Microbiology, in press) (図 2 2)

5) 2019 年エジプトで鳥の糞便から分離された 5 株の *E. coli* に、*tet(X7)* と *mcr-1.1* を同時に保有する IncHI2:HI2A プラスミドが検出された。鳥由来の大腸菌での報告が世界で初めてであった (Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Revision)。(図 2 3)

D. 考察

重複処理という薬剤耐性サーベイランスの基本問題に関する研究成果を国際誌に発表することができ、さらに集計データを Web サイト経由でわかりやすくオープンにすることが出来た。

共同研究で得られた結果は、日本において食品由来のカルバペネマーゼ産生菌が分離された最初の例を含み、食品におけるカルバペネム耐性菌のリスク評価をする必要があることが明らかとなった。

E. 結論

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Toshiki Kajihara, Koji Yahara, Sergey Romualdovich Eremin, Barbara Tornimben e, Visanu Thamlikitkul, John Stelling, Aki Hirabayashi, Eiko Anzai, Satoyo Wakai, Nobuaki Matsunaga, Kayoko Hayakawa, Norio Ohmagari, Motoyuki Sugai, and Keigo Shibayama. Comparison of de-duplication methods used by WHO Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) and Japan Nosocomial Infections Surveillance (JANIS) in the surveillance of antimicrobial resistance. PLoS One, 2020 Jun 26;15(6):e0228234. doi: 10.1371/journal.pone.0228234
- 2) Hiroki Kitagawa, Hiroki Ohge, Liansheng Yu, Shizuo Kayama, Toshinori Hara, Seiya Kashiyama, Toshiki Kajihara, Junzo Hisatsune, Taijiro Sueda, Motoyuki Sugai. *Aeromonas dhakensis* is not a rar

- e cause of *Aeromonas* bacteremia in Hiroshima, Japan. J Infect Chemother, 2020 Feb;26(2):316-320. doi: 10.1016/j.jiac.2019.08.020.
- 3) Liansheng Yu, Hiroki Kitagawa, Shizuo Kayama, Junzo Hisatsune, Hiroki Ohge, and Motoyuki Sugai. Complete genome sequence of *Aeromonas caviae* strain MS6064, the *mcr-3* carrying clinical isolate from Japan. Microbiology Resource Announcements (MRA01037-20R1), in press.
 - 4) Hazim O. Khalifa, Ahmed M. Soliman, Takashi Saito, Shizuo Kayama, Liansheng Yu, Junzo Hisatsune, Motoyuki Sugai, Hirofumi Nariya, Ashraf M. Ahmed, Toshi Shimamoto, Tetsuya Matsumoto, Tadashi Shimamoto. First Report of Foodborne *Klebsiella pneumoniae* Coharboring blaVIM-1, blaNDM-1, and mcr-9. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Aug 2020, 64 (9) e00882-20; DOI: 10.1128/AAC.00882-20
 - 5) Ahmed M. Soliman, Hazem Ramadan, Eslam Ghazy, Liansheng Yu, Junzo Hisatsune, Shizuo Kayama, Motoyuki Sugai, Hirofumi Nariya, Toshi Shimamoto, Charlene R. Jackson, Tadashi Shimamoto. Emergence of Salmonella Genomic Island 1 Variant SGI1-C in a Multidrug-Resistant Clinical Isolate of *Klebsiella pneumoniae* ST485 from Egypt. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, Aug 2020, 64 (9) e01055-20; DOI: 10.1128/AAC.01055-20
 - 6) Mustafa Sadek, Hirofumi Nariya, Toshi Shimamoto, Shizuo Kayama, Liansheng Yu, Junzo Hisatsune, Motoyuki Sugai, Patrice Nordmann, Laurent Poirel, and Tadashi Shimamoto. First Genomic Characterization of blaVIM-1 and mcr-9- Coharboring *Enterobacter hormaechei* Isolated from Food of Animal Origin. Pathogens, 2020 Aug 22;9(9):687. doi: 10.3390/pathogens909068
 - 7) Ahmed M Soliman, Hirofumi Nariya, Daiki Tanaka, Liansheng Yu, Junzo Hisatsune, Shizuo Kayama, Kohei Kondo, Motoyuki Sugai, Toshi Shimamoto, Tadashi Shimamoto. Vegetable-derived carbapenemase-producing high-risk *Klebsiella pneumoniae* ST15 and *Acinetobacter baumannii* ST2 clones in Japan: co-existence of blaNDM-1, blaOXA-66, blaOXA-72, and blaR4-like resistance island from the same sample. Applied and Environmental Microbiology (AEM0216620R2), in press.
- ## 2. 学会発表
- Koji Yahara, Toshiki Kajihara, Sergey Romualdovich Eremin, Barbara Tornimbene, Visanu Thamlikitkul, John Stelling, Aki Hirabayashi, Eiko Anzai, Satoyo Wakai, Nobuaki Matsunaga, Kayoko Hayakawa, Norio Ohmagari, Motoyuki Sugai, and Keigo Shibayama. Comparison of de-duplication methods used by WHO Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) and Japan Nosocomial Infections Surveillance (JANIS) in the surveillance of antimicrobial resistance. Antimicrobial Resistance - Genomes, Big Data and Emerging Technologies. November 5. Hinxton, UK.
- ## H. 知的財産権の出願・登録状況
1. 特許取得
 2. 実用新案登録
 3. その他

図 1

広島県で分離されたESBL産生菌 = 10,259 株

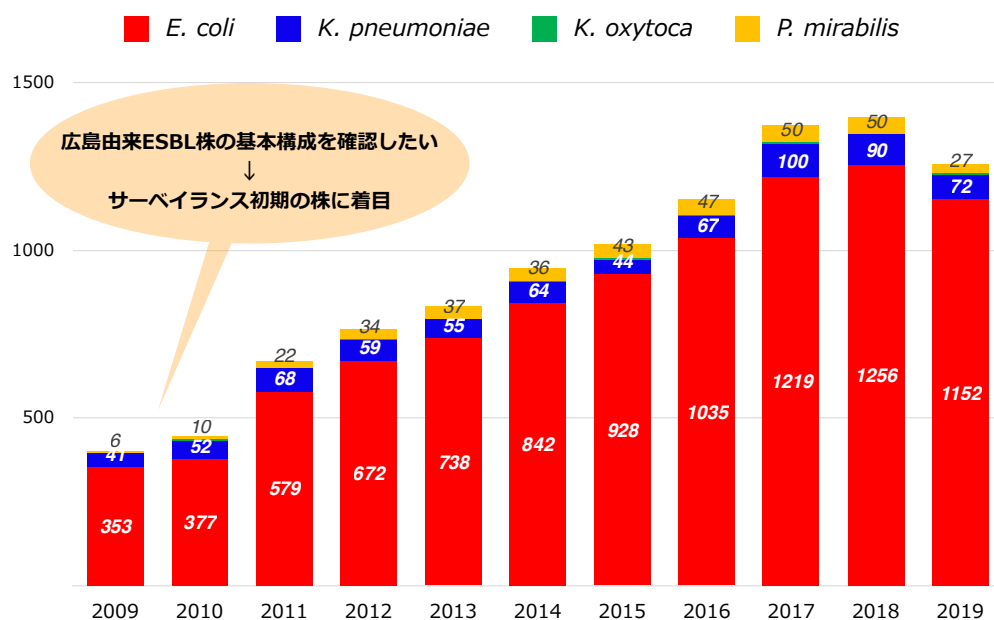


図 2

complete sequenceを得る株の選択

広島県で分離されたESBL産生菌の初期の株

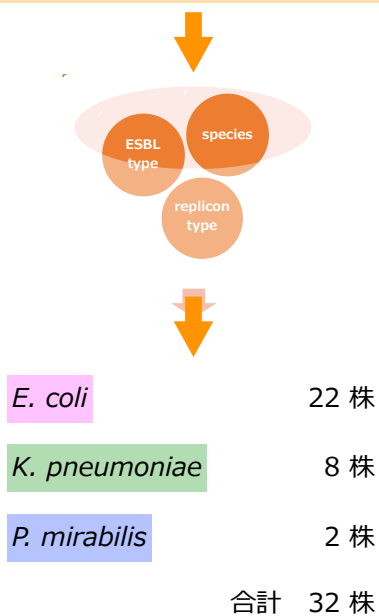


図 3

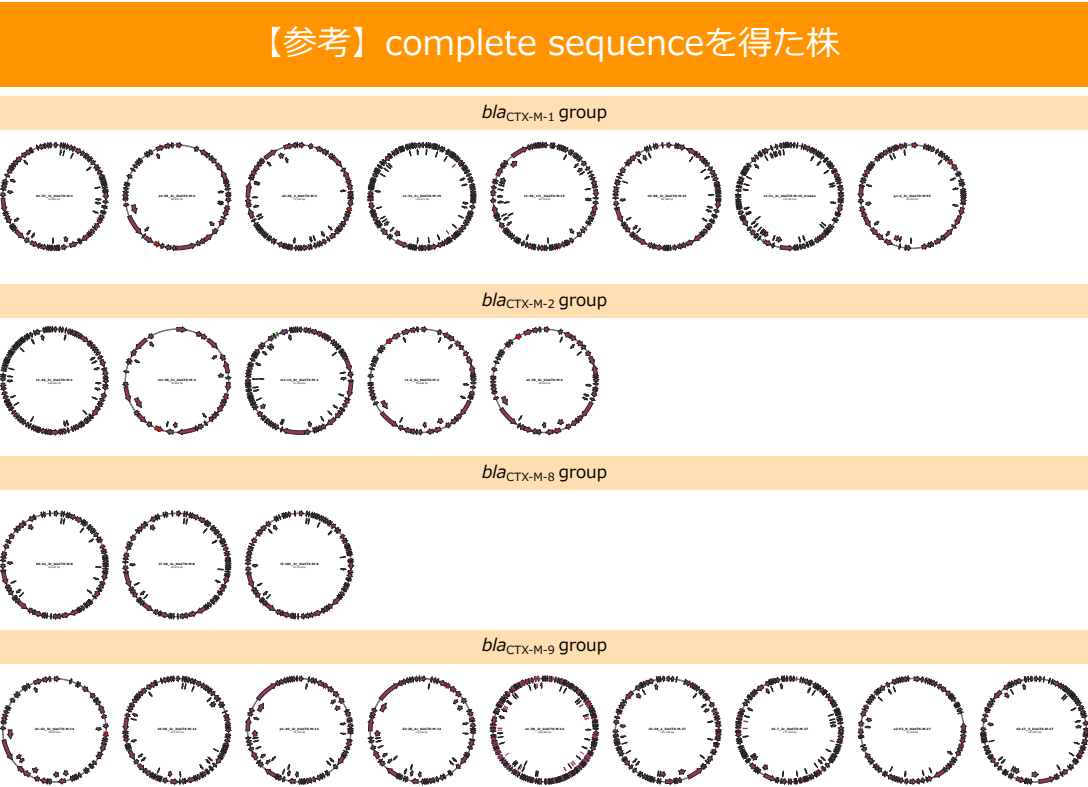
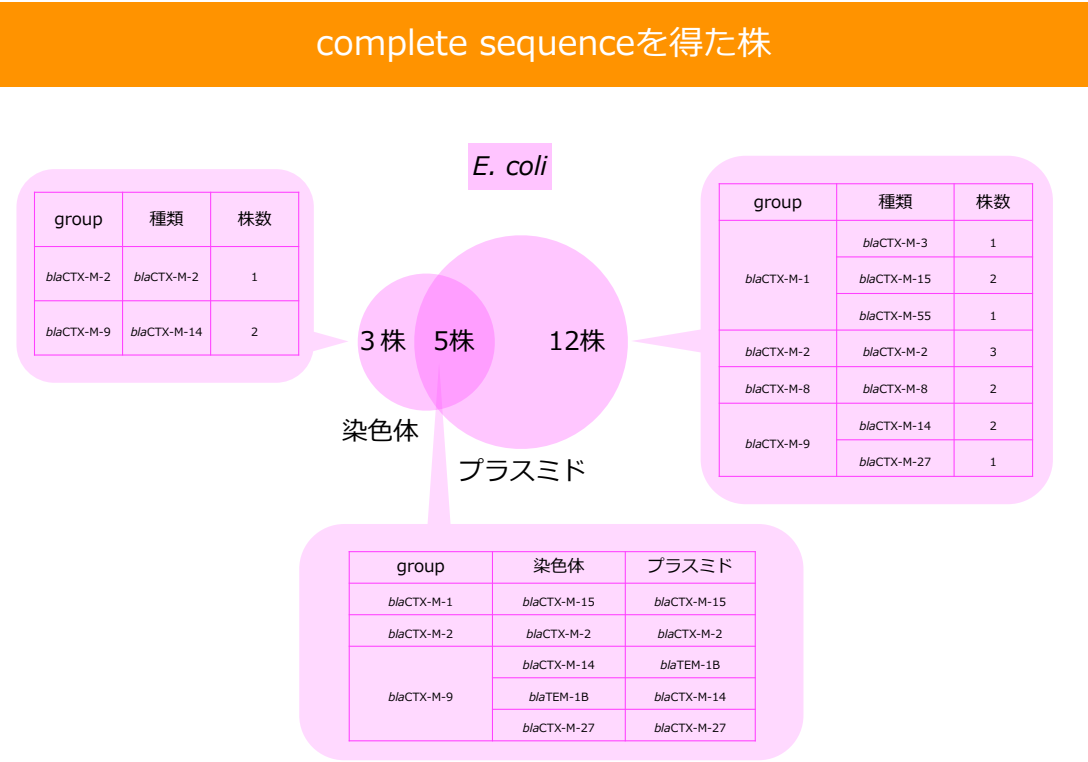


図 4



complete sequenceを得た株

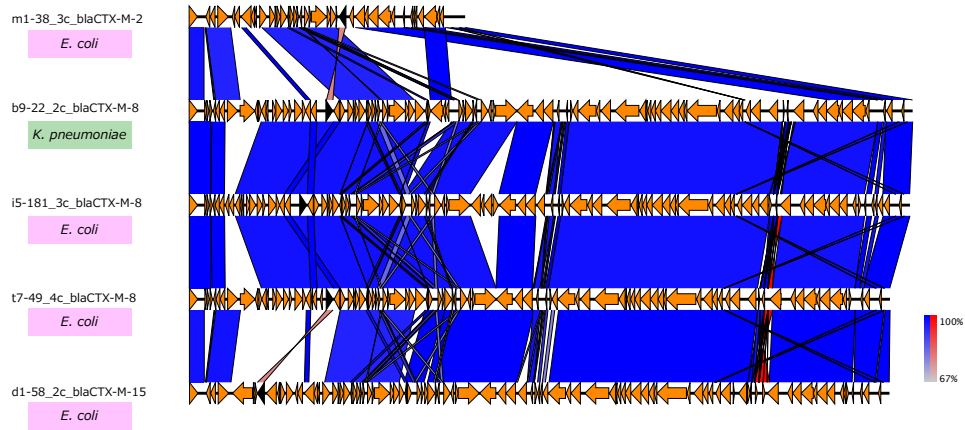


IncN plasmidの比較



図 7

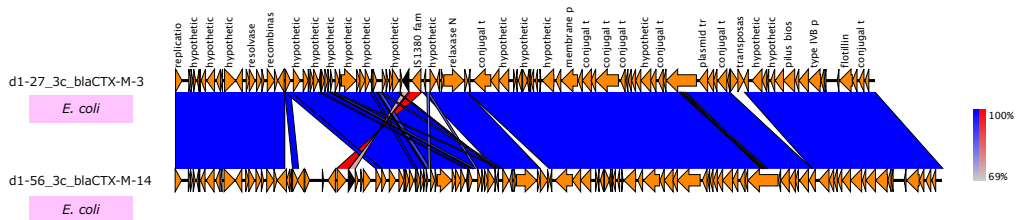
IncI1 plasmidの比較



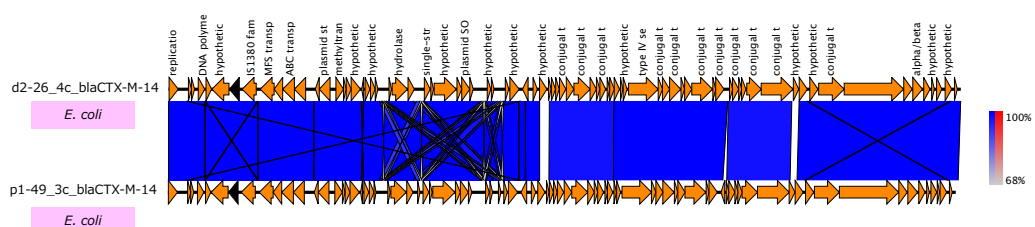
医療施設と菌種は異なるが、b9-22とt7-49は相同性が高い

図 8

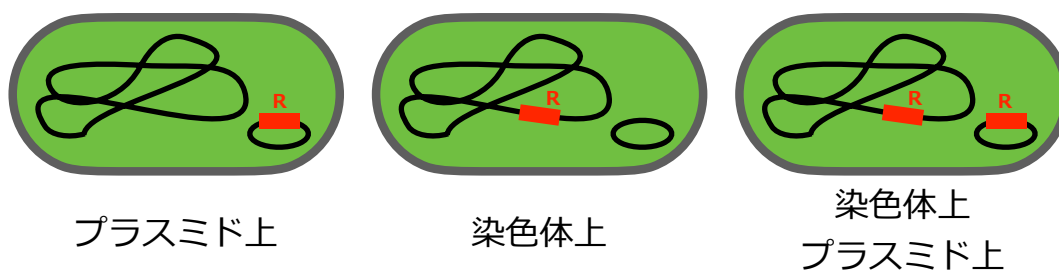
IncB/O/K/Z plasmidの比較



IncFII plasmidの比較



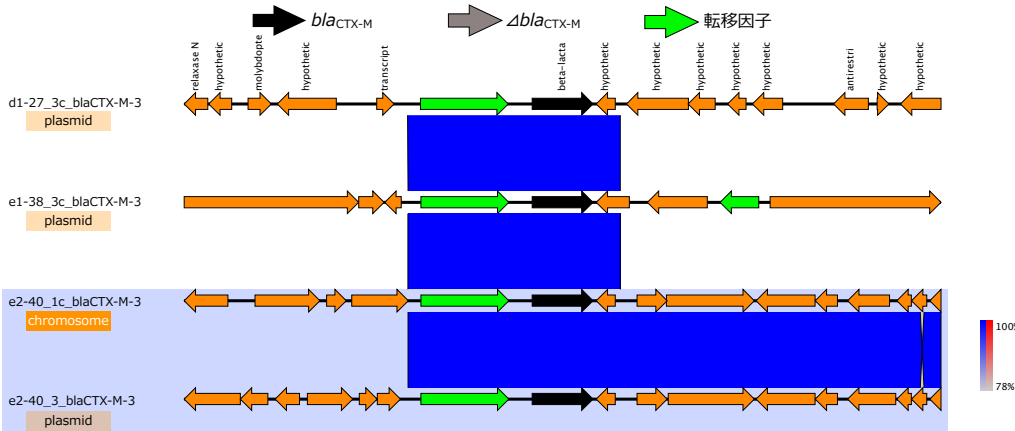
*bla*_{CTX-M}の周辺構造は？



プラスミド上と染色体上の塩基配列比較するため、*bla*_{CTX-M}の5 kb周辺配列を比較

图 1 1

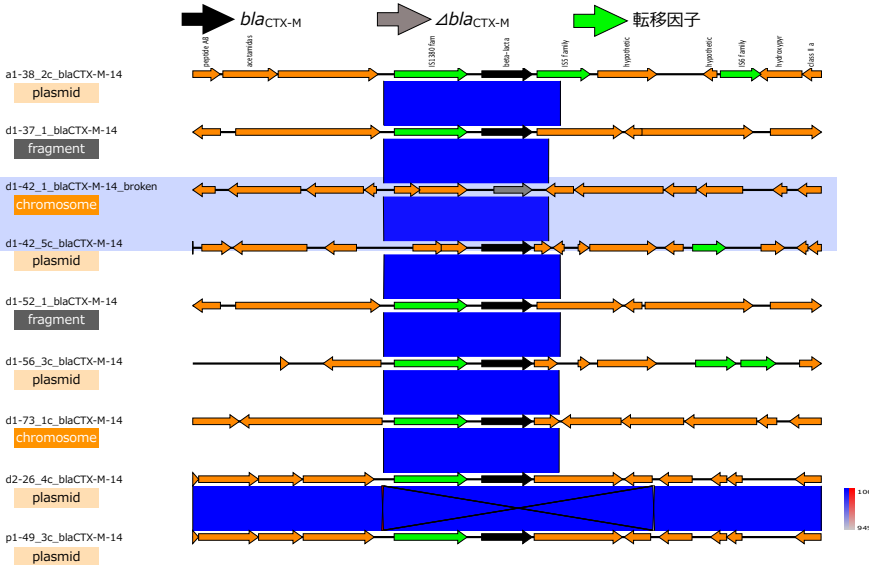
*bla*_{CTX-M-3}の周辺構造



*bla*_{CTX-M-3}の5'側にはISE*cp1*が認められたが、それ以外の構造は大きく異なっていた。

图 12

*bla*_{CTX-M-14}の周辺構造



*bla*_{CTX-M-14}の5'側にはISE*cp1*が存在し、その周辺は異なる

図 1 3

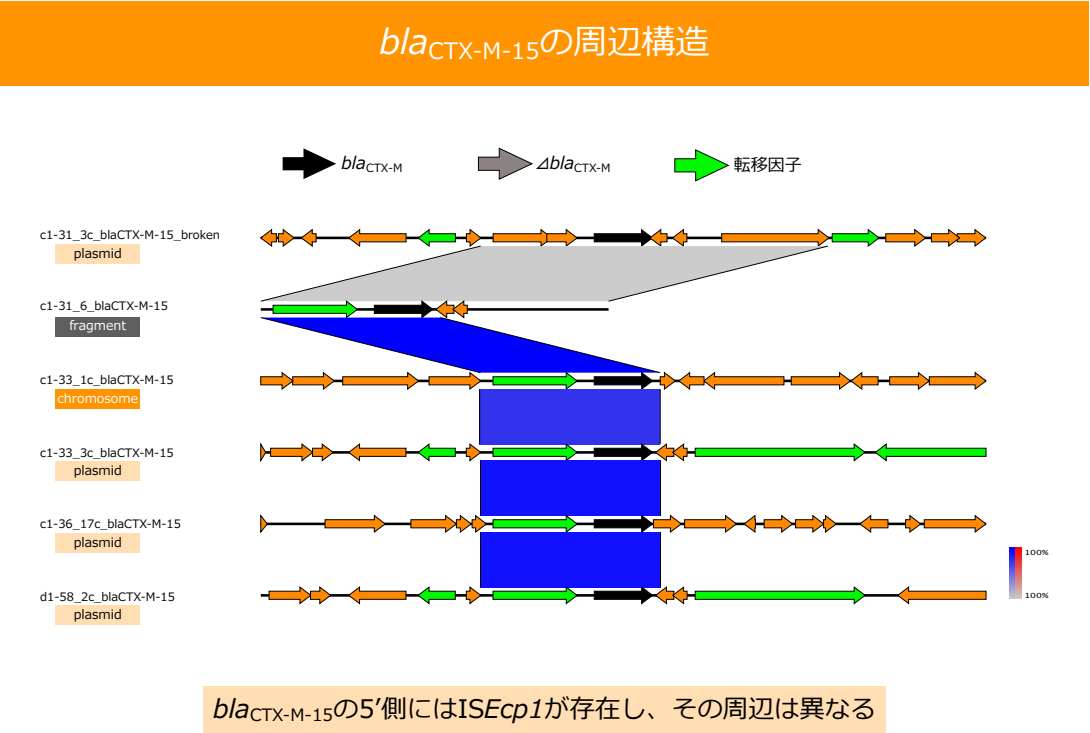


図 1 4

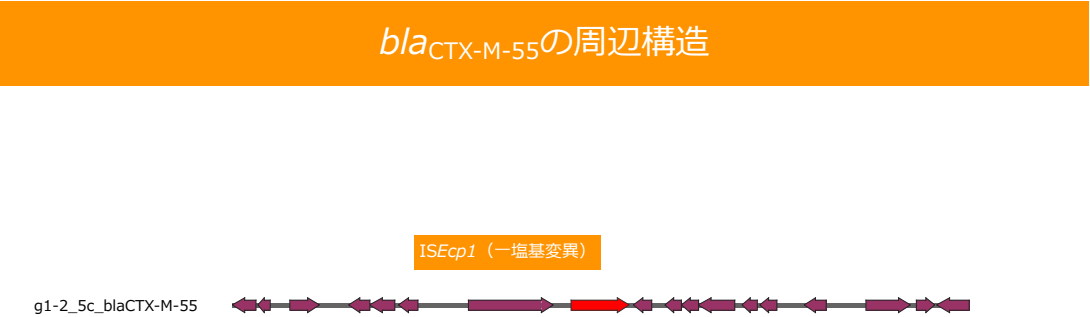


図 1 5

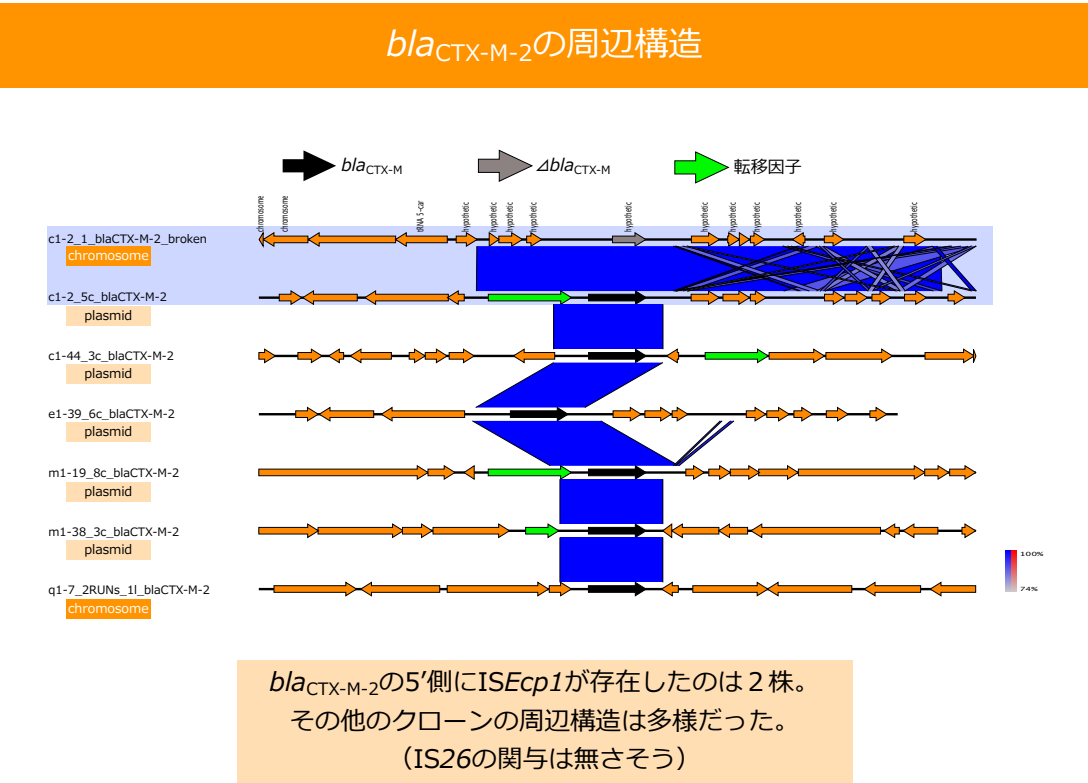


図 1 6

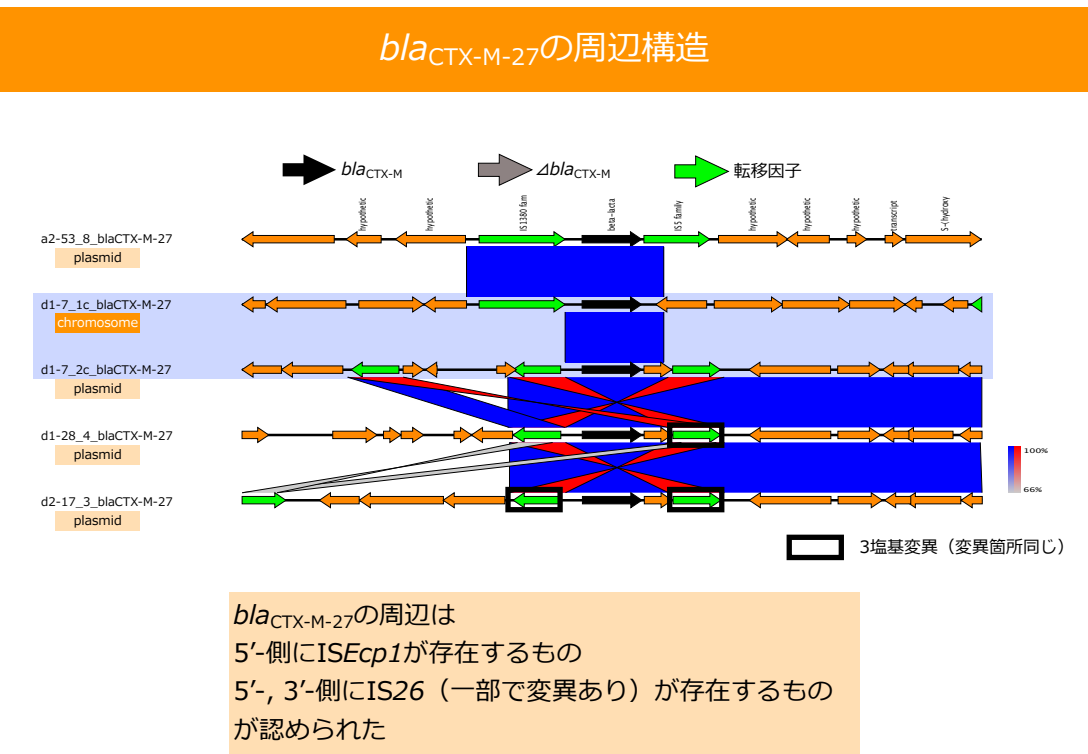


図 1 7

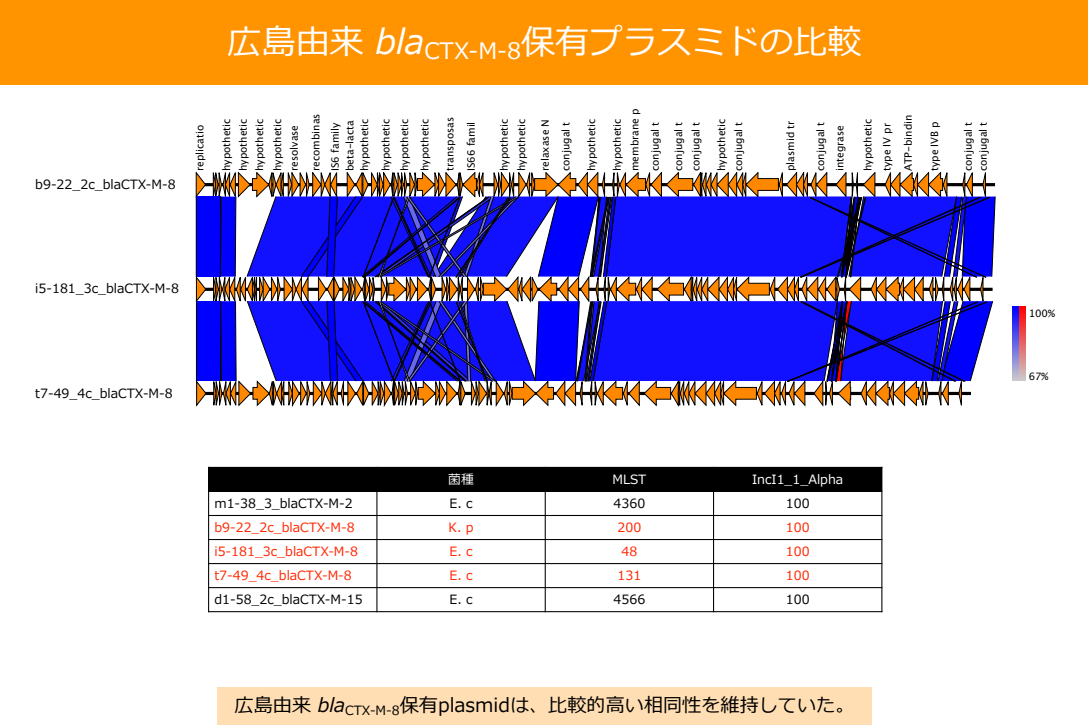


図 1 8

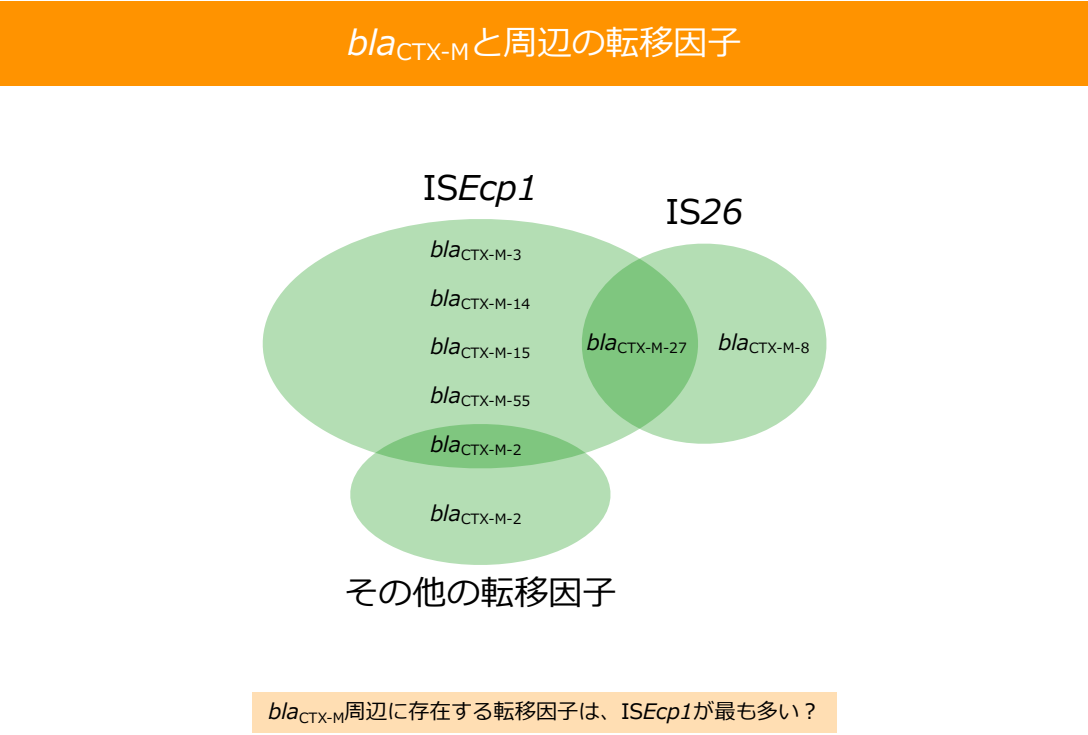


表 1 共同研究機関で分離された薬剤耐性菌の NGS 解析結果および論文投稿状況

Strain name	Species	Isolation Source	解析状況
48-1 (Kpu48)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Clinical	chromosome (<i>bla_{SHV-27}</i> , <i>aadA2b</i> , <i>sul1</i>) : length=5154267 (incomplete) plasmid (<i>dfrA7</i> , <i>sul1</i>) : length=222698 (complete) plasmid (<i>bla_{TEM-1B}</i>) : length=30445 (complete)
48-2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Clinical	chromosome (<i>bla_{SHV-27}</i> , <i>aadA2b</i> , <i>sul1</i>) : length=5396391 (incomplete) plasmid (<i>dfrA7</i> , <i>sul1</i> , <i>sul2</i>) : length=222732 (complete) plasmid (<i>bla_{TEM-1B}</i>) : length=30433 (complete)
59	<i>Proteus mirabilis</i>	Clinical	chromosome (<i>aadA7</i> , <i>sul1</i> , <i>dfrA1</i> , <i>aadA1</i> , <i>bla_{TEM-1B}</i> , <i>qnrA1</i> , <i>bla_{OXA-10}</i>) : length=4223152 (complete) plasmid (<i>flor</i>) : length=6972 (complete)
96	<i>Proteus mirabilis</i>	Clinical	chromosome (<i>aadA7</i> , <i>sul1</i> , <i>bla_{TEM-1B}</i> , <i>bla_{CMY-2}</i> , <i>qnrA1</i> , <i>bla_{OXA-10}</i>) : length=4193451 (incomplete) plasmid (<i>bla_{TEM-1B}</i> , <i>flor</i>) : length=112932 (complete) plasmid : length=9035 (complete)
105	<i>Proteus mirabilis</i>	Clinical	chromosome : length=4059013 (incomplete) plasmid : length=9008 (complete) plasmid : length=3446 (complete)
218	<i>Providencia stuartii</i>	Clinical	chromosome : length=4467400 (complete)
301A	<i>Proteus mirabilis</i>	Clinical	chromosome (<i>dfrA1</i> , <i>aadA1</i> , <i>bla_{TEM-1B}</i> , <i>flor</i> , <i>sul2</i>) : length=4202900 (complete)
126	<i>Proteus mirabilis</i>	Clinical	chromosome (<i>aadA2</i> , <i>flor</i> , <i>sul2</i>) : length=4128302 (complete) plasmid : length=6314 (complete)
LM22-1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Food (chicken)	chromosome (<i>bla_{SHV-71}</i>) : length=5293597 (complete) plasmid (<i>bla_{VIM-1}</i> , <i>aac(6')-II</i> , <i>dfrA1</i> , <i>bla_{TEM-1B}</i> , <i>sul1</i> , <i>bla_{CTX-M-9}</i> , <i>mcr-9</i>) : length=281251 (complete) plasmid (<i>bla_{NDM-1}</i> , <i>bla_{CTX-M-15}</i> , <i>bla_{TEM-1A}</i> , <i>bla_{OXA-9}</i>) : length=124214 (complete)
65-VIM	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Clinical	plasmid (<i>bla_{VIM-28}</i>) : length=66324 (complete)
56	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Clinical	chromosome (<i>bla_{GES-1}</i>) : length=6955839 (incomplete) plasmid (<i>bla_{VIM-28}</i>) : length=360340 (complete)
71	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Clinical	chromosome (<i>bla_{GES-1}</i> , <i>bla_{OXA-488}</i>) : length=4333331 (incomplete) plasmid (<i>bla_{VIM-28}</i>) : length=361985 (complete) plasmid : length=191992 (complete) plasmid : length=6889 (complete)
37	<i>Enterobacter cloacae</i>	Food (beef)	chromosome : length=4673152 (complete) plasmid (<i>bla_{VIM-1}</i> , <i>aac(6')-II</i> , <i>dfrA1</i> , <i>sul1</i> , <i>mcr-9</i>) : length=270915 (complete) plasmid : length=129016 (complete) plasmid : length=108277 (complete) plasmid : length=6851 (complete)
42	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Food (minced meat)	chromosome (<i>bla_{OXA-488}</i>) : length=4020969 (incomplete); (<i>bla_{VIM-24}</i> , <i>bla_{OXA-10}</i> , <i>sul1</i>) : length=1146675 (incomplete) plasmid : length=193321 (complete) plasmid : length=6901 (complete)
Kpn AO15	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Vegetable (organicitalian parsley)	chromosome (<i>bla_{SHV-28}</i>) : length=5273076 (complete) plasmid (<i>bla_{SHV-1}</i> , <i>bla_{TEM-1A}</i>) : length=201745 (complete) plasmid (<i>bla_{TEM-1A}</i> , <i>bla_{CTX-M-15}</i> , <i>bla_{OXA-9}</i> , <i>bla_{NDM-1}</i> , <i>aac(6')-Ib</i>) : length=122804 (complete) plasmid (<i>bla_{CTX-M-14b}</i>) : length=67119 (complete) plasmid : length=9294 (complete)
Kpn AO22	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Vegetable (organicbaby leaf mix)	chromosome (<i>bla_{SHV-28}</i>) : length=5270888 (complete) plasmid (<i>bla_{SHV-1}</i> , <i>bla_{TEM-1A}</i>) : length=201745 (complete) plasmid (<i>bla_{TEM-1A}</i> , <i>bla_{CTX-M-15}</i> , <i>bla_{OXA-9}</i> , <i>bla_{NDM-1}</i> , <i>aac(6')-Ib</i>) : length=122804 (complete) plasmid (<i>bla_{CTX-M-14b}</i>) : length=67119 (complete) plasmid : length=9294 (complete)
Aba AO22	<i>Acinetobacter baumannii</i>	Vegetable (organicbaby leaf mix)	chromosome (<i>bla_{ADC-25}</i> , <i>bla_{OXA-66}</i>) : length=3954640 (complete) plasmid : length=110967 (complete) plasmid (<i>bla_{OXA-72}</i>) : length=10880 (complete)

論文accepted

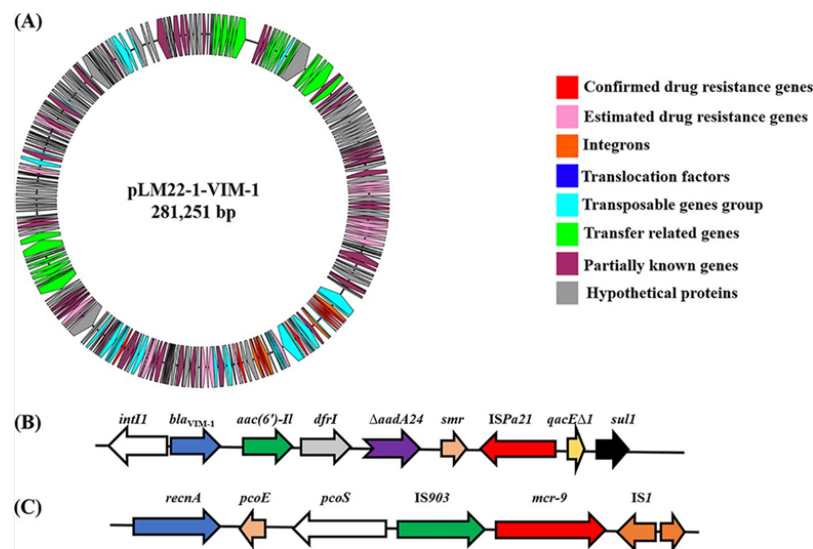


FIG 1 Analysis of the IncHI2A plasmid pLM22-1-VIM-1 carried by the foodborne carbapenemase-producing *K. pneumoniae* strain LM-22-1. (A) Circular map of pLM22-1-VIM-1. (B) The genetic environment of the *bla*_{VIM-1} gene, which lies within a class 1 integron. (C) Genetic context of the *mcr-9* gene.

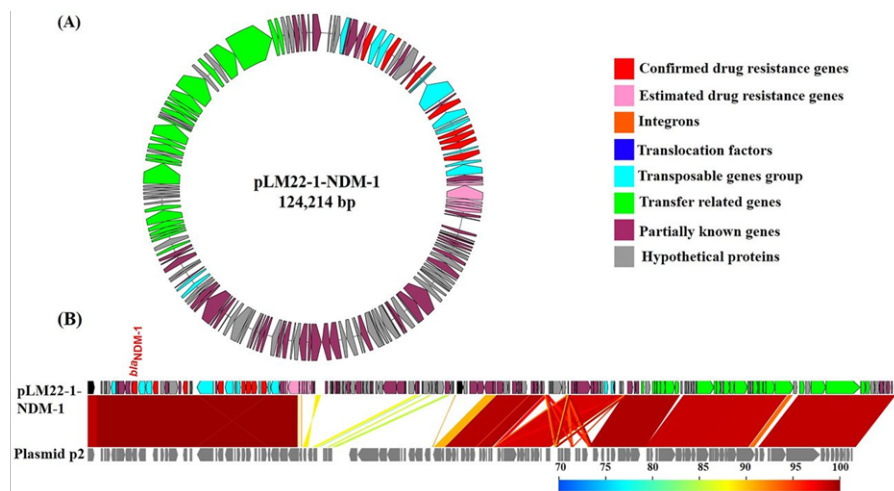


FIG 2 Analysis of the IncFII(K) plasmid pLM22-1-NDM-1 carried by the foodborne carbapenem-producing *K. pneumoniae* strain LM-22-1. (A) Circular map of pLM22-1-NDM-1. (B) Comparative sequence analysis of the *bla*_{NDM-1}-encoding plasmid pLM22-1-NDM-1 to a related *bla*_{NDM-1} IncF plasmid p2 (GenBank accession number CP009115.1) harbored by another *K. pneumoniae* strain.

chromosome

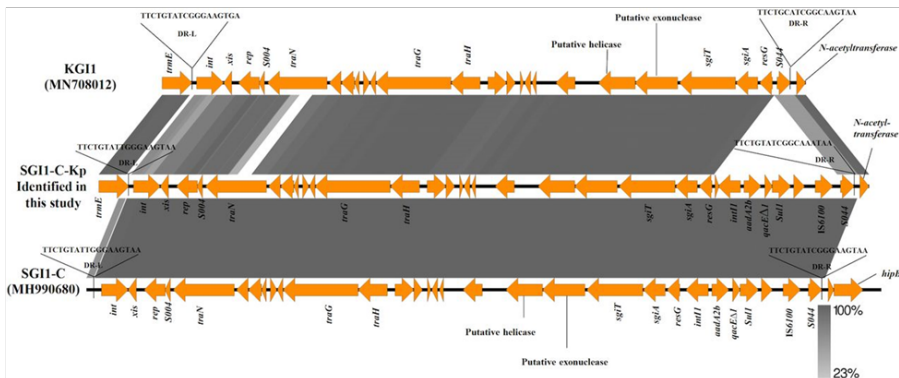


FIG 1 Schematic representation of SG1-C-Kp from *K. pneumoniae* strain Kpu48. Sequence comparison between SG1-C-Kp, SG1-C (GenBank accession no. MH990680), and Klebsiella genomic island 1 (KGI1) (GenBank accession no. MN708012). SG1-C-Kp is inserted between the chromosomal genes (trmE and N-acetyltransferase encoding gene). KGI1 is another SG1-related element lacking integrons and detected during an in silico analysis in *K. pneumoniae* isolates from the United Kingdom. Genes and ORFs are shown as arrows, with their transcriptional orientations indicated by arrowheads. Right direct repeat (DR-R) and left direct repeat (DR-L) are shown as 18 bp flanking SG1. Figure was drawn using the EasyFig tool (<http://msujall.github.io/Easyfig/>).

Ahmed M. Soliman et al. Antimicrob. Agents Chemother. 2020; doi:10.1128/AAC.01055-20

plasmids

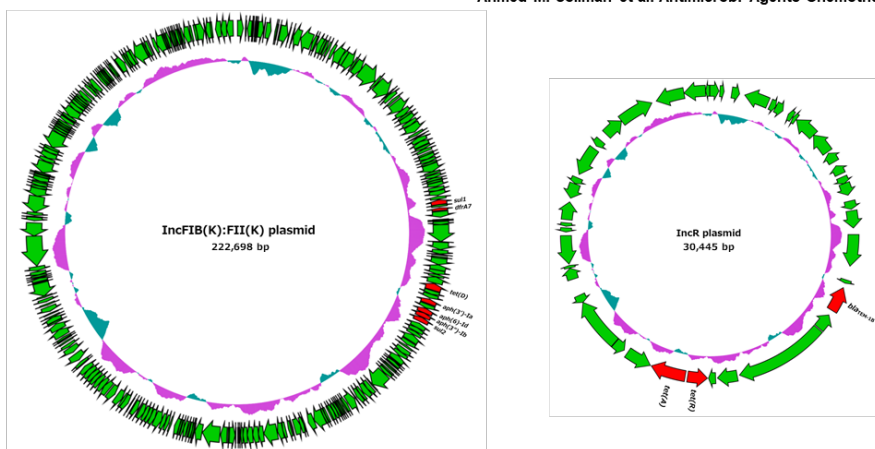
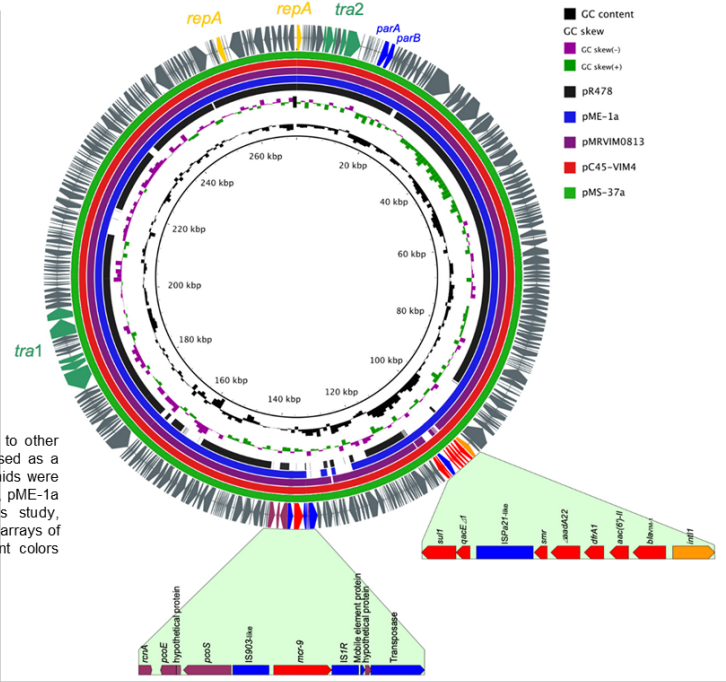


Table 1. Characteristics of chromosome and plasmids harbored by *E. hormaechei* MS37.

Genetic Element	Size (bp)	MLST	pMLST	Plasmid Incompatibility Group	Antibiotic Resistance Gene(s)
Chromosome	4,673,152	ST279	NA	NA	<i>fosA</i> , <i>bla</i> _{ACT-16}
pMS37a	270,915	NA	ST1	IncHI2/IncHI2A	<i>sul1</i> , <i>mcr-9</i> , <i>bla</i> _{VIM-1} , <i>tet(A)</i> , <i>aac(6')-Ib-cr</i> , <i>aac(6')-II</i> , <i>ΔaadA22</i> , <i>dfrA1</i>
pMS37b	129,016	NA	Unknown	IncC	NA
pMS37c	108,277	NA	Unknown	IncFIB	NA
pMS37d	6851	NA	Unknown	ColRNAI	NA

NA, not applicable.

Figure 1. Circular map of *bla*_{VIM-1} and *mcr-9*-coharbouring IncHI2 plasmid compared to other reported similar plasmids. The complete sequence of pMS37a (the outer circle) was used as a reference plasmid. The circular maps were generated using the BRIG software and plasmids were included in the following order (inner to outer circles): pR478 (GenBank ID: BX664015.1), pME-1a (CP041734), pMRVIM0813 (KP975077), pC45-VIM4 (LT991958), and pMS37a (this study, accession no. CP053191). The resistance loci were highlighted in full (the gene cassette arrays of class 1 integron and the genetic structure surrounding the *mcr-9* gene). The different colors indicate different plasmids and are listed in the color key.



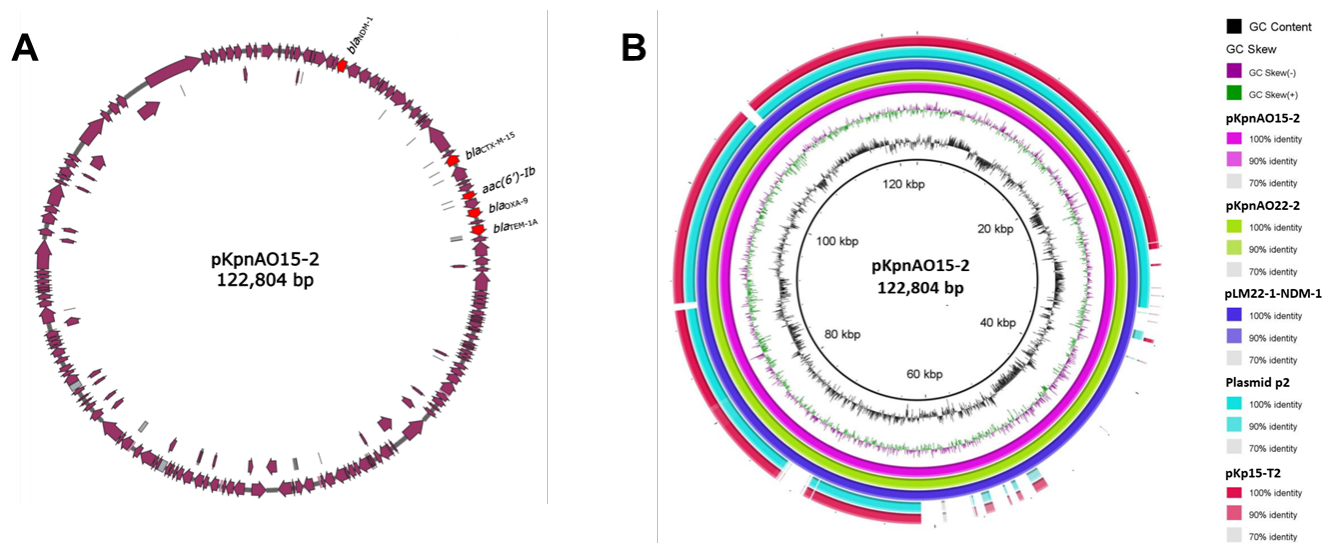


FIG 1. Plasmid structure of pKpnAO15-2, and pKpnAO22-2 identified in this study and comparison with other similar plasmids. Both the plasmids were IncFII(K):IncR-type of 122,804 bp in length and shared >99.99% nucleotide identity (A). Genes and open reading frames (ORFs) are shown as arrows with their transcriptional orientations indicated by arrowheads. This figure was generated using the BRIG tool (<http://brig.sourceforge.net/>) (B). The whole sequence of pKpnAO15-2 was used as a reference. The plasmids were included in the following order: pKpnAO15-2 (identified in this study), pKpnAO22-2 (identified in this study), pLM22-1-NDM-1, plasmid p2 (CP009115.1), and plasmid pKp15-T2 (MN657248.1) (B).

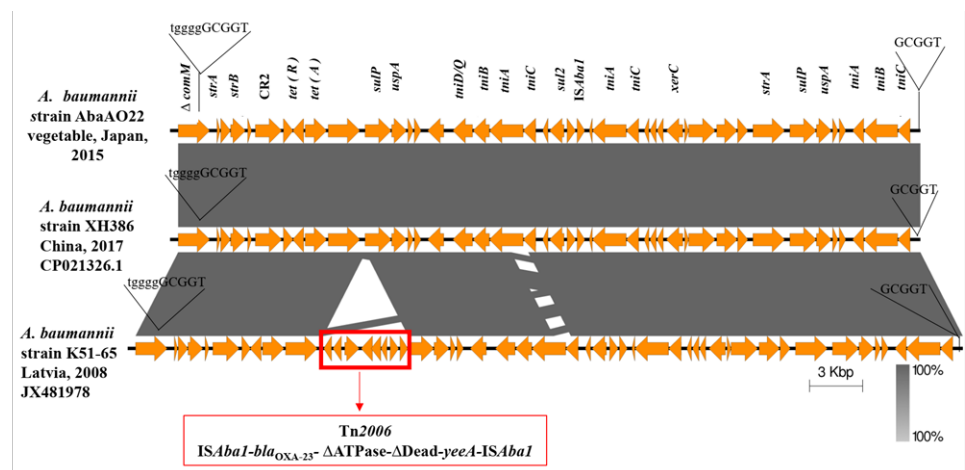
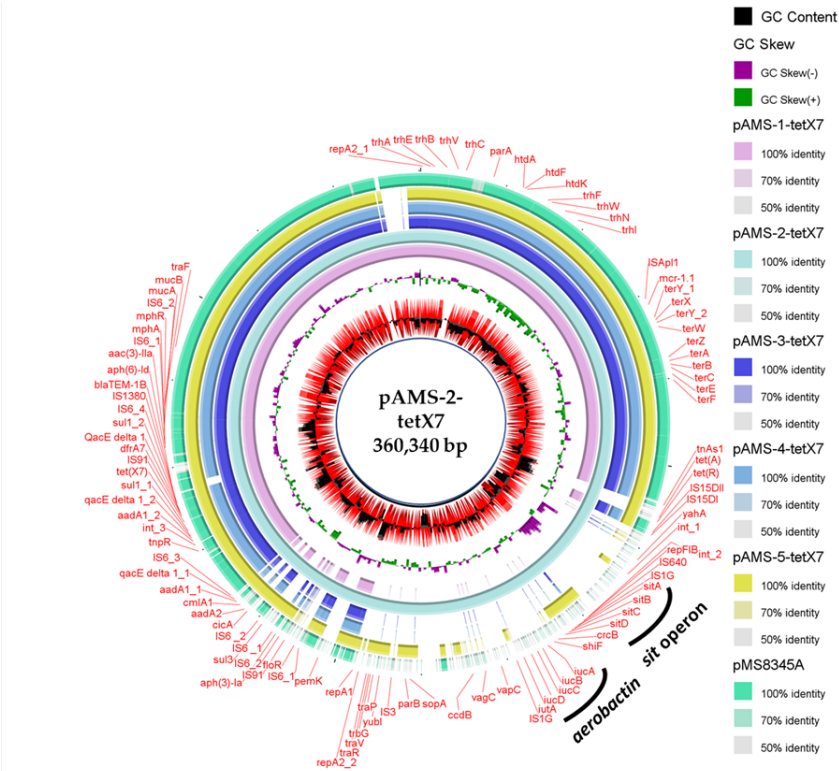


FIG 3. Genetic structures of AbaR4-AO22 and other related AbaR4-like GIs. Genes and open reading frames (ORFs) are shown as arrows with their transcriptional orientations indicated by arrowheads. The figure was drawn using the EasyFig tool (<http://mjsull.github.io/Easyfig/>). AbaR4-AO22 was integrated into the chromosomal *comM* gene and was flanked by a 5-bp target site duplication of 5'-GCGGT-3'. AbaR4-AO22 was identical to AbaR4 from *A. baumannii* strain XH386 (CP021326.1) but lacking Tn2006 (*ISAbal-blaOXA-23-ΔATPase-ΔDead-yeaA-ISAbal*) identified in AbaR25 (JX481978).



Schematic representation of IncHI2 plasmids carrying tet(X7) and mcr-1.1 (A), the genetic environment of tet(X7) (B), and IncFII plasmids carrying fosA4 (C) identified from the genome sequences of *E. coli* strains analyzed in this study. Only one IncHI2 plasmid, pMS8345A, carrying tet(X7) and mcr-1.1 from *E. coli* strain MS8345, Qatar (accession no. CP025402.1) have been detected from NCBI GenBank and was included in the figure. Linear comparison of the configs carrying tet(X7) detected in this study with the chromosomal contig carrying tet(X7) from *Pseudomonas aeruginosa* strain Pa-3, Pakistan (accession no. JAATVZ01000005.1) and part of the IncHI2 plasmid, pMS8345A, carrying tet(X7) from *E. coli* strain MS8345, Qatar (accession no. CP025402.1).

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受領した、2013 年から 2017 年に分離された血清群 04、08、09 群サルモネラ菌株を供試した。昨年度までの薬剤感受性試験、血清型別の結果を踏まえ、主要血清型もしくは CTX 等重要な薬剤に耐性を示した株 106 についてゲノム解析を行い、耐性遺伝子の分布を調べた。

供試菌株から DNeasy Blood & Tissue Kit（キアゲン社）によりゲノム DNA を調整、Nextera XT DNA Library Preparation Kit 及び MiSeq Reagent Kit v3（イルミナ社）によりショートリードデータを取得した。リードデータから SPAdes を用いて配列をアッセンブルし、当該配列データを Bionumerics にとりこみ耐性遺伝子の検索を行った。

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

供試菌株 106 株の血清型の内訳は、
04:i:- (14)、Agona (9)、Albany (1)、Blockley
(10)、Heidelberg (2)、Indiana (1)、
Kentucky (11)、Manhattan (17)、Muenchen
(1)、Saintpaul (3)、Schwarzengrund (28)、
Stanley (1)、Typhimurium (8) であった。
04:i:-、Agona、Manhattan、Schwarzengrund、
Typhimurium は主要血清型の観点から、そ
れ以外の血清型はセフトキシム、シプロ
フロキサシンなどの重要な薬剤に対する耐
性の観点から選択された。

1. テトラサイクリン耐性遺伝子 (図 1)

tetA、*tetB*、*tetG*、*tetM* が検出された。
tetA が最も高頻度 (64%) かつ広範な血清
型に検出された。*tetB* は 04:i:- のみに、
tetG は Typhimurium のみに検出された。

2. サルファ剤耐性遺伝子 (図 2)

sul1、*sul2*、*sul3* がそれぞれ 51%、14%、
3% の頻度で検出された。いずれも複数の血
清型に分布していた。

3. アミノグリコシド耐性遺伝子-1 (図 3)

aadA1、*aadA2*、*aadA7*、*aadA17*、*aadA24*
が検出された。*aadA1* が最も高頻度 (42%)
かつ広範な血清型に検出された。*aadA7* の
検出頻度は 9% であったが、検出された血清
型は Kentucky のみであった。

4. トリメトプリム耐性遺伝子 (図 4)

dfrA1、*dfrA12*、*dfrA14* が検出された。
dfrA14 の検出頻度が 17% と最も高く、その
78% が Schwarzengrund であった。

5. アミノグリコシド耐性遺伝子-2 (図 5)

aph(3')-Ia、*aph(3'')-Ib*、*aph(3')-IIa*、
aph(4)-Ia、*aph(6)-Ic*、*aph(6)-Id* が検出
された。*aph(3')-Ia*、*aph(3'')-Ib*、
aph(6)-Id の検出頻度が高く、それぞれ 31%、
24%、25% であった。*aph(3')-Ia* は Blockley
と Schwarzengrund に、*aph(3'')-Ib*、
aph(6)-Id は 04:i:- と Blockley に多く見ら

れた。

6. β ラクタマーゼ関連遺伝子 (図 6)

TEM、CARB、CTX-M、SHV など 9 種類の遺
伝子が検出された。最も検出頻度が高かつ
たのは *blaTEM-1B* で 24%、次いで
blaCTX-M-15 の 9% であった。前者は 04:i:-、
Kentucky、Typhimurium に、後者は Blockley
において多く検出された。

7. クロラムフェニコール耐性遺伝子 (図 7)

catA1、*catA2*、*cmlA1* の 3 種類が検出さ
れ、その頻度は併せて 14% であった。*catA2*
が 10% の検出頻度で、そのほとんどは
Blockley において検出された。

8. キノロン耐性遺伝子

キノロン耐性に係る *gyrA* 遺伝子などに
おける点変異が検出された株は 19% であ
った。Kentucky は 11 株すべてにおいて点変
異が検出され、GyrA に 2 か所 (S83F+D87N)、
ParC に 1 か所 (S80I) の 3 重変異を有して
いた。他に 3 重変異を有していたのは
Indiana1 株であった。

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 から 2017 年に分離された健康保菌
者由来サルモネラのうち 106 株についてゲ
ノム解析を行い、主要な薬剤に対する耐性
遺伝子を検索した。

主要血清型である 04:i:-、Agona、Manhattan、Schwarzengrund、Typhimurium ではストレプトマイシン、テトラサイクリン耐性が多い。前者については *aadA1* が、後者については *tetA* が大きく関与していることが示唆された。一方で、04:i:-については *tetB*が、Typhimurium には *tetG*が、*aadA7*については Kentucky が特異的に関連していることも示唆された。

ST 合剤はサルファ剤及びトリメトプリムからなるが、ディスク法で薬剤感受性試験を行う場合、サルファ剤及びトリメトプリムは現在入手できない。本研究からサルファ剤耐性遺伝子 *sul* は比較的広く検出された一方で、トリメトプリム耐性遺伝子 *dfr* は主に Schwarzengrund に偏って検出された。ゲノム情報から上記薬剤の単独耐性について情報が得られた。

カナマイシン耐性は近年 Schwarzengrund を中心に高頻度に検出されるようになっていく。当該耐性に係る耐性遺伝子 *aph* は 6 種類検出された。Schwarzengrund では *aph(3')-Ia* が、04:i:-では *aph(3'')-Ib*、*aph(6)-Id*が Blockley では上記 3 種類が高頻度に検出され、血清型によって遺伝子の分布が異なることが示唆された。

アンピシリン耐性に係る *bla* 遺伝子としては TEM1b が多く検出され、複数の血清型に分布していた。CARB-2 は Typhimurium でのみ検出された。セフトキシム耐性に係る遺伝子としては CTX-M-15 が Blockley に、TEM-52b が Manhattan に偏って検出された。

クロラムフェニコール耐性に係る遺伝子としては *catA2*が Blockley に偏って検出された。また *floR*が Typhimurium をはじめ複数の血清型において検出された。

tetG、*bla*CARB-2、*floR* は多剤耐性 Typhimurium DT104 において見られた遺伝子群であり、本研究でも Typhimurium において検出された。当該遺伝子保有株は DT104 と関連性があることが考えられる。

04:i:-は Typhimurium 由来の単相菌と考

えられている。本研究では、例えば *tet* 遺伝子に関して *tetB*は前者に *tetG*は後者に特異的に分布していたり、*aph* 遺伝子に関して、前者は *aph(3'')-Ib*が多いのに対し、後者では分布が多様であるなど、必ずしも関係性が高いわけではないことが示唆された。

キノロン耐性に係る遺伝子として *gyrA*、*parC* に点変異が検出された株が、特に Kentucky において顕著であった。海外でもニューキノロン耐性 Kentucky ST198 は問題となっており、本研究の Kentucky 株もこれらと関係する可能性が考えられる。

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、本年度はゲノム解析による薬剤耐性遺伝子の検索を行った。これまで得られた薬剤耐性の遺伝的背景が明らかとなり、血清型ならびに薬剤耐性の観点、さらにその遺伝的背景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 テトラサイクリン耐性遺伝子の分布 (下段の数字は供試菌株数; 以下の図に関しても同じ)

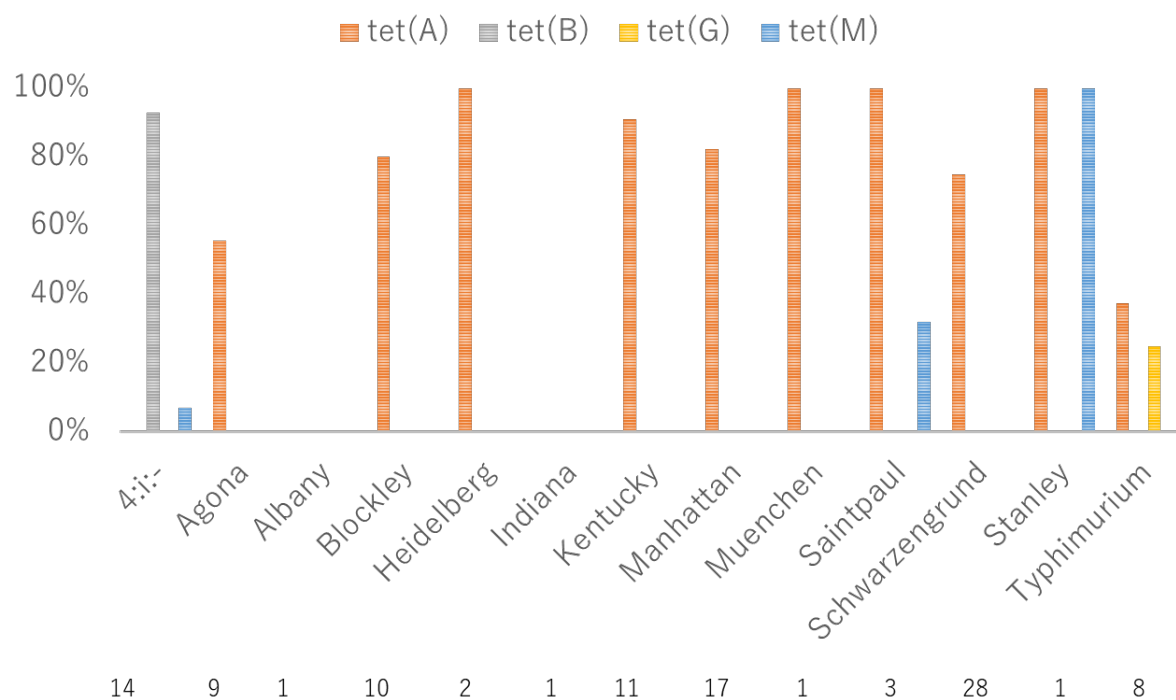


図2 サルファ剤耐性遺伝子の分布

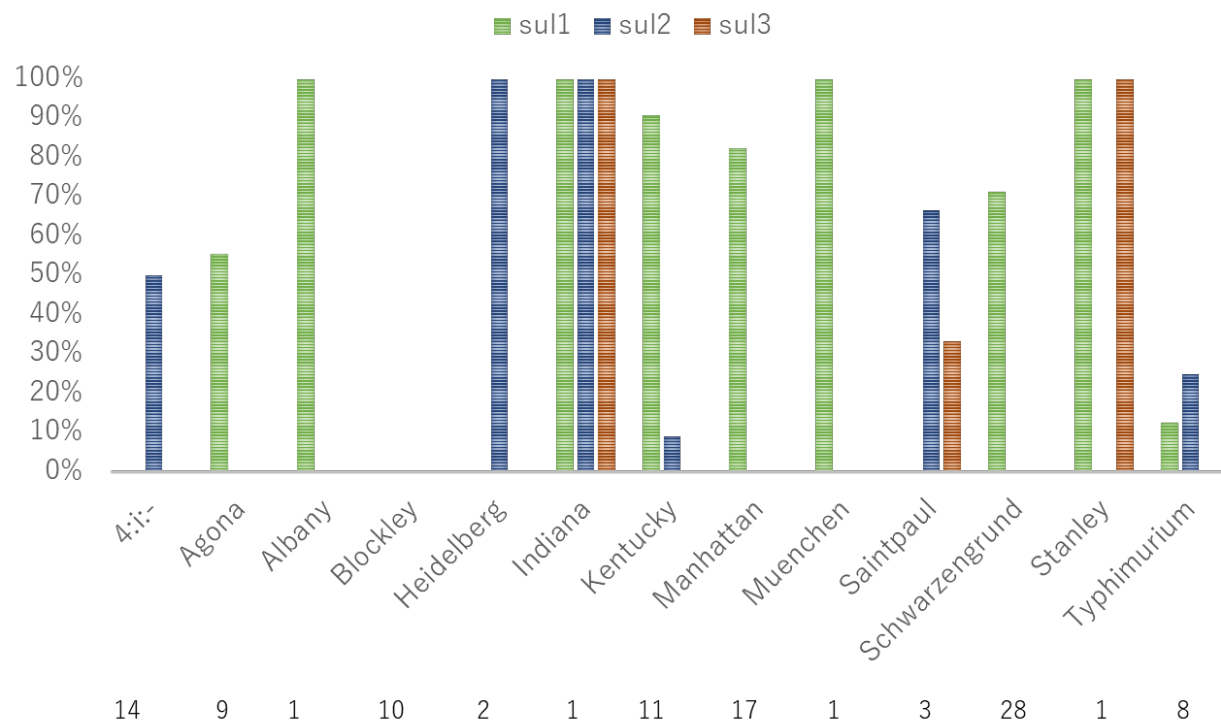


図3 アミノグリコシド耐性遺伝子 *aadA* の分布

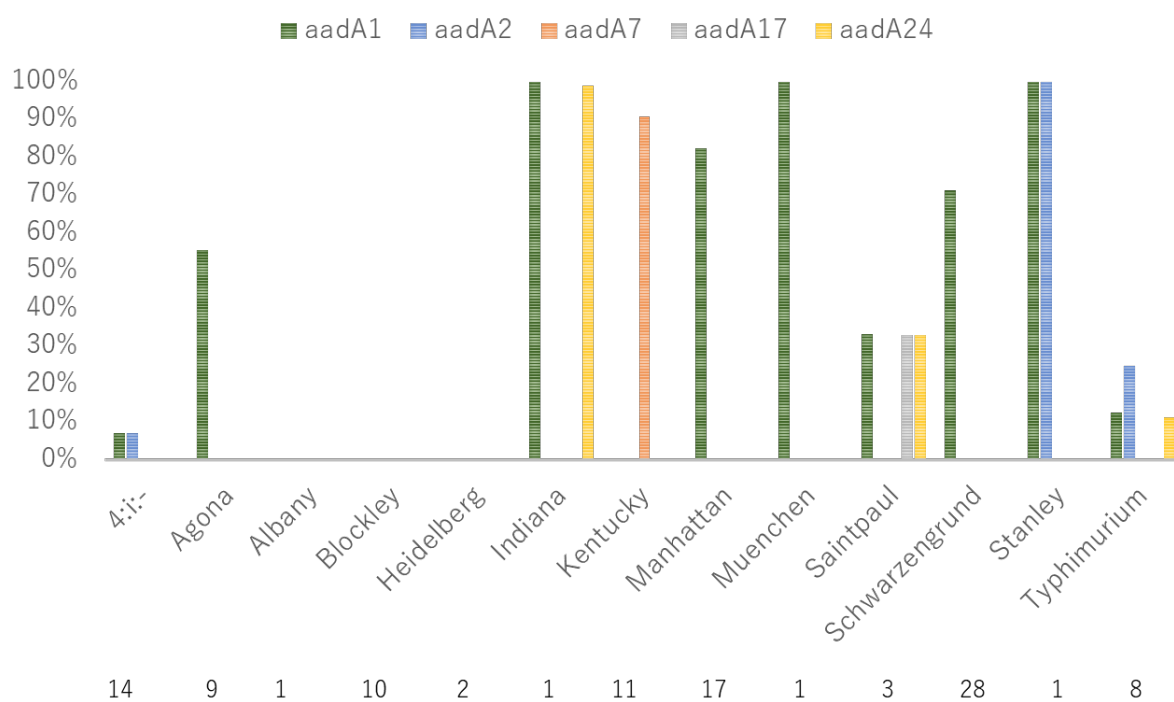


図4 トリメトプリム耐性遺伝子の分布

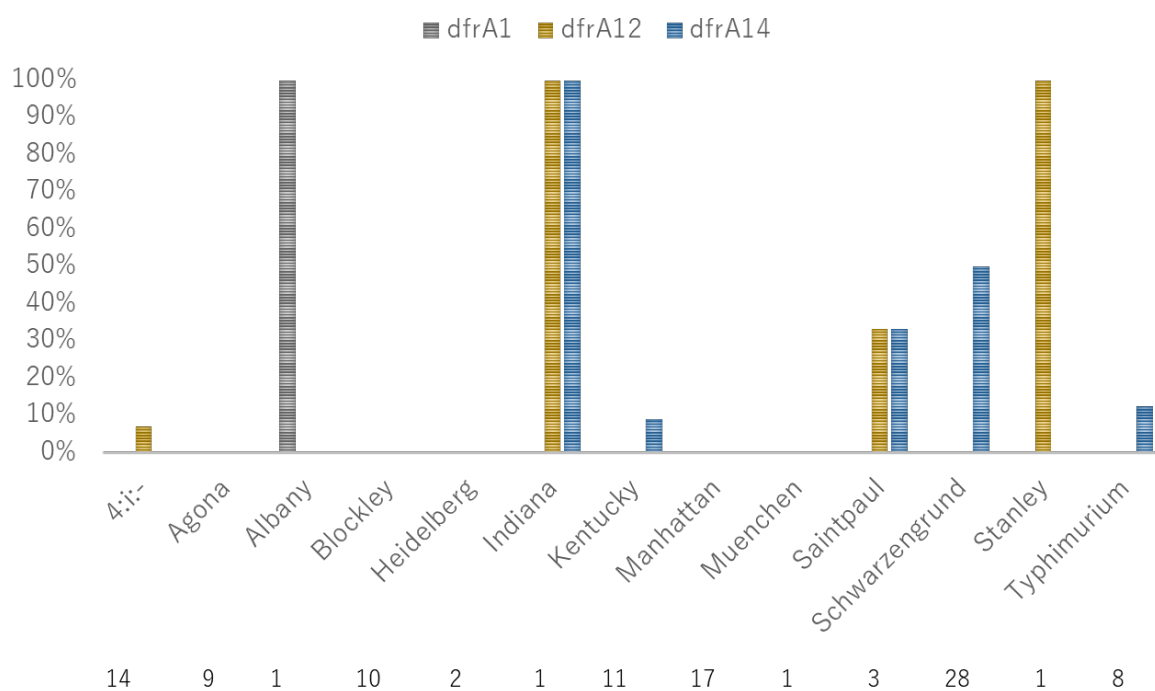


図5 アミノグリコシド耐性遺伝子 *aph* の分布

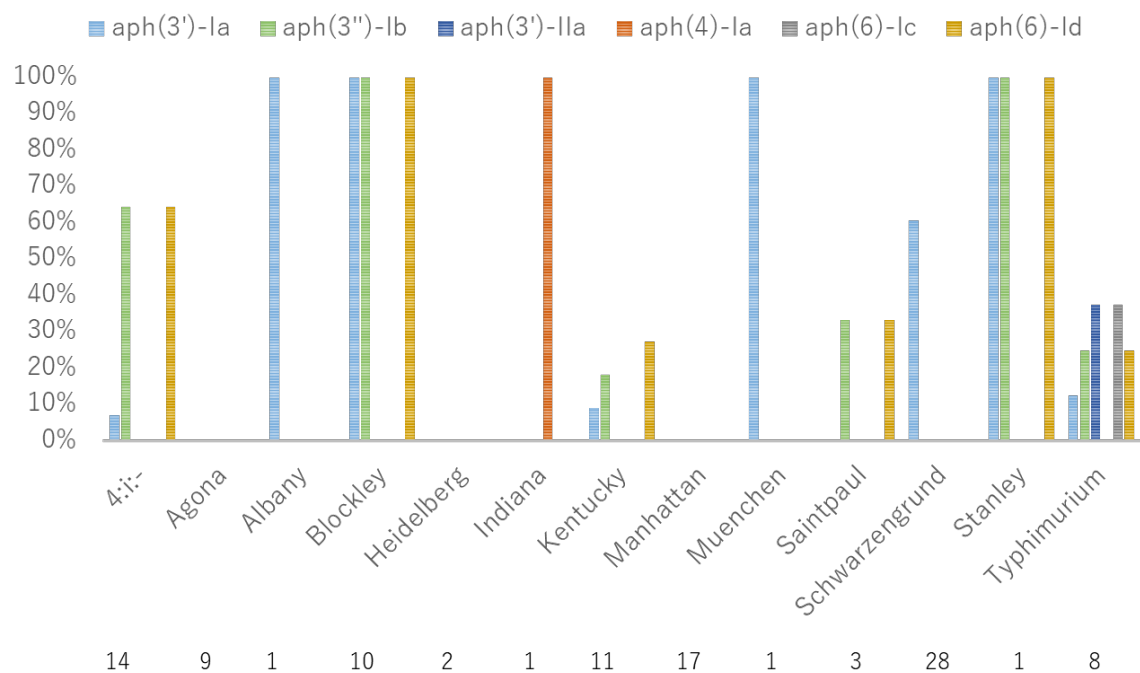


図6 β -ラクタマーゼ関連遺伝子の分布

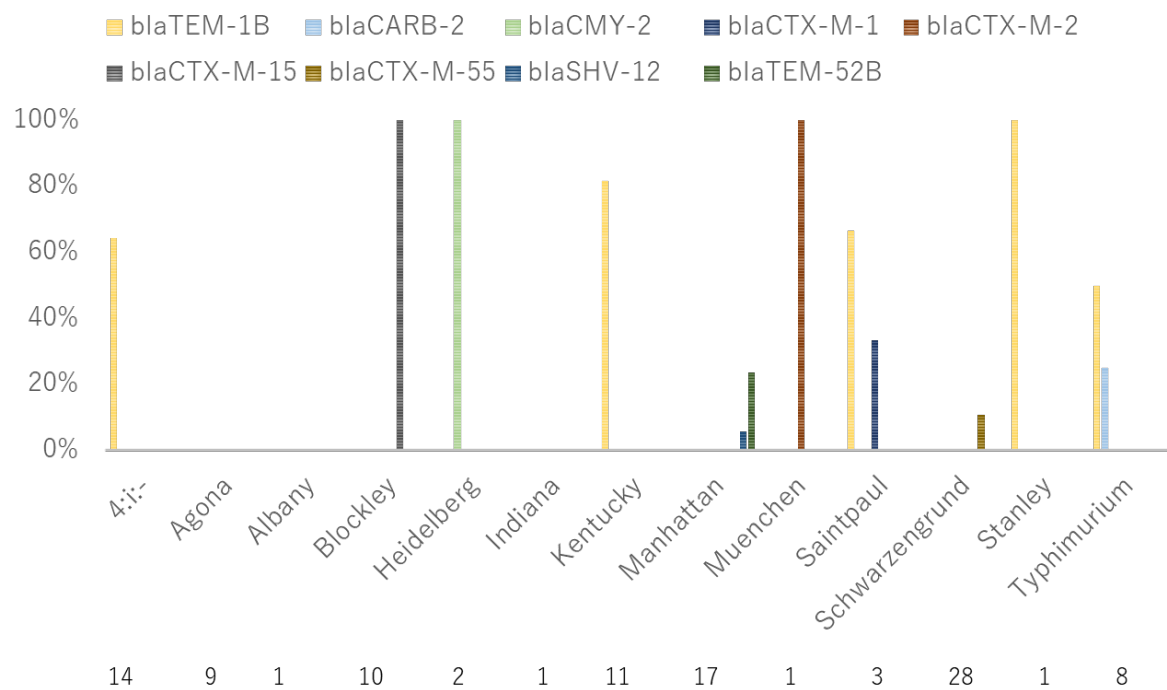
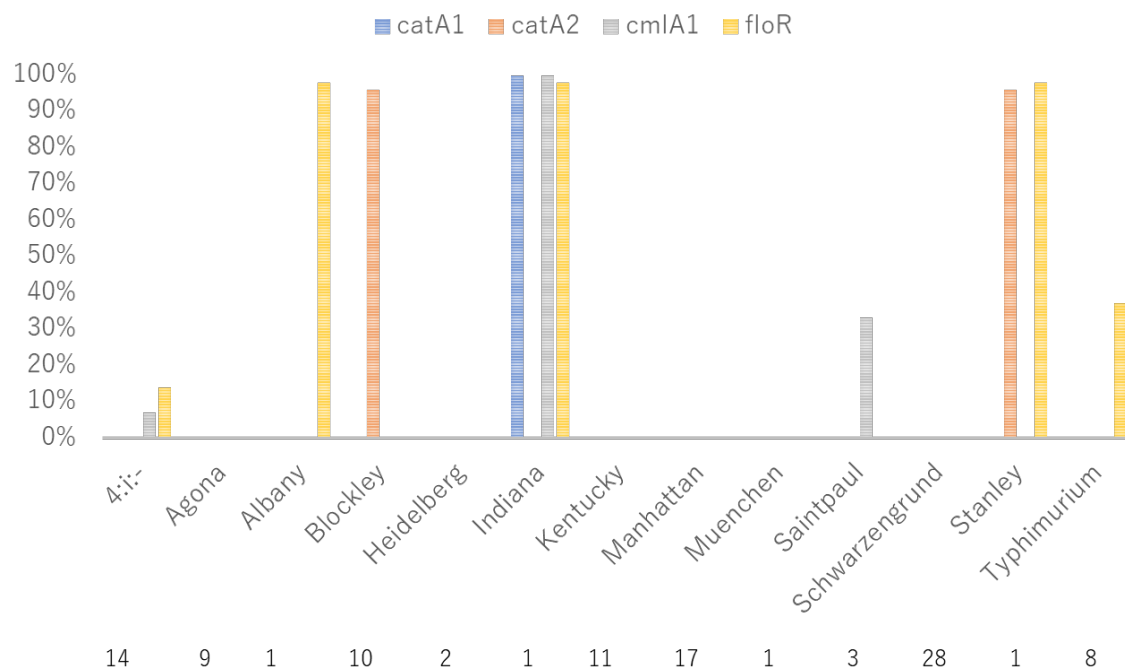


図 7 クロラムフェニコール耐性遺伝子の分布



令和 2 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	町田李香	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部

研究要旨： 輸入鶏肉 105 検体における ESBL/AmpC β ラクタマーゼ産生大腸菌の定性・定量的汚染実態を解析した。定性試験を通じ、ESBL 産生大腸菌は 105 検体中 51 検体（48.6%）より検出された。一方、定量試験では、ESBL 産生大腸菌は 6 検体のみから検出され、同菌数は 1.40 logCFU/g であったことから、同薬剤耐性菌は供試検体に広く分布するものの汚染菌数は総じて低いことが示された。分離株は β ラクタム系抗菌薬に対し全株が耐性を示したほか、ストレプトマイシン（70.6%）、スルファメトキサゾール/トリメトプリム（56.9%）、テトラサイクリン（51.0%）の順に高い耐性率を示した。また、分離株の β ラクタマーゼ遺伝子型の約半数は CTX-M-1 型であり、CTX-M-2 型がこれに続いた。Inc 型別試験により、全ての分離株は IncF 陽性であったほか、25 株（49.0%）は IncI1 陽性を示した。IncI1 プラスミドの伝達試験を通じ、マウス腸内常在菌叢と想定される大腸菌への伝達が確認された。サルモネラ属菌については輸入鶏肉 21 検体（20%）から分離されたほか、国内の食鳥と体 130 検体のうち、67 検体から分離された。輸入鶏肉検体由来株の血清型は Enteritidis が 7 株と最も多く、Heidelberg（3 株）、Minnesota（3 株）が次いで多い状況であったのに対し、食鳥と体検体由来株では Schwarzengrund が 52 株（61.2%）と極めて高い占有率を示す等、国内外での明確な血清型の差異が確認された。薬剤耐性パターンについても輸入冷凍鶏肉と食鳥と体検体間で差異が認められ、特に β ラクタマーゼ系抗菌剤に対する耐性率は輸入冷凍鶏肉検体でより高い傾向が認められた。

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、定性的な汚染実態或いは分離株の特性解析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。昨年度は、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。

本年度は輸入冷凍鶏肉における ESBL 産生菌の定量的汚染実態に関する調査並びに分離株の性状解析を行った。あわせて国産・輸入鶏肉等におけるサルモネラ属菌の汚染実態、並びにカンピロバクターを含めた分離株について、薬剤感受性に関する検討を行ったので報告する。

B. 研究方法

1. 供試検体及び試料調整

国内で市販される輸入冷凍鶏肉計 105 検体入手し、各検体より皮部位 25g を採取し、緩衝ペプトン水 (BPW) 100mL を加えて 1 分間ホモジナイズ後、試料原液とした。

2. ESBL 産生大腸菌の定性・定量検出試験

ESBL 産生大腸菌の定量評価として、上項 1. の試料原液 200 μ L をクロモアガー ESBL 培地 (CHROMagar) に直接塗抹し、37°C で 24 時間培養した後、定型集落を計数した (定量試験)。同時に、試験検液にセフトキシム (CTX) を終濃度 1 μ g/mL となるよう添加し、37°C・24 時間増菌培養した後、一白金耳量をクロモアガー ESBL 培地に画線塗抹して ESBL 産生大腸菌を単離した (定性試験)。分離株の確認試験には

3. サルモネラ属菌の定性検出試験

上項 1 の試料原液残液全てを 37°C で 24 時間増菌培養した後、ラパポート・バシリアデイス (RV) 培地 (Merck) で二次増菌培養し、一白金耳量をクロモアガーサルモ

ネラ培地 (CHROMagar) に画線塗抹してサルモネラ属菌を単離した。

4. 薬剤感受性試験及び血清型別試験

分離された ESBL 産生大腸菌株及びサルモネラ属菌株について、CLSI 法に準じた薬剤感受性試験に供した。また、サルモネラ属菌株については、サルモネラ免疫血清「生研」(デンカ生研)を用いた血清型別試験に供した。

5. β ラクタマーゼ遺伝子型別及び Incompatibility plasmid 型別

ESBL 産生大腸菌分離株に対し、PCR 増幅による β ラクタマーゼ遺伝子型別を行った。CTX-M 型 β ラクタマーゼを産生する ESBL 産生大腸菌株、並びに何れかの薬剤に耐性を示したサルモネラ属菌株については、PCR 法を用いた Incompatibility (Inc) plasmid 型別試験に供した。

6. 蛍光発現 IncI1 プラスミドの作製

接合伝達性 IncI1 プラスミドを保有する CTX-M-15 型 ESBL 産生大腸菌株 24-A-1 を用いて、蛍光発現組換えプラスミドを作製した。24-A-1 菌株が自然保有する IncI1 プラスミド (p24-A-1) 及び pREDTKI を *E. coli* C600 株に形質転換し、 λ -Red リコンビナーゼの発現誘導後、mClover3 ORF を相同組換えにより blaCTX-M-1 下流域へ導入した。同プラスミドを *E. coli* 24-A-1 株に形質転換することで自然保有プラスミドとの間で置換させ、mClover3 発現 ESBL 産生大腸菌株 24-A-1-F を作製した。

7. プラスミド接合伝達試験

約 2.1 logCFU の *E. coli* 24-A-1-F 株を、SPF 環境で飼育した C57/BL6 マウス糞便に接種し、M9 最少培地中で好気または嫌気条件下で培養を行った。その後、培養液 100μL を CTX (10 μg/mL) 添加 LB 寒天培地に直接塗抹し、37°C で 24 時間培養した。培養後の総発育集落数及び蛍光色を呈する集落数を計数した。更に蛍光色を呈した 100 集落を無作為に選択し、16S rRNA 遺伝子配列に基づく菌種同定に供した。

8. 国産鶏肉由来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

国産鶏肉より分離されたサルモネラ及びカンピロバクター (*C. jejuni*) 分離株を対象として、薬剤感受性試験を行った。また、サルモネラ分離株については血清型別をあわせて行った。

C. 研究結果

1. 輸入鶏肉における ESB� 産生菌の検出成績

定性試験を通じ、ESBL 産生大腸菌は 105 検体中 51 検体 (48.6%) より検出された。一方で定量検出試験を通じ、ESBL 産生大腸菌は 6 検体で共に検出限界値である 1.40 logCFU/g、腸内細菌科菌群は 6 検体より検出され、検出菌数は 6 検体が 1.40 logCFU/g、2 検体が 1.88 logCFU/g であった (表 1)。また、クロモアガー上に発育した他の色調を呈する集落は計 49 検体で認められ、うち 26 検体は 1.40 logCFU/g 未満、23 検体は

1.40-1.99 logCFU/g、1 検体は 2.00 logCFU/g 以上 (3.03 logCFU/g) であった (表 1)。

2. ESB� 産生大腸菌株の薬剤耐性状況

輸入冷凍鶏肉計 51 検体より分離された ESB� 産生大腸菌 51 株を対象に薬剤感受性試験を実施した。その結果、46 株 (90.2%) では、βラクタム系抗菌薬 (AMP、CEZ、CTX) に対しては全株が耐性を示したほか、31 株 (60.7%) では 6 剤以上に耐性を示す等、他剤に対しても耐性が認められた；薬剤別の耐性率としては、ストレプトマイシン (70.6%)、スルファメトキサゾール/トリメトプリム (56.9%)、テトラサイクリン (51.0%) の順に高く、またシプロフロキサシン耐性は 15.7% で認められた (図 1 及び表 2)。コリスチン耐性は認められなかった。

3. ESB� 産生大腸菌株における βラクタマーゼ遺伝子型及び Inc プラスミド型の分布

上記の ESB� 産生大腸菌株について、βラクタマーゼ遺伝子型別試験を実施したところ、CTX-M-1 型は 25 株 (49.0%) と最も高い頻度で型別され、CTX-M-2 型が 22 株 (43.1%) とこれに続いた。CTX-M-8 型は 4 株 (7.8%) と少数に留まった。CTX-M-9 及び CTX-M-25 型は認められなかった (表 3)。

Inc プラスミド型別試験の結果、IncF は全ての菌株より検出されたほか、25 株 (49.0%) では、IncI1 が認められた (表 4)。IncN は 6 株 (11.8%) で検出された (表 4)。両試験成績を融合し確認したところ、IncI1

陽性株では CTX-M-1/2/8 遺伝子のいずれかが検出された。

4. ESBL 産生遺伝子保有プラスミドの接合伝達性.

CTX-M 型 β -ラクタマーゼ保有プラスミドの接合伝達能を検討するため、国産鶏肉検体由来 ESBL 産生大腸菌株 (24-A-1 株) が保有する IncI1 プラスミド上の *bla*CTX-M-15 下流域に mClover3 遺伝子を挿入したプラスミドを作製した。同プラスミドを鶏肉由来 ESBL 産生大腸菌 24-A-1 株に形質転換した後、同株 (約 2.1 logCFU) を C57/BL6 マウス大腸内容 10 倍乳剤 1mL 中に添加した。好気または嫌気条件下で 2 時間静置したところ、好気条件下では 4.13 logCFU/mL、嫌気条件下では 3.94 logCFU/mL の蛍光発現菌体がマウス糞便中の腸内細菌叢より検出された。これらについて 16S rRNA 配列より菌種同定を行ったところ、全て大腸菌であった。供試したマウス大腸内容乳剤 1mL 中の大腸菌数は 3.27 logCFU/mL であり、donor 株を添加せずに 2 時間好気培養した際の大腸菌数は 4.05 logCFU/mL と donor 添加群との間で有意差は認められなかった。

5. 輸入鶏肉及び食鳥と体におけるサルモネラ属菌の検出状況と分離株の血清型.

輸入鶏肉 105 検体中、サルモネラ属菌は 21 検体 (20.0%) から検出された。分離株の血清型は Enteritidis が 7 株と最も多く、Heidelberg (3 株)、Minnesota (3 株) が次いで多い状況であった (表 5)。

また、食鳥と体計 130 検体よりサルモネ

ラ属菌の検出を試みた結果、67 検体 (53.6%) より当該菌が分離された。最終的に分離された計 85 株の血清型別内訳としては、Schwarzengrund が 52 株 (61.2%) と極めて高い占有率を示し、Yovokome が 4 株 (4.7%)、Typhimurium が 3 株 (3.5%) とこれに続いた (表 5)。

6. サルモネラ分離株における薬剤耐性状況、Inc プラスミド型及び β ラクタマーゼ遺伝子型.

輸入鶏肉由来の 21 株のうち、17 株 (80.9%)、食鳥と体由来の 85 株のうち、53 株 (62.4%) は何れかの薬剤に耐性を示した。また、5 剤以上の多剤耐性はそれぞれ 7 株 (33.3%) 及び 13 株 (15.3%) で認められた。薬剤別の耐性率は、輸入冷凍鶏肉分離株では AMP 及び CEZ が共に 76.2% と最も高く、次いで NA が 61.9% であったのに対し、食鳥と体分離株では KM が 52.9% と最も高く、TC が 36.5% とこれに続く状況であった (図 2)。

輸入鶏肉由来株を対象とした Inc 型別試験を通じ、全分離菌株は IncF 型陽性を示した。このうち、5 剤に耐性を示した 7 株は、何れも IncA/C 陽性を示した (表 6)。また、CTX 耐性を示した 2 株からは、IncI1 が検出されたが、CTX-M 遺伝子は検出されなかった (表 6)。

7. 国産鶏肉由来のサルモネラ属菌及びカンピロバクター分離株における薬剤耐性状況.

国産鶏肉由来サルモネラ 64 株を収集した。分離株の血清型としては、食鳥と体と

同様に Schwarzengrund が 36 株 (56.3%) と最も高い状況であった (表 5)。血清型別に薬剤耐性状況を比較したところ、高い占有率を示した Schwarzengrund では KM 耐性が 36 株中 28 株 (77.8%) であったほか、TC 耐性も 24 株 (66.7%) を示した (表 7)。

また、国産鶏肉由来 *C. jejuni* 55 株を薬剤感受性試験に供したところ、AMP 耐性が 19 株 (34.5%)、CPFX 耐性が 17 株 (30.9%)、TC 耐性は 9 株 (16.4%) でそれぞれ認められた (表 8)。

D. 考察

食品の微生物リスクを評価するにあたっては、微生物汚染に関する定量データの集積が求められている。こうした国際動向を踏まえ、本年度は輸入冷凍鶏肉を対象とした ESBL 産生菌の定性・定量検出成績の創出をはかった。その結果、対象とした輸入鶏肉検体の約半数は ESBL 産生大腸菌汚染を受けてはいるものの、それらの汚染菌数は総じて低い状況にあることが確認された。その理由としては、輸入冷凍鶏肉は食鳥肉加工以降、我が国に輸入され、加工販売される工程の間、冷凍状態に置かれている実態が影響した可能性が考えられる。こうしたコールドチェーンの温度管理は従前から遵守事項とされ、直ちに新たな対策を求める状況にはないと思われる。一方、特に加工工程以降では冷蔵温度帯で流通・保管される場合もあることを踏まえると、今後は温度条件に応じた ESBL 産生大腸菌等の増殖挙動に関する知見を集積する必要があるものと思料される。

また、サルモネラ属菌についても、輸入冷凍鶏肉検体の 20% から検出されたほか、国内の食鳥と体検体からはより高率に検出された。サルモネラ属菌は大腸菌等に比べ、冷凍抵抗性が強いとの報告もあるが、冷凍処理を経た輸入鶏肉についてはサルモネラ汚染が一定程度低減された結果とも推察される。また、血清型別成績から、国内の食鳥と体検体や国産鶏肉検体より分離されたサルモネラ属菌株の半数以上が血清型 Schwarzengrund であり、同血清型株は特定の食鳥処理場由来の検体に由来するものではなかったことから、同血清型が国内で生産・解体処理される食鳥と体に広く蔓延している可能性が示唆された。なお、本血清型株を除いた場合の食鳥と体検体からのサルモネラ属菌検出率は 30% (33/110) となり、輸入冷凍鶏肉検体のそれ (20%) に近似する傾向にあったこと、更には当該菌汚染に係る定量データは収集できていないこと、鶏肉並びに食鳥と体は異なる工程で採材されたものであること等を考慮すると、本成績を根拠として、サルモネラ汚染の高低を国産・輸入の別に単純比較することはできないと考えられる。今後、科学的エビデンスを伴った形で行政施策への反映を齎す上では、継続的なベースラインサーベイランスの実施は不可欠であろう。

ESBL 産生大腸菌株の性状解析を通じ、ヒト臨床分離株で高率に認められる CTX-M 型が輸入冷凍鶏肉分離株においても優勢な状況にあることが確認された。これらの菌株は IncI1 プラスミドを共通に保有しており、同プラスミドを介した CTX-M 型 β -ラクタマーゼ遺伝子の拡散も懸念さ

れる。実際にマウス糞便を用いたプラスミド伝達試験を通じ、IncI1 プラスミドのマウス腸内に常在する大腸菌への接合伝達性が確認されたことはこうした薬剤耐性遺伝子の拡散リスクの一端を示していると考えられる。また、同一鶏肉検体由来の ESBL 産生大腸菌株及びサルモネラ属菌株は共に第三世代セフェム系抗菌薬耐性の表現形質を示し、IncI1 プラスミドを保有していたが、 β -ラクタマーゼ遺伝子型は異なっていた。そのため、IncI1 プラスミドの宿主域については今後も研究を発展させる必要があると思われる。

国産鶏肉由来 *C. jejuni* 株の薬剤耐性状況は依然として CPFY や TC 耐性が高い状況にあった。*C. jejuni*による CPFY 耐性獲得は *gyrAB* 遺伝子の点変異によりもたらされることが既知であり、同剤耐性率の低減には生産段階での使用中止を経て、長期的なモニタリングを行うことで達成状況を把握できるものと考えられる。また、本菌の TC 耐性の多くは、プラスミド上に *tetO* 遺伝子が座位することによって成立する場合が多いとされる。その伝達性等については今後の研究課題と考えられる。

E. 結論

輸入冷凍鶏肉からは高率に ESBL 産生菌が検出されたが、その汚染菌数は総じて低い状況にあった。汚染菌数を増加させ得るフードチェーン上の要因の排除をするための研究を継続して行う必要がある。ESBL 産生遺伝子拡散の可能性をマウス糞便を Recipient 素材として用いたところ、鶏肉

由来 *E. coli* が保有する IncI1 プラスミドの水平伝達が確認された。こうした薬剤耐性プラスミドの宿主域には不明な点も多く、薬剤耐性菌の拡散要因を精査するためには、更にプラスミド宿主域に関する検討を進める必要がある。

また、サルモネラ属菌は輸入冷凍鶏肉の 20% から検出され、血清型 Enteritidis が最も優勢であった。一方、国内食鳥と体検体からは、血清型 Schwarzengrund が極めて高い構成割合で認められ、同血清型が国内に蔓延している実態が推察された。今後、同血清型株の病原性に関する研究が必要と考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 佐々木貴正、上間匡、百瀬愛佳、米満研三、浅井鉄夫、朝倉宏. 2 食鳥処理場におけるブロイラー群および胸肉のカンピロバクター及びサルモネラ汚染状況と薬剤耐性. 鶏病研報. 2020. 50: 153-158.

2. 学会発表

- 1) 山本詩織、中山達哉、町田李香、朝倉宏：国内の市販鶏肉における ESBL 産生大腸菌の定性的・定量的評価. 第 94 回日本細菌学会総会、2021 年 3 月、オンライン開催.
- 2) Yamamoto S, Okada Y, Ishii Y, Igimi S, and Asakura H: Prevalence and genetic characterization of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* from retail poultry meat in Japan. International Union of Microbiological

Societies Congresses (IUMS 2020),
October 2020, Korea (virtual
congresses)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1. 輸入鶏肉検体における ESBL 産生菌の定量検出成績概要.

種別	検体数	菌数分布 (logCFU/g)			
		<1.40	1.40-1.99	2.00-2.99	>3.00
大腸菌	105	99	6	0	0
腸内細菌科菌群		97	8	0	0
その他		56	26	22	1

表 2. 輸入鶏肉検体由来 ESBL 産生大腸菌株の薬剤耐性パターン.

耐性薬剤数	薬剤耐性パターン	菌株数	菌株数 (耐性薬剤数別)
9	AMP-CEZ-CTX-SM-GM-ST/TMP-TC-NA-CPFX	1	4
	AMP-CEZ-CTX-SM-ST/TMP-CP-TC-NA-CPFX	1	
	AMP-CEZ-CTX-SM-GM-KM-ST/TMP-NA-CPFX	1	
	AMP-CEZ-CTX-SM-KM-ST/TMP-TC-NA-CPFX	1	
8	AMP-CEZ-CTX-SM-KM-ST/TMP-CP-TC	1	6
	AMP-CEZ-CTX-SM-ST/TMP-TC-NA-CPFX	1	
	AMP-CEZ-CTX-SM-GM-ST/TMP-NA-CPFX	1	
	AMP-CEZ-CTX-SM-GM-KM-TC-NA	1	
	AMP-CEZ-CTX-SM-GM-ST/TMP-CP-TC	1	
	AMP-CEZ-CTX-GM-KM-ST/TMP-TC-NA	1	
7	AMP-CEZ-CTX-SM-ST/TMP-TC-NA	2	11
	AMP-CEZ-CTX-SM-ST/TMP-CL-TC	1	
	AMP-CEZ-CTX-SM-GM-ST/TMP-TC	6	
	AMP-CEZ-CTX-SM-GM-ST/TMP-NA	1	
	AMP-CEZ-CTX-SM-KM-ST/TMP-CP	1	
6	AMP-CEZ-CTX-SM-ST/TMP-TC	1	11
	AMP-CEZ-CTX-SM-GM-ST/TMP	5	
	AMP-CEZ-CTX-SM-KM-ST/TMP	1	
	AMP-CEZ-CTX-SM-GM-TC	2	
	AMP-CEZ-CTX-SM-KM-TC	1	
	AMP-CEZ-CTX-TC-NA-CPFX	1	
	AMP-CEZ-CTX-SM-NA	3	
5	AMP-CEZ-CTX-SM-KM	1	10
	AMP-CEZ-CTX-NA-CPFX	1	
	AMP-CEZ-CTX-SM-ST/TMP	2	
	AMP-CEZ-CTX-ST/TMP-TC	1	
	AMP-CEZ-CTX-TC-NA	2	
4	AMP-CEZ-CTX-TC	2	5
	AMP-CEZ-CTX-SM	1	
	AMP-CEZ-CTX-KM	1	
	AMP-CEZ-CTX-NA	1	
3	AMP-CEZ-CTX	5	5

表 3. 輸入鶏肉由来 ESBL 産生大腸菌株における β ラクタマーゼ遺伝子型別成績.

CTX-M型					その他	計
1	2	8	9	25		
25	22	4	0	0	0	51
(49.0)	(43.1)	(7.8)	(0.0)	(0.0)	0	(100.0)

表 4. 輸入鶏肉由来 ESBL 産生大腸菌株における Inc 型別成績.

Inc型							計
F	I1	N	HI2	L/M	A/C	P	
51	25	6	0	0	0	0	51
(100.0)	(49.0)	(11.8)	(0.0)	(0.0)	(0.0)	(0.0)	(100.0)

表 5. 食鳥と体、輸入・国産鶏肉検体由来サルモネラ分離株の血清型別分布.

血清型	食鳥と体	輸入鶏肉	国産鶏肉
Heidelberg	0	3	0
Schwarzengrund	52	0	36
Typhimurium	3	0	0
Bareilly	1	0	0
Mbandaka	0	2	1
Infantis	0	1	7
Singapore/Escanaba	2	0	1
Thompson	2	0	0
Newport	0	2	0
Yovokome	4	0	0
Albany	2	0	0
Apeyeme	0	1	0
Enteritidis	0	7	0
II/IIIa/Blukwa	1	0	0
Minnesota	0	3	0
Alachua/IIIa/Westphalia	1	0	1
Manhattan	0	0	4
Agona	0	0	3
Corvallis	0	0	6
Braenderup	0	0	3
Cerro	0	0	1
NA	17	2	1
計	85	21	64

表 6. 輸入鶏肉検体由来サルモネラ分離株の薬剤耐性パターン及び Inc 型.

血清型	菌株数	薬剤耐性パターン	菌株数 (耐性パターン別)	Inc型				
				F	I1	N	HI2	A/C
Enteritidis	7	AMP/CEZ/NA	7	+ (7/7)	-	-	-	-
Heidelberg	3	AMP/CEZ/CTX/TC/NA	3	+ (3/3)	+ (1/3)	-	-	+ (3/3)
Minnesota	3	AMP/CEZ/CTX/KM/TC	2	+ (2/2)	-	-	-	+ (2/2)
		AMP/CEZ/CTX/TC/NA	1	+	-	-	-	+
Newport	2	AMP/CEZ/CTX	1	+	+	-	-	-
		-	1	+	-	-	-	-
Mbandaka	2	ST/TC	1	+	-	-	-	-
		-	1	+	-	-	-	-
Apeyeme	1	-	1	+	-	-	-	-
Infantis	1	TC	1	+	-	-	-	-
ND	2	AMP/CEZ/CTX/TC/NA	1	+	-	-	-	+
		-	1	+	-	-	-	-

表 7. 国産鶏肉由来サルモネラ 50 株の薬剤耐性状況.

血清型	菌株数	薬剤耐性											
		AMP		SM		KM		TC		NA		TMP	
		耐性菌株数	%	耐性菌株数	%	耐性菌株数	%	耐性菌株数	%	耐性菌株数	%	耐性菌株数	%
Schwarzengrund	36	1	2.8	26	72.2	28	77.8	24	66.7	5	13.9	20	55.6
Infantis	7	1	14.3	5	71.4	1	14.3	6	85.7	2	28.6	3	42.9
Manhattan	4	0	0	2	50	1	25	3	75	0	0	0	0
Agona	3	0	0	3	100	0	0	3	100	0	0	0	0
計	50	2	4	36	72	30	60	36	72	7	14	23	46

表 8. 国産鶏肉由来 *C. jejuni* 55 株の薬剤耐性状況.

薬剤耐性							
ABPC		SM		TC		CPFX	
耐性菌株数	%	耐性菌株数	%	耐性菌株数	%	耐性菌株数	%
20	32.8	1	1.6	10	16.4	20	32.8

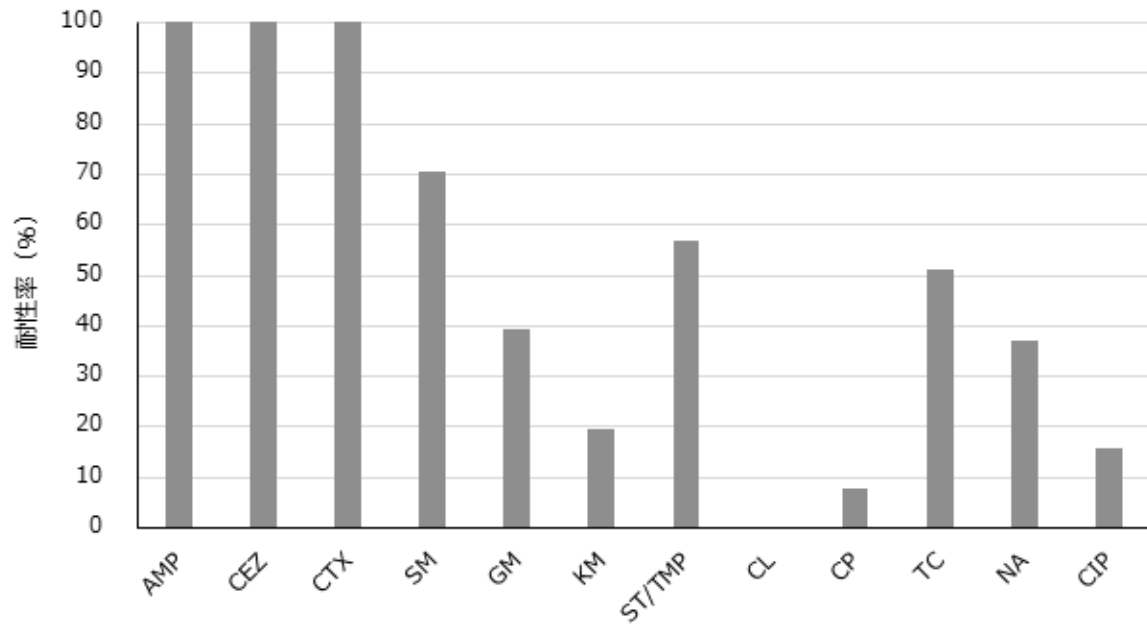


図 1. 輸入鶏肉由来 ESBL 産生大腸菌株の薬剤別耐性率.

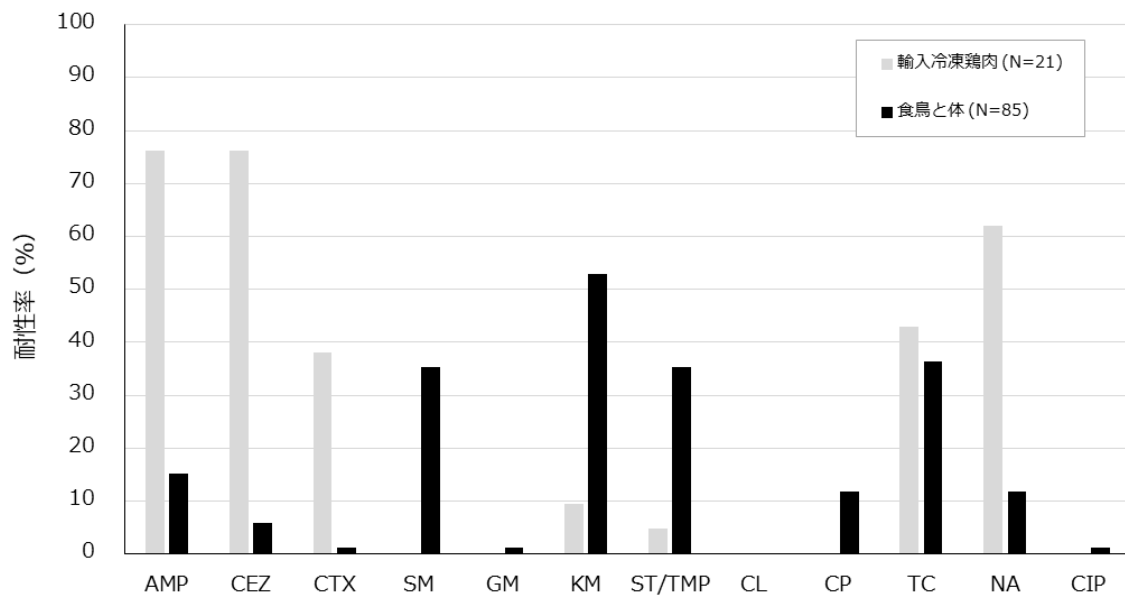


図 2. 輸入鶏肉及び食鳥と体検体由来サルモネラ分離株の薬剤別耐性率.

令和2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：古谷 ゆかり（農林水産省動物医薬品検査所）

研究協力者：原田 咲（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2年度は、平成30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並びに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30年度に食鳥処理場及びと畜場で分離された大腸菌及びサルモネラのうち、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-10*)の保有状況を確認したところ、*mcr-1*遺伝子は検出されたが低率（各年、動物種毎に、いずれも8%以下）であった。

また、人のカンピロバクター腸炎は、主にマクロライド系抗菌性物質製剤で治療されることから、国内における家畜由来カンピロバクターにおけるマクロライド耐性機構を調査したところ、可動性耐性遺伝子である *erm(B)* は検出されなかった。

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、国内では農林水産省動物医薬品検査所が基幹検査機関となって実施している動物由来薬剤耐性菌モニタリング(JVARM)が構築されている。

一方、医療の分野においては、医療機関における

院内感染の発生状況、薬剤耐性菌の分離状況および薬剤耐性菌による感染症の発生状況を調査することで、我が国の院内感染の概況を把握し、医療現場への院内感染対策に有用な情報の還元等を行うことを目的に、厚生労働省院内感染対策サーベイランス(JANIS)が構築されている。

本研究では、薬剤耐性(AMR)対策アクションプラ

ンの戦略 2.5 ヒト、動物、食品、環境等に関する統合的なワンヘルス動向調査の実施の取組において、「ヒト、動物、食品における薬剤耐性に関する動向調査・監視に関するデータ連携の実施」のため、JVARM データの整備作業を継続した。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。

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* 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*～*10* 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。

人のカンピロバクター腸炎は、主にマクロライド系抗菌性物質製剤で治療される。カンピロバクターにおいてマクロライド耐性は主に染色体上の遺伝子の突然変異の結果として発現するが、2013 年に中国の豚から分離された *Campylobacter coli* が可動性の耐性遺伝子 *erm (B)* を獲得していることが初めて報告された (Qin ら 2013)。そこで、国内における家畜由来カンピロバクターにおけるマクロライド耐性機構を調査した。

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) 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

平成 28 年度から 30 年度までの 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-10* 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。

(3) 家畜由来カンピロバクターにおけるマクロライド耐性機構

平成 29 年にと畜場の豚から分離されたマクロライド耐性 *C. coli*19 株及び食鳥処理場の鶏から分離されたマクロライド耐性 *C. jejuni*1 株について、全ゲノム解析によって耐性遺伝子及び遺伝子の変異を確認した。

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 30 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 29 年度と 30 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) 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 4)。H30 年分離株では、*mcr-1* が豚由来株のみから 6 株 (7.2%: 割合は、各年の各動物種由来株全株に対するもの) 検出され、*mcr-2* から *mcr-10* 遺伝子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 30 年までの経年変化を図 4 に示す。

(3) 家畜由来カンピロバクターにおけるマクロライド耐性機構 (図 5)

すべての株で、*erm (B)* 遺伝子を保有していなかった。マクロライド耐性に関与する、23s rRNA の変異を保有している株は 2 株のみであった。機能が不

明な 23s rRNA の変異を保有している株が 2 株あった。それぞれの株の Sequence Type には多様性が認められた。

D. 考察

昨年度に引き続き、JVARM の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 CLSI2012 の SIR 基準による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。

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-10* 遺伝子の保有状況について確認したところ、平成 30 年度分離株では *mcr-1* 遺伝子のみ検出されたが、昨年度と同様に低率であった。

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」とされた。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。その後、令和 2 年度に新たな科学的知見を踏まえて食品安全委員会において再評価が行われた結果、リスクの程度は「低度」に引き下げられた。ただし、この評価は上記のリスク管理措置を前提としたものであることから、農林水産省はこれらのリスク管理措置を継続することとしている。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 分布及び *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。

人におけるカンピロバクターによる食中毒の報告はその多くが *C. jejuni* であり、治療にはマクロライド系薬剤が使用される。JVARM のと畜場由来カンピロバクターにおいては、*C. jejuni* 及び *C. coli* のエリスロマイシン耐性率は 3% 以下及び 20~40% 程度で推移している。平成 26 年度食品安全確保推進研究事業「食品由来細菌の薬剤耐性サーベイランスの強化と国際対応に関する研究」で、JVARM で収集した健康豚由来 *C. coli* において、可動性耐性遺伝子 *erm(B)* の保有を報告した。しかし、今回の調査の結果では、*erm(B)* を保有している株は認められなかった。現時点では、国内の農場で *erm(B)* が広まっていないことが示唆された。

ただし、調査した 20 株中、マクロライド耐性に関与する、23s rRNA の変異を保有している株は 2 株のみであり、残りの 18 株についてはマクロライド耐性機構が不明であった。新たな耐性因子の可能性も含め、引き続き動向に注意が必要である。

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。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、大腸菌のみから *mcr-1* 遺伝子は検出されたが低率であった。健康家畜由来マクロライド耐性カンピロバクターにおいて耐性遺伝子の検索を行ったが、可動性耐性遺伝子である *erm(B)* は検出されなかった。

F. 健康危害情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) M. Ozawa, M. Kawanishi, M. Uchiyama, D. Mitsuya, H. Abo, R. Koike and M. Kijima. Correlation of minimum inhibitory concentrations between human and animal antimicrobials against *Escherichia coli* isolated from livestock. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. (in press)

2.学会等発表

なし

3.業界関係者向け説明会

- (1) 嶋崎洋子「人獣共通感染症と薬剤耐性菌の現状

と対策 薬剤耐性菌対策のワンヘルスに向けた動物分野での取り組み」(2020年11月、波止場会館、日本技術士会神奈川県支部 CPD 講座)

- (2) 「獣医師に求められる薬剤耐性 (AMR) 対策」(2020年6月～2021年3月、全17獣医系大学におけるオンライン動画配信及びライブ配信)

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 2018年 と畜場由来株

大腸菌 畜種（肉用牛 N=189）

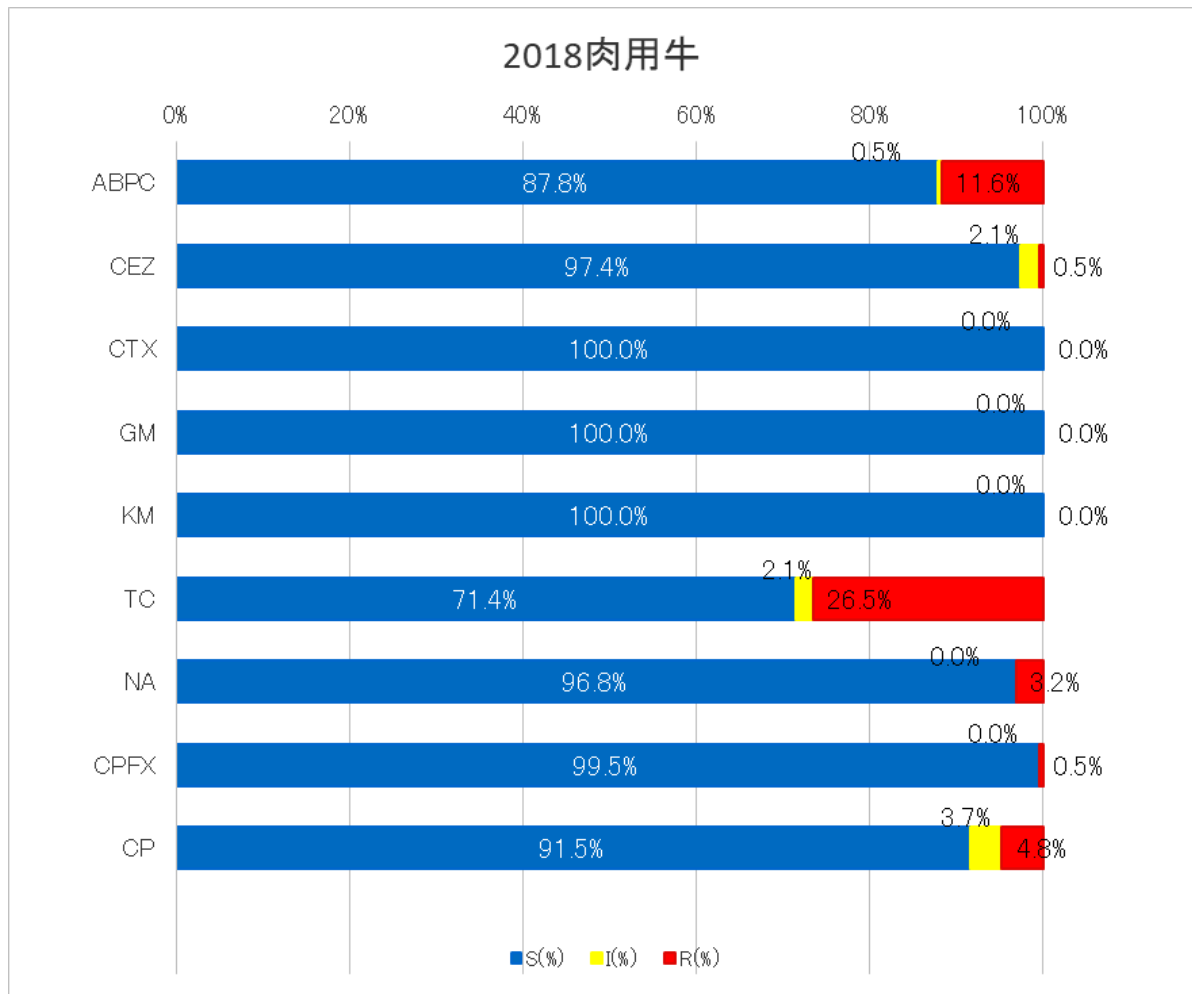


図2 2018年 と畜場由来株

大腸菌 畜種 (豚 N=83)

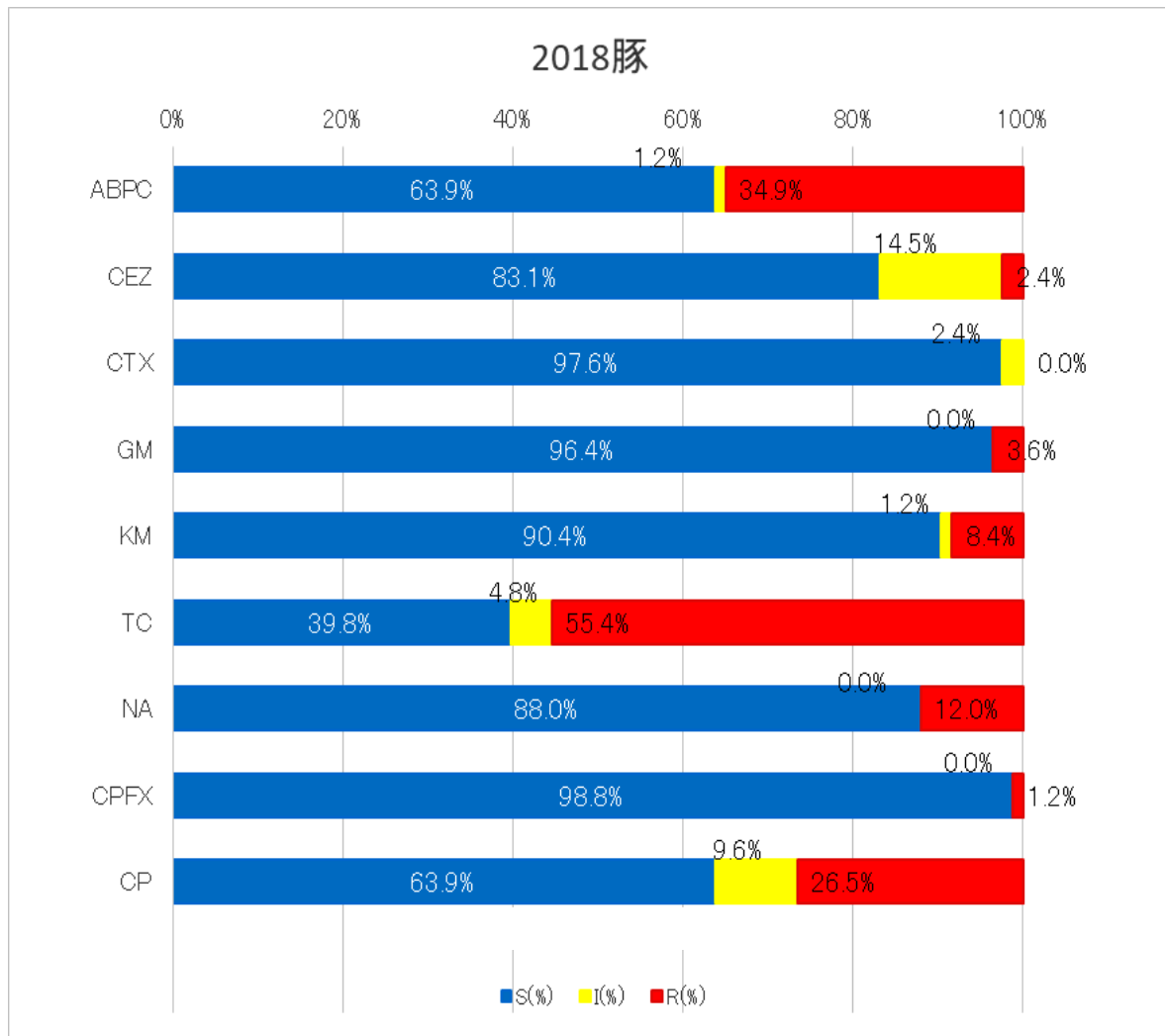


図3 2018年 食鳥処理場由来株

Salmonella spp. 畜種（肉用鶏 N=117）

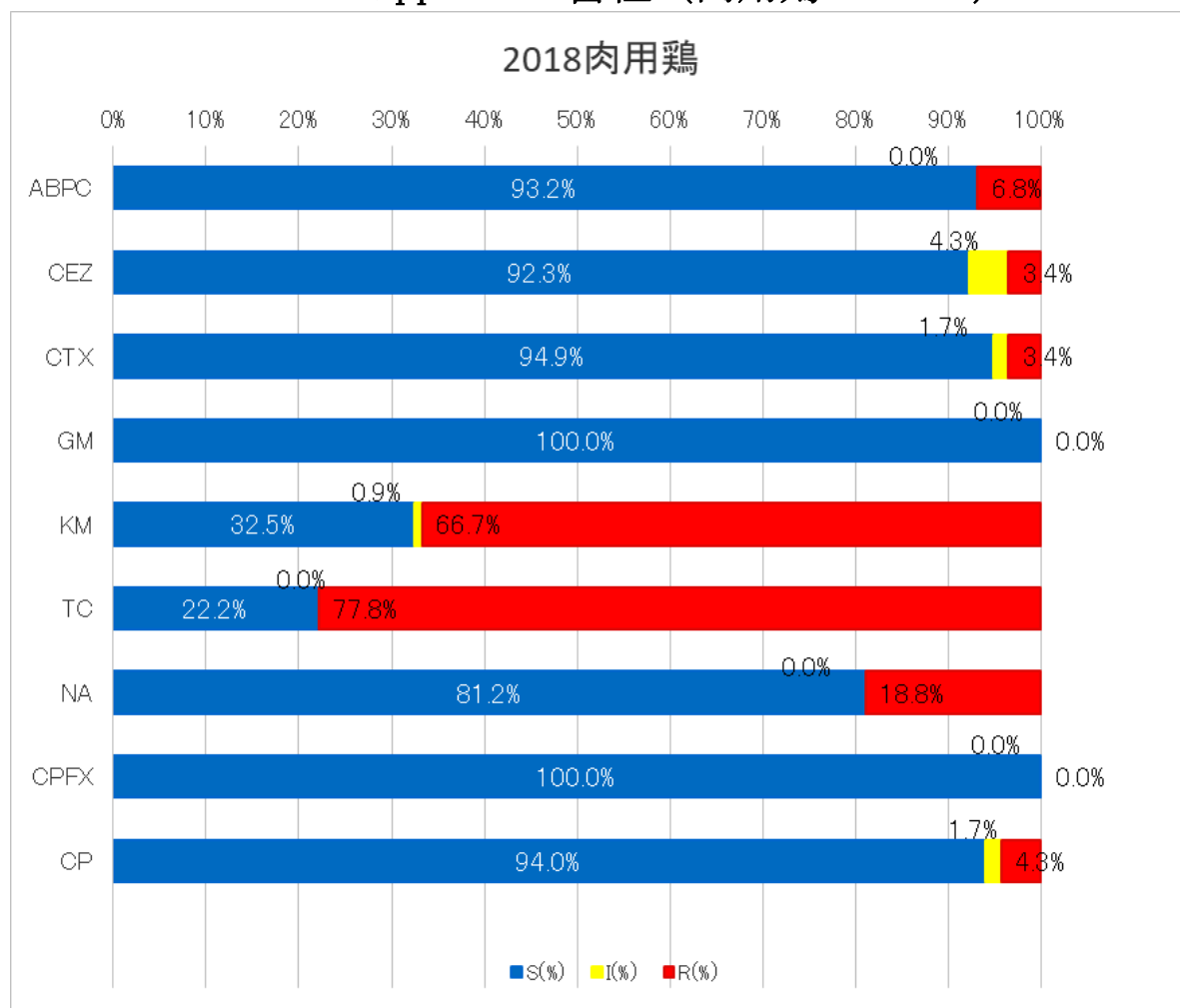
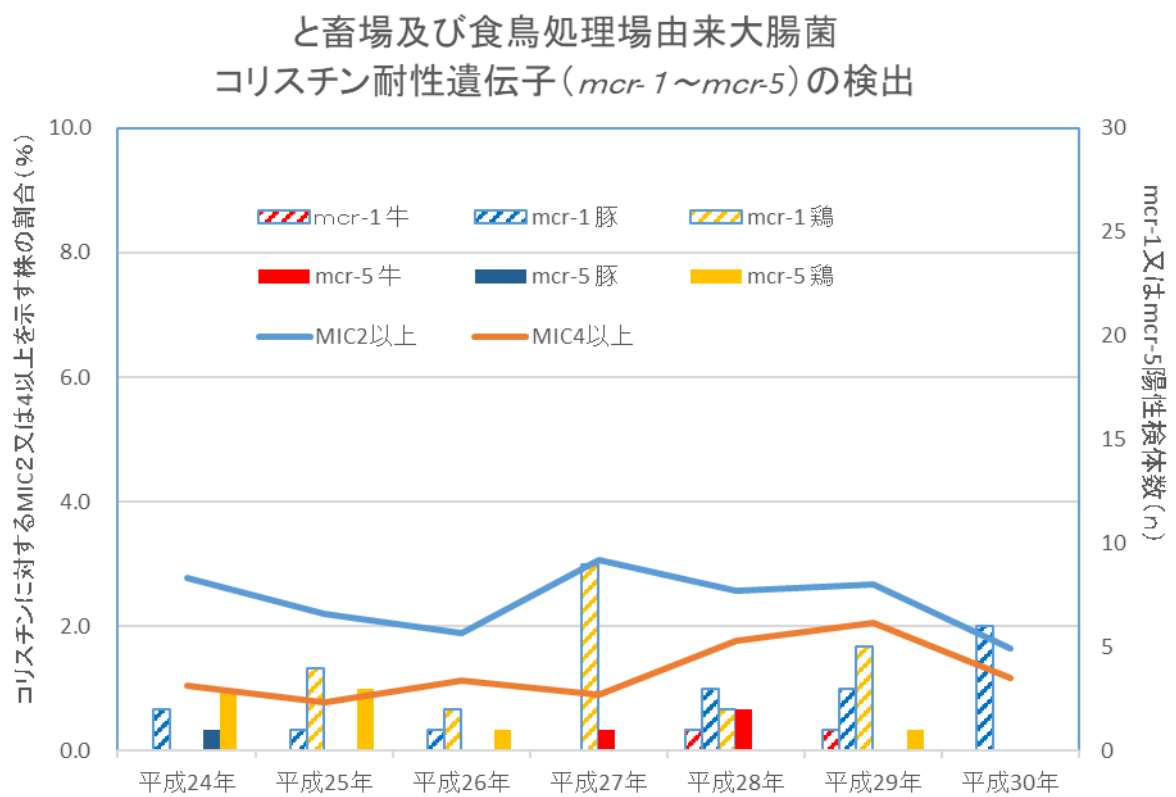


図4 と畜場及び食鳥処理場由来大腸菌コリスチン耐性遺伝子の検出



※平成 28 年から 30 年は、*mcr-1* から *mcr-10* を検出

図5 家畜由来カンピロバクターにおける遺伝子的性状

Isolates	Species	Source	Resistance genes	Mutations		Sequence Types
				Macrolide resistance	Streptomycin resistance	
S-SA-29-CC-TP-26-1	<i>C. coli</i>	Pig	aadE-Cc;blaOXA-489;tet(O)	-	-	828
S-SA-29-CC-TP-27-1	<i>C. coli</i>	Pig	aadE-Cc;blaOXA-489;tet(O)	-	-	828
S-SA-29-CC-OP-40-1	<i>C. coli</i>	Pig	tet(O)	-	rpsL p.K43R	828
S-SA-29-CC-TP-68-1	<i>C. coli</i>	Pig	aadE-Cc;aph(3')-III;blaOXA-193;blaOXA-61;blaOXA-489;blaOXA-453;blaOXA-452;blaOXA-451;blaOXA-450;tet(O)	-	rpsL p.K43R	828*
S-SA-29-CC-TP-120-1	<i>C. coli</i>	Pig	blaOXA-193;blaOXA-61;blaOXA-489;blaOXA-453;blaOXA-452;blaOXA-451;blaOXA-450;inu(C);tet(O)	-	rpsL p.K43R rpsL p.K88R	828*
S-SA-29-CC-OP-39-1	<i>C. coli</i>	Pig	aadE-Cc;tet(O)	-	-	854
S-SA-29-CC-TP-125-1	<i>C. coli</i>	Pig	tet(O)	-	-	854*
S-SA-29-CC-KP-41-1	<i>C. coli</i>	Pig	aph(3')-III;blaOXA-193;blaOXA-61;blaOXA-489;blaOXA-453;blaOXA-452;blaOXA-451;blaOXA-450;tet(O)	23S r.2075A>G	rpsL p.K43R	890*
S-SA-29-CC-TP-28-1	<i>C. coli</i>	Pig	aadE-Cc;tet(O)	-	-	1016
S-SA-29-CC-TP-118-1	<i>C. coli</i>	Pig	aadE-Cc;tet(O)	-	-	1016
S-SA-29-CC-TP-47-1	<i>C. coli</i>	Pig	aph(3')-III;tet(O)	23S r.2075A>G	rpsL p.K43R	1112
S-SA-29-CC-TP-30-1	<i>C. coli</i>	Pig	aadE-Cc;blaOXA-489;inu(C);tet(O)	-	rpsL p.K88R	1145
S-SA-29-CC-TP-122-1	<i>C. coli</i>	Pig	aph(3')-III;blaOXA-489;tet(O)	-	-	1145
S-SA-29-CC-TP-87-1	<i>C. coli</i>	Pig	aadE-Cc;tet(O/32/O)	-	rpsL p.K43R	1096
S-SA-29-CC-TP-74-1	<i>C. coli</i>	Pig	blaOXA-193;blaOXA-61;blaOXA-489;blaOXA-453;blaOXA-452;blaOXA-451;blaOXA-450;tet(O)	-	-	1413
S-SA-29-CJ-MiyaC-57-1	<i>C. jejuni</i>	Broiler	tet(O)	-	-	1767
S-SA-29-CC-OP-113-1	<i>C. coli</i>	Pig	tet(O)	-	rpsL p.K43R rpsL p.K88R	2713
S-SA-29-CC-OP-5-1	<i>C. coli</i>	Pig	aadE-Cc;tet(O)	-	-	Unknown
S-SA-29-CC-TP-70-1	<i>C. coli</i>	Pig	aph(3')-III;cat;tet(O)	-	rpsL p.K43R rpsL p.K88R	Unknown
S-SA-29-CC-TP-25-1	<i>C. coli</i>	Pig	tet(O)	-	rpsL p.K43R rpsL p.K88R	Unknown

*: Nearest Sequence Type

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2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

2019年に都内の散発下痢症患者から分離された *C. jejuni* 132株および *C. coli* 16株を対象に薬剤感受性試験を行った。フルオロキノロン系薬剤耐性率は、それぞれ 56.1%および 68.8%であり、いずれも過去8年間と比較してほぼ横ばいであった。治療の第一選択薬である EM 耐性率は、それぞれ 1.5%および 25.0%であり、*C. coli* の方が耐性率は高かった。

2020年に健康者の糞便から分離された 281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 42.3%であった。薬剤別耐性率は例年と同様に ABPC (27.8%), TC (21.7%), NA (21.4%), SM (16.7%) で高い傾向を示した。フルオロキノロン系薬剤耐性は 6.4%, CTX 耐性は 4.6%であり、2015年以降フルオロキノロン系薬剤耐性は 10%程度、CTX 耐性は 5%程度で推移していることが明らかとなった。CTX 耐性株 13株のうち ESBL 産生株は 10株、ApmC 型 β ラクタマーゼ産生株は 3株であり、このような株が健康者からも分離されることが明らかとなった。プラスミド性コリスチン耐性遺伝子保有株は認められなかった。

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、明らかに異なる耐性パターンを示した。特に KM は国産由来株で 31.8%と高く、輸入由来株では 3.5%と低かった。日本では 2012年以降、セフトリオキサムの自主規制がなされ、代わりに KM を使用していることから、耐性率が高い傾向であると考えられた。CTX 耐性率は国産および輸入由来株共に減少傾向であった。

2020年にヒトから分離されたサルモネラは 54株（26血清型）、食品由来株は 82株（13血清型）であった。ヒトおよび食品に共通して高率に検出されている血清型は、04群 Schwarzengrund で例年と同じ傾向であった。このことから食品（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示唆された。

A. 研究目的

2016年4月に「薬剤耐性（AMR）対策アクションプラン」が策定され、2020年までの5年間の目標と実施すべき具体的な取り組み事項が明確化された。この5年間にヒト、動物、環境のそれぞれの分野において様々な取り組みが行われており、少なくとも人に対する治療薬である経口抗菌薬の使用量が減少するなど、一定の効果が認められている。

一方、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るなど、耐性率の増加傾向が続いているものもあり、薬剤耐性菌の蔓延はヒトの健康を脅かす重大な問題となっている。

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と特徴、出現状況や拡大傾向を継続的に監視していくこと

が重要である。

今年度は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

2019年に都内の病院で分離された *C. jejuni* 132株および *C. coli* 16株を対象に薬剤感受性試験を行った。供試薬剤は、アンピシリン (ABPC)、テトラサイクリン (TC)、ナリジクス酸 (NA)、シプロフロキサシン (CPFX)、エリスロマイシン (EM)、セファロチン (CET) の6薬剤で、方法は、平成30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。すなわち、平板は5%馬脱繊維血液加ブルセラ寒天培地を用い、37℃、48時間培養後に阻止円の測定を行った。

2) 微量液体希釈法によるMIC値の測定

2018年に都内病院で分離された散発患者由来の *C. jejuni* 108株および *C. coli* 8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ウエルに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

2020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281人から分離された大腸菌281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 (ST)、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。

3) ESBL産生菌の検出と遺伝子型別試験

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ESBLまたはAmpC産生菌の鑑別を行った。ESBLまたはAmpC産生菌と判定された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)を用いた型別試験を実施した。

4) 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

2020年に食中毒関連調査のために搬入された国産鶏肉124検体と都内スーパーマーケットで購入した輸入鶏肉34検体(ブラジル産:26検体, タイ産:8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124検体から分離した198株および輸入鶏肉34検体から分離した57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. 2020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

2020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54株および食品から分離された82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。

5. 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。本研究についてはオプトアウト方式で公開され、「保有個人データの研究使用の停止申請」を行うことにより当研究から除外が可能である。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

2019 年に分離された散発患者由来 *C. jejuni* 132 株のうちフルオロキノロンおよび NA に耐性を示したのは 74 株 (56.1%) であった。2018 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* 16 株のフルオロキノロンおよび NA 耐性は 11 株 (68.8%), であった (図 2)。EM 耐性株は *C. jejuni* で 2 株 (1.5%) 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 4 株 (25.0%) で、2018 年よりも耐性率は低かった。EM 耐性率は *C. jejuni* よりも *C. coli* の方がはるかに高い傾向で推移している。

ABPC 耐性率は *C. jejuni* で 8.1%, *C. coli* は全て感受性であった。TC 耐性率は *C. jejuni* で 24.4%, *C. coli* で 57.1% であった。

2) 微量液体希釈法による MIC 値の測定

2018 年に分離された *C. jejuni* 108 株および *C. coli* 8 株を供試した。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 59 株 (54.6%), *C. coli* では 4 株 (50.0%) 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 CPFEX と EM であり、それぞれ $\geq 4 \mu\text{g/mL}$ (CPFEX), $\geq 32 \mu\text{g/mL}$ (EM) が耐性である。CPFEX 耐性は *C. jejuni* では 62 株 (57.4%), *C. coli* では 4 株 (50.0%), EM 耐性は *C. jejuni* で 3 株 (2.8%), *C. coli* で 4 株 (50.0%) であった (図 3, 図 4)。

TC, ABPC, LFLX は CLSI の基準が定められていないため、生物学的ブレイクポイント (BP) を設定し耐性率を求めた。3 薬剤のうち ABPC は生

物学的ブレイクポイントの設定ができなかったことから、耐性率の算出は不可能であった。

TC の生物学的ブレイクポイントは $\geq 16 \mu\text{g/mL}$ で、*C. jejuni* は 21 株 (19.4%), *C. coli* は 2 株 (25.0%) が耐性であった。LVFX の生物学的ブレイクポイントは $\geq 4 \mu\text{g/mL}$ で、*C. jejuni* は 61 株 (56.5%), *C. coli* は 4 株 (50.0%) が耐性であった (図 5, 図 6)。

2. 健康者糞便由来大腸菌の薬剤耐性菌出現状況

1) ディスク法を用いた薬剤感受性試験

2020 年に健康者の糞便から分離された 281 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 119 株 (42.3%) 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 27.8%, 次いで TC 21.7%, NA 21.4%, SM 16.7% であった。フルオロキノロン (CPFEX, NFLX, OFLX) 耐性は 6.4%, CTX 耐性は 4.6%, CFX 耐性は 1.1%, CAZ 耐性は 0.4% 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 7)。

2) ESBL 産生菌の検出と遺伝子型別試験

第 3 世代セファロスポリン系薬剤に耐性を示した 13 株を対象に AmpC/ESBL 鑑別ディスクおよび遺伝子型別試験を行った。その結果、ESBL 産生株は 10 株、AmpC 産生株は 3 株であった。ESBL 産生株の遺伝子型は CTX-M-9 グループが最も多く 8 株、AmpC 産生は DHA 型が 2 株、CIT 型が 1 株であった (表 1)。

3) コリスチン耐性大腸菌の検出

薬剤感受性試験に供試した 281 株についてプラスミド性コリスチン耐性遺伝子 (*mcr-1* ~ *mcr-5*) の保有状況を調べた結果、全て陰性であった。

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

2020 年に搬入された国産鶏肉 124 検体中、大腸菌が検出されたのは 115 検体 (92.7%) であった。輸入鶏肉では 34 検体中 31 検体 (91.2%) から大腸菌が検出された。これら鶏肉から分離された国産由来株 198 株および輸入由来株 57 株の大腸菌を薬剤感受性試験に供試した (表 2)。

国産由来株と輸入由来株の薬剤別耐性率を比較した結果、国産由来株の方が耐性率が高かったのは ABPC, KM, SM, TC, ST 合剤, CP, FOM, NA, CPFEX, NFLX, OFLX の 11 薬剤であった。一

方、輸入由来株の方が高かったのは GM および CTX の 2 薬剤のみであった (図 8)。

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。国産鶏肉の CTX 耐性率は、2012 年には 10.1%であったが、2020 年は 1.0%まで低下していた。また外国産鶏肉でも 24.6% (2011 年) から 3.5% (2020 年) と耐性率は低下していた。一方 KM 耐性率は、輸入鶏肉では 26.2% (2011 年) から 3.5% (2020 年) と低下していたが、国産鶏肉では 2018 年以降、耐性率は 30%台である。

4. 2020 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

2020 年にヒトから分離されたサルモネラは 54 株で 26 の血清型に、食品由来株は 82 株で 12 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 11 株 (20.4%), 04 群 i: - 5 株 (9.3%), 04 群 Typhimurium, 04 群 Saintpaul, 07 群 Infantis, 07 群 Thompson, 07 群 Braenderup が各 3 株 (5.6%) 等であった。一方、食品分離株は 04 群 Schwarzengrund が 39 株 (47.6%) と最も多く分離され、次いで 07 群 Infantis 15 株 (18.3%), 04 群 Agona 6 株 (7.3%) 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, 04 群 i: - 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 22 株 (40.7%), 食品由来株では 71 株 (86.6%) と食品由来株の方が耐性率は 2 倍以上高かった。

ヒトおよび食品由来株で共通に分離されている 04 群 Schwarzengrund の薬剤別耐性率を図 9 に示した。KM, SM, TC, ST 合剤, NA ではヒト由来および食品由来株の両方で耐性が認められ、耐性率は食品由来株の方が高かった。また ABPC, CP, CTX は食品由来株のみ耐性が認められた。

CTX 耐性株は食品由来株で 1 株 (04 群 Schwarzengrund) のみであった。

市販の外国産鶏肉 34 検体を対象にサルモネラの分離を試みた結果、6 検体 (17.6%) からサルモネラが検出された。産地はブラジル産が 5 株、タイ産が 1 株であった。6 株の血清型は 04 群 Heidelberg が 3 株, 021 群 Minnesota が 2 株, 08 群 Kentucky が 1 株であった。薬剤感受性試験の結果、全ての株で 2 薬剤~6 薬剤に耐性であった。CTX 耐性株は 3 株 (021 群 Minnesota: 2 株, 04 群 Heidelberg: 1 株) であ

った (表 5)。

CTX 耐性株 4 株 (国産鶏肉由来 1 株, 輸入鶏肉由来 3 株) を対象に AmpC/ESBL 鑑別ディスクおよび遺伝子型別試験を行った。その結果、輸入鶏肉由来の 3 株が AmpC 産生株、遺伝子型 CIT 型であった。

D. 考察

2020 年に東京都内で発生した食中毒事例は 112 事例であった。新型コロナウイルス感染症の影響により外食する機会が減少したためか、食中毒調査を目的とした検体数は大幅に減少したが、決定された食中毒の事例数は例年並みであった。このうち 54 事例はアニサキスによるものである。カンピロバクターは 21 事例 (18.7%) で、2019 年より 15 事例減少したものの、依然として細菌性食中毒の中では最も多い発生数である。

2019 年に都内病院で分離された散発患者由来 *C. jejuni* 132 株のうちフルオロキノロンに耐性を示したのは 74 株 (56.1%) であった。2018 年分離株 (51.8%) 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* 16 株のフルオロキノロン耐性は 11 株 (68.8%) で 2018 年の 37.5%と比較すると増加しており、2017 年 (62.5%) 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 1.5%, *C. coli* が 25.0%であった。過去 8 年間の耐性率と比較すると *C. jejuni* の EM 耐性率は数%以下でほぼ横ばい傾向である。また、*C. coli* の EM 耐性率は、2018 年分離株の 62.5%以外は 20%前後で推移しており、2019 年分離株でも例年と同様の傾向であった。*C. coli* の供試数が少ないことから、より正確な耐性率を求めるためにはさらに菌株数を増やして実施する必要があると考えられた。

2018 年分離株を対象として 5 薬剤 (NA, CPFX, LVFX, EM, ABPC) について MIC の測定を行った。CLSI に判定基準が記載されていない NA, LVFX, ABPC については生物学的ブレイクポイントを設定することを試みたが、NA と ABPC は MIC の分布が二峰性にならず、設定は不可能であった。LVFX は $\geq 4 \mu\text{g/mL}$ と設定し耐性率を求めた結果、耐性率は 56.5%であった。今後は、ディスク法と耐性率を比較していく予定である。

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 42.3%で、2015 年 (46.1%), 2016 年 (37.6%), 2017 年 (36.5%), 2018 年 (41.3%),

2019 年 (39.2%) と比較すると、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 (27.8%), TC (21.7%), NA (21.4%), SM (16.7%) 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耐性は 6.4%, CTX 耐性は 4.6% であり、2015 年以降フルオロキノロン系薬剤耐性は 10% 程度、CTX 耐性は 5% 程度で推移していることが明らかとなった。

2020 年分離株のうち、プラスミド性コリスチン耐性遺伝子陽性株は認められなかった。

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 31.8% であるのに対し輸入肉由来株では 3.5% と低い耐性率であった。一方、GM 耐性率は国産肉由来株 5.1% に対して輸入鶏肉由来株では 21.1% と明らかに高かった。輸入株では 2015 年以降耐性率が低くなっている。これら耐性率の傾向に今後と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%, 2020 年は 1.0% と調査を始めた 2012 年以降で最も耐性率は低くなった。セフト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、低い耐性率で推移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、2020 年は 3.5% の耐性率であった。

2020 年にヒトおよび食品から分離されたサルモネラは、昨年と比較してヒト由来株は約 1/3 に、食品由来株では約半数に減少した。これは新型コロナウイルス感染症の影響で外食する機会が減り、結果として食中毒疑い事例が減ったことから、食中毒関連調査としての検体搬入が減少したことによると考えられた。2020 年ヒト由来株は 54 株 (26 血清型)、食品由来株は 82 株 (13 血清型) であった。共通して高率に検出されている血清型は、04 群 Schwarzengrund で例年と同じ傾向であった。ヒトのみから分離される血清型も多いが、少なくとも 04 群 Schwarzengrund 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 40.7%, 食品由来株では 86.6% 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株と食品由来株でほぼ同じ傾向が認められた。耐性率は食品由来株の方が高い傾向であった。

CTX 耐性株の分離数は、2018 年の 14 株 (ヒト由来 4 株、食品由来 10 株)、2019 年は 4 株 (ヒト由来 3 株、食品由来 1 株) であったが、2020 年は食品由来株 1 株のみであった。今後とも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 株は、国産鶏肉ではほとんど認められない血清型 (04 群 Heidelberg, 08 群 Kentucky, 021 群 Minnesota) であった。全て 2 薬剤以上に耐性を示す多剤耐性株であった。耐性パターンも国産鶏肉由来では認められている耐性パターンとは異なり、輸入鶏肉由来株に特徴的なパターンであると考えられた。6 株中 3 株で CTX 耐性が認められ、いずれも AmpC 型 β ラクターマーゼ産生株であった。一方、フルオロキノロン系薬剤耐性株は認められなかった。

2020 年は新型コロナウイルス感染症の影響で、例年と比較して供試菌株数が少ない状況であった。より正確に薬剤耐性率をモニタリングしていくためには、出来るだけ多くの菌株を対象に実施していく必要があると考えられた。

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 年と比較して 2019 年は約 10.9% 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。薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプランが策定されてから 5 年が経過し、6 つの各分野それぞれが目標に向かって努力している状況である。今後も引き続き、薬剤耐性菌の変化や拡大傾向など継続的にモニタリングを行い、動向を注視していくことが重要である。

E. 結論

2019 年に分離された散発患者由来 *C. jejuni* および *C. coli* のフルオロキノロン系薬剤耐性率は、それぞれ 56.1% および 68.8% であった。いずれも過去 8 年間と比較するとほぼ横ばいであった。治療の第一選択薬である EM 耐性率は、それぞれ 1.5% および 25.0% であり、*C. coli* の方が耐性率は高かった。

2020 年に健康者の糞便から分離された 281 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 42.3% であった。薬剤別耐性率は例年と同様に ABPC (27.8%), TC (21.7%), NA (21.4%),

SM (16.7%) で高い傾向を示した。フルオロキノロン系薬剤耐性は 6.4%, CTX 耐性は 4.6% であり, 2015 年以降フルオロキノロン系薬剤耐性は 10% 程度, CTX 耐性は 5% 程度で推移していることが明らかとなった。CTX 耐性株 13 株のうち ESBL 産生株は 10 株, ApmC 型 β ラクタマーゼ産生株は 3 株であった。このような株が健康者からも分離されることが明らかとなった。

プラスミド性コリスチン耐性遺伝子保有株は認められなかった。

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, 明らかに異なる耐性パターンを示した。特に KM は国産由来株で 31.8% と高く, 輸入由来株では 3.5% と低かった。日本では 2012 年以降, セフトオフルの自主規制がなされ, 代わりに KM を使用していることから, 耐性率が高い傾向であると考えられた。CTX 耐性率は国産および輸入由来株共に減少傾向であった。

2020 年にヒトから分離されたサルモネラは 54 株 (26 血清型), 食品由来株は 82 株 (13 血清型) であった。ヒトおよび食品に共通して高率に検出されている血清型は, 04 群 Schwarzengrund で例年と同じ傾向であった。このことから食品 (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示唆された。

2020 年は新型コロナウイルス感染症の影響で, 例年と比較して供試菌株数が少ない状況であった。より正確に薬剤耐性率をモニタリングしていくためには, 出来るだけ多くの菌株を対象に実施していく必要があると考えられた。

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
準備中
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 |

図1. 散発患者由来*C. jejuni* の耐性菌出現状況（東京都）

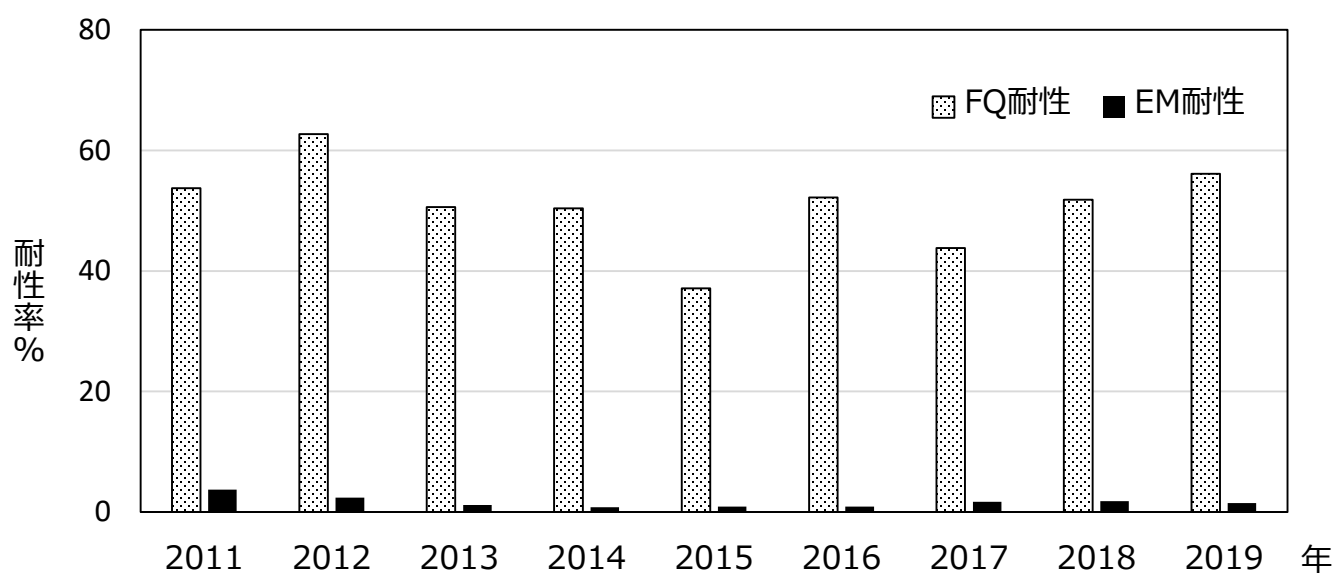


図2 散発患者由来*C. coli* の耐性菌出現状況（東京都）

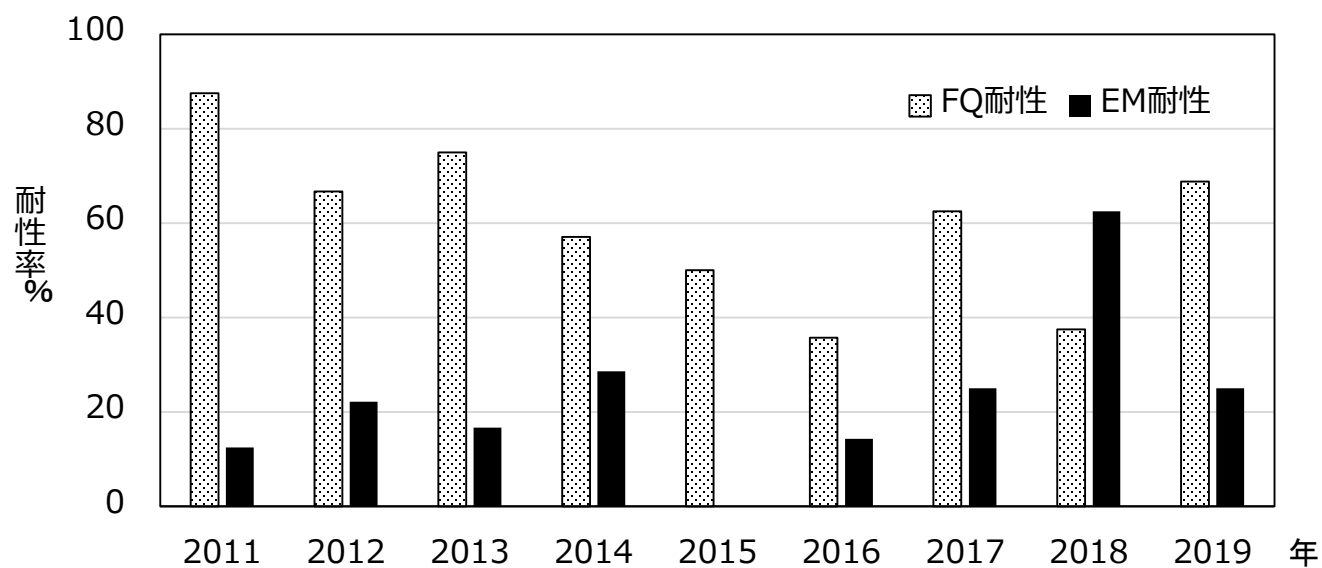


図3. 散発患者由来*C. jejuni* のMIC値 (2018年, 東京都)

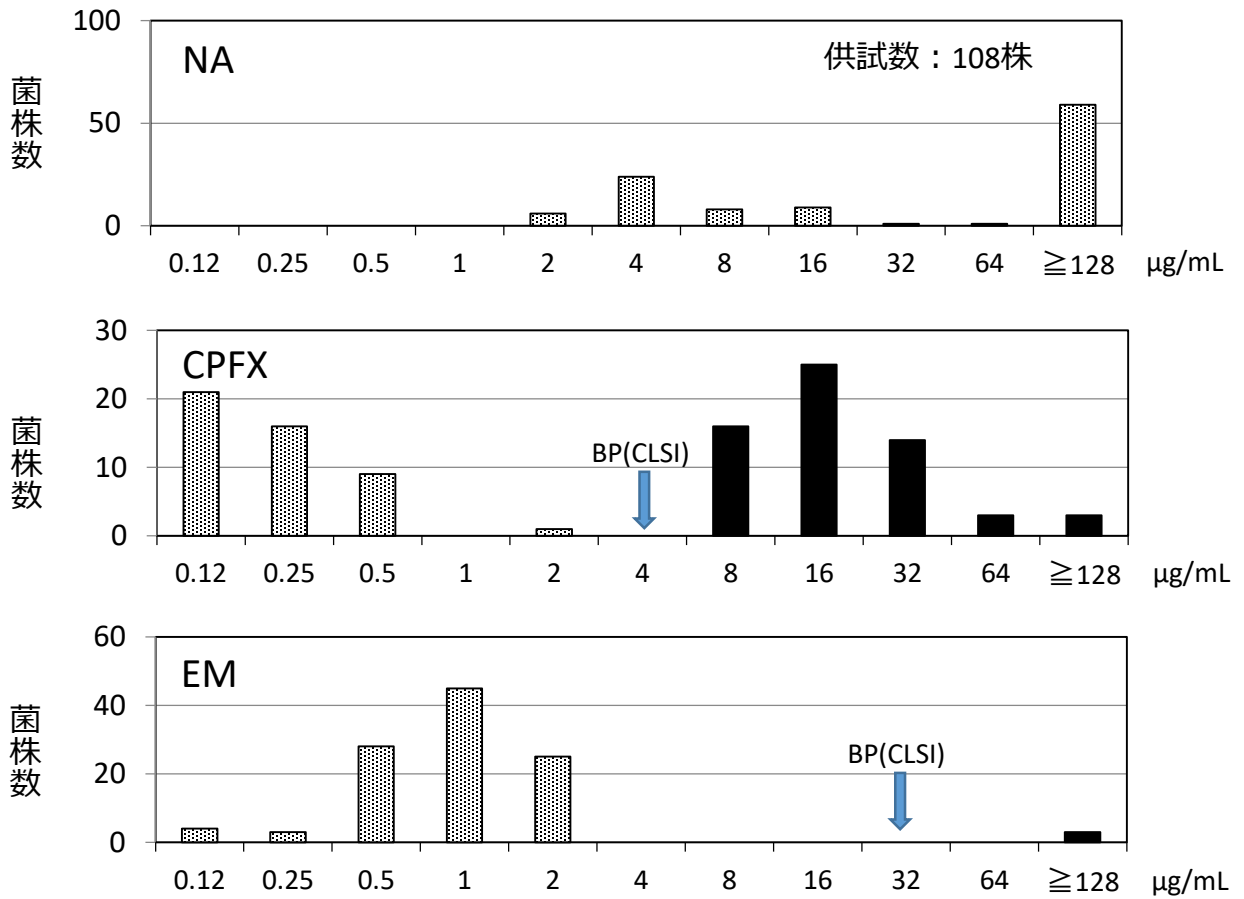


図4. 散発患者由来*C. coli* のMIC値 (2018年, 東京都)

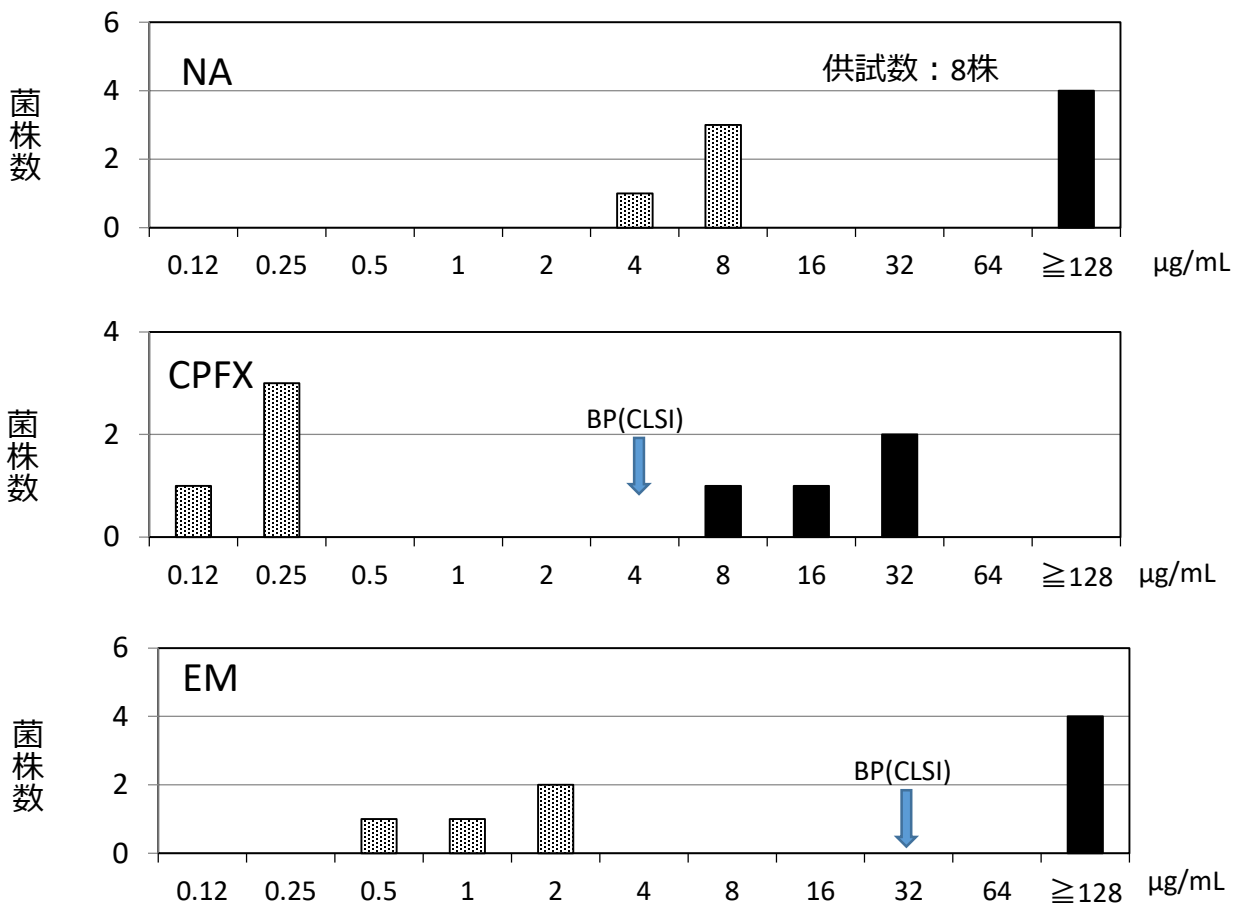


図5. 2018年に東京都で分離された散発患者由来C. jejuni のLVFXに対するMIC値
(生物学的ブレイクポイント： $\geq 4\mu\text{g/mL}$)

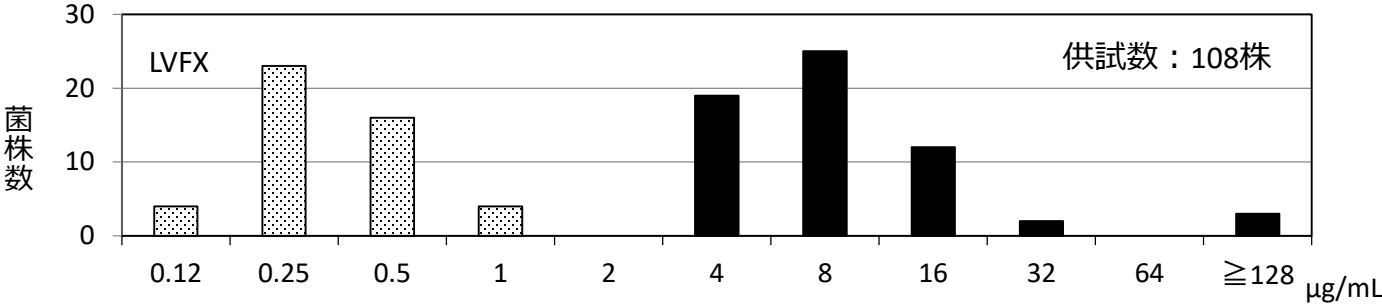


図6. 2018年に東京都で分離された散発患者由来C. coli のLVFXに対するMIC値
(生物学的ブレイクポイント： $\geq 4\mu\text{g/mL}$)

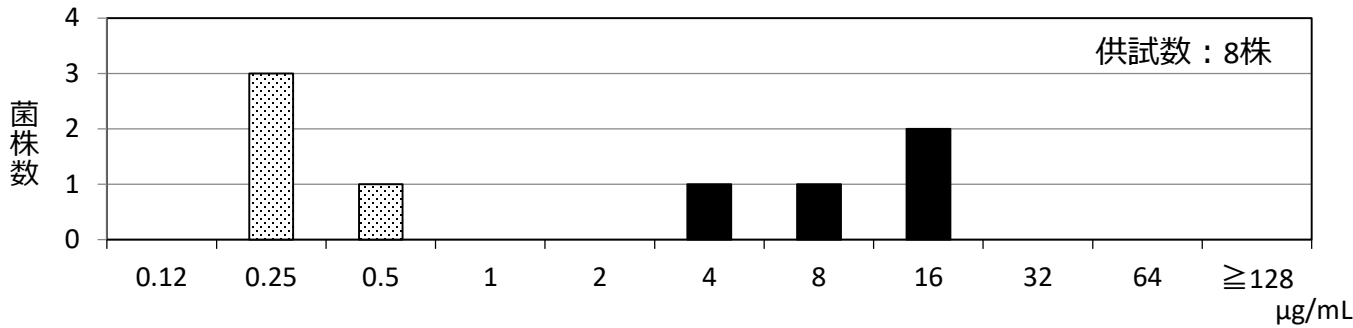


図7. 健康者由来大腸菌の薬剤別耐性菌出現状況 (2020年, 東京都)

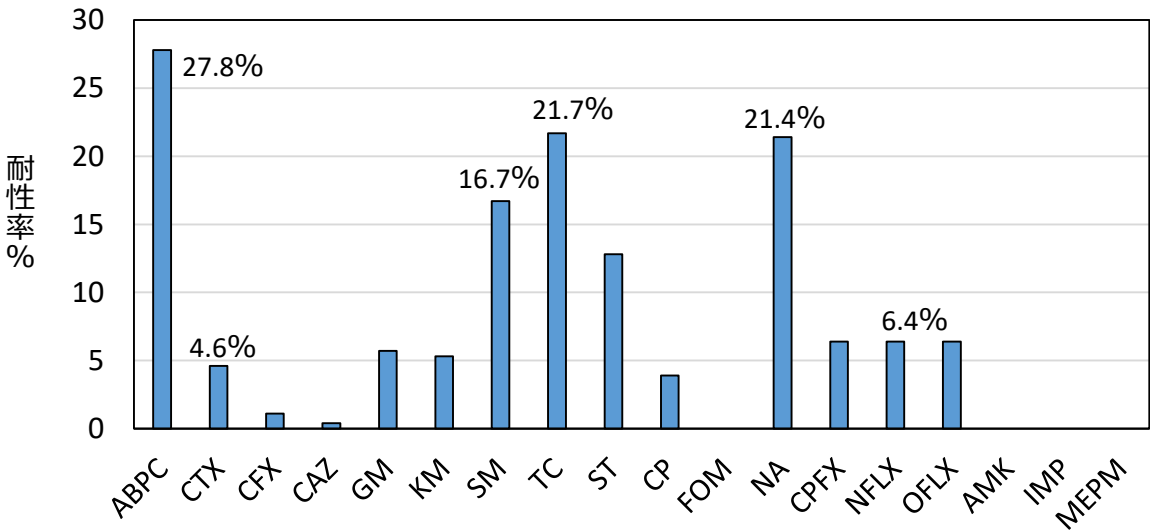


表1. 健康者糞便由来大腸菌のESBL/AmpC産生菌検出状況

年	供試数	CTX耐性数	%	ESBL	AmpC
2020年	281	13	4.6	10*	3**

* CTX-M-1グループ：2株, CTX-M-9グループ：8株

** DHA：2株, CIT：1株

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（2020年）

検体	検体数	大腸菌陽性	%	供試集落数
国産鶏肉	124	115	92.7	198
輸入鶏肉	34	31	91.2	57

図8. 市販鶏肉由来大腸菌の薬剤別感受性試験成績（2020年，東京都）

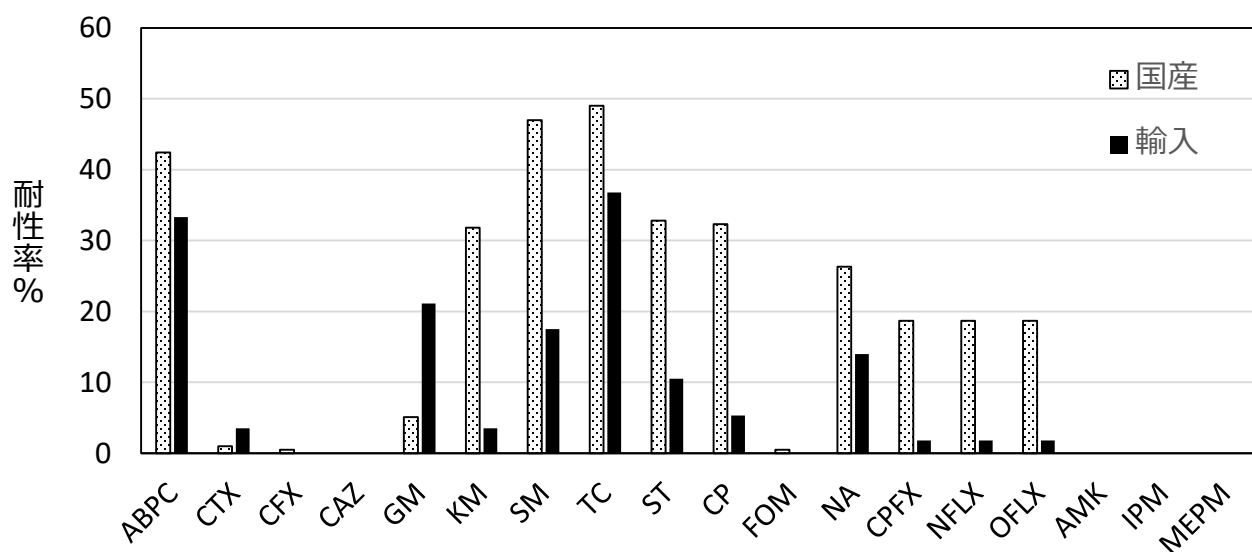


表3. 市販鶏肉由来大腸菌のCTXおよびKM耐性率の年次変化

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
	2020	1.0	31.8
輸入	2011	24.6	26.2
	2015	27.0	27.0
	2018	2.8	8.3
	2019	5.3	7.9
	2020	3.5	3.5

表4. ヒトおよび食品由来サルモネラの上位血清型（2020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	11	20.4	O4	Schwarzengrund	39	47.6
O4	i : -	5	9.3	O7	Infantis	15	18.3
O4	Typhimurium	3	5.6	O4	Agona	6	7.3
O4	Agona	3	5.6	O7	Thompson	4	4.9
O4	Saintpaul	3	5.6	O4	i : -	3	3.7
O7	Infantis	3	5.6	O4	運動性 (-)	3	3.7
O7	Thompson	3	5.6	O8	Manhattan	3	3.7
O7	Braenderup	3	5.6	OUT	r : 1,5	3	3.7
O8	Newport	2	3.7	O4	Typhimurium	2	2.4
O9	Enteritidis	2	3.7	O4	Brandenburg	1	1.2
O4	Brandenburg	1	1.8	O4	Stanley	1	1.2
O4	Chester	1	1.8	O7	Rissen	1	1.2
O4	Stanley	1	1.8	O9	Panama	1	1.2

ヒト由来：54株，26血清型
集団事例は1株を計上

食品由来：82株，13血清型

図9. S. Schwarzengrundの薬剤感受性試験成績（2020年）

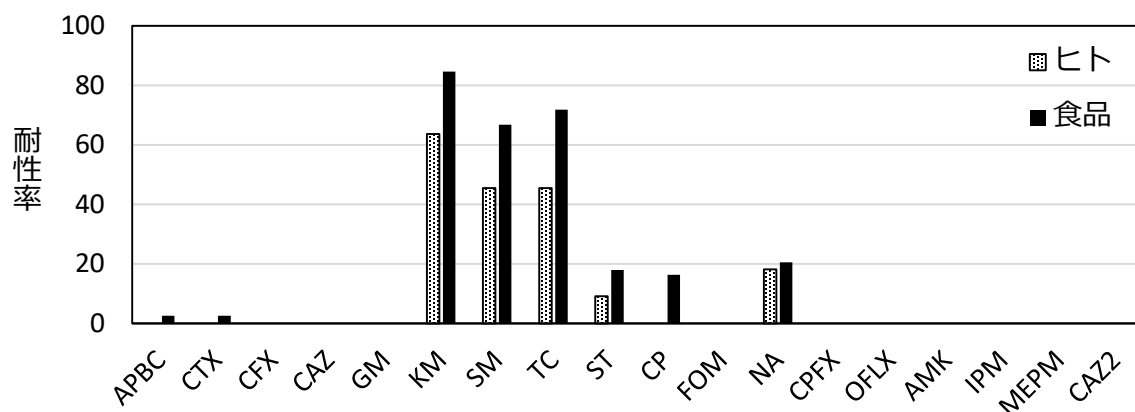


表5. 輸入鶏肉由来サルモネラの血清型と薬剤耐性パターン（2020年）

O群	血清型	分離数	薬剤耐性パターン	産地
O4	Heidelberg	1	ABPC, CTX, CFX, TC, NA	ブラジル
O4	Heidelberg	2	TC, NA	ブラジル
O8	Kentucky	1	ABPC, CP, SM	タイ
O21	Minnesota	1	ABPC, CTX, KM, SM, TC	ブラジル
O21	Minnesota	1	ABPC, CTX, CAZ, CFX, TC, NA	ブラジル

CTX耐性株は全てAmpC型βラクタマーゼ産生株であった

厚生労働科学研究費補助金補助金（食品の安全確保推進研究事業）
分担研究報告書

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：杉山美千代（岐阜大学大学院連合獣医学研究科）

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、肉用鶏の薬剤耐性サルモネラの汚染が種鶏場や孵化場で使用される抗菌剤と関連すること、肉用鶏農場での抗菌薬使用が薬剤耐性プラスミドの分布に関連することを示唆した。食肉処理場での交差汚染は、搬入動物の腸内細菌と関連するが、その程度を評価する場合、同一農場で同居する動物（豚）には同一の遺伝子型の細菌を保有することを考慮する必要がある。生産農場に浸潤する *E. albertii* は豚農場で持続的に汚染すること、家畜関連メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（LA-MRSA、豚）や *mcr* 保有コリスチン耐性大腸菌（鶏）には多様性があることなどを明らかにした。生産段階に分布する薬剤耐性菌は食肉汚染の要因となることから、農場及び食肉を対象に継続的な薬剤耐性モニタリング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制御する上で、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防止する重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きているが、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る。本研究では、食肉処理施設へ搬入（出荷）された家畜が保有する薬剤耐性菌が食肉処

理される各過程で汚染する状況を解明することを目的とする。

1年目には、各段階の薬剤耐性菌汚染は、素畜（ひな）、飼育期間に感染した家畜の食肉処理施設への搬入、食肉処理工程での環境等複数の要因が存在することを示唆した。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。最終年には、枝肉由来腸内細菌科細菌の解析、種鶏場・孵化場・生産農場における抗菌剤の使用と薬剤耐性菌の分布状況の関係、食肉由来薬剤耐性菌のゲノム解析を行った。

B. 研究方法

（1）市販肉の交差汚染経路の解析

2018年度に愛知県内の食肉処理施設において、

「と畜場における枝肉の微生物汚染実態調査」により枝肉等のふき取り材料から分離された大腸菌と *Klebsiella* 等を対象に PFGE 解析を実施した。

さらに、同一農場出荷豚において、同じ PFGE 型の大腸菌が認められたことから、1 豚房で飼育される複数の豚が保有する大腸菌の類似性を検討した。岐阜県内 1 養豚場の同一豚房で飼育する 3 頭の豚から大腸菌を分離し、薬剤感受性と PFGE 解析した。

また、食肉処理場に搬入された豚の糞便由来 *Escherichia albertii* の薬剤感受性と PFGE 解析を行った。

細菌の同定は生化学的性状に基づく API20E または自動同定システム（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。供試薬剤は、アンピシリン、セファゾリン、セフォタキシム、メロペネム、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、トリメトプリム・スルファメトキサゾールの 12 剤を用いた。PFGE は、CDC のパルスネットのプロトコールに準拠して実施した。

（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

前年度までの研究により、肉用鶏群から分離されるサルモネラの薬剤耐性は種鶏場及び孵卵場で細菌感染症予防に使用される抗菌薬の影響にされることが示唆された。今年度は、新たに鶏肉生産者 2 社の協力の下で、肉用鶏群から分離されるサルモネラの薬剤耐性を調査した。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、セフォタキシム、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。

細菌感染症の治療に使用する抗菌薬が明らかな肉養鶏農場で分離した ESBL 産生大腸菌のプラスミドを、次世代シーケンサーを用いて解析し、変異プラスミドの出現状況と抗菌剤使用の影響を検討した。

（３）食肉等から分離された薬剤耐性菌の分子疫学解析

昨年度、と畜場で採材した豚耳から分離した家畜関連黄色ブドウ球菌（LA-MRSA）8 株、岐阜大学で保存していた市販国産鶏肉から分離された *mcr* 保有コリスチン耐性大腸菌 12 株を次世代シーケンサーで解析した。

（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

【大腸菌】2018 年に 5 農場 8 頭の豚枝肉から分離された大腸菌 21 株を PFGE 解析したところ、同一の PFGE パターンが 2 つ認められた（図 1）。一方は、9 月 10 日にと殺された PF8 農場出荷豚 P141 と P142、10 月 1 日にと殺された PF9 農場出荷豚 P120 由来株であった。P142 由来 3 株は、肛門周囲部と胸部から分離され、P141 の胸部、P120 の胸部から分離された株と同一の PFGE パターンであった。もう一方は、9 月 25 日にと殺された PF12 農場出荷豚 P2007 と P2009 由来株で、肛門周囲部で分離された。

図 2 は、P-1 個体のと畜工程で分離された大腸菌 16 株の PFGE 解析を示す。複数の株を含む 2 パターンには、洗浄前後の腹部、洗浄後のモモ、洗浄水で同一株が認められた。

1 養豚場の 1 豚房飼育する豚 3 頭から分離した大腸菌 30 株の PFGE パターンは、11 に分類された。その内、2 パターンは、3 頭に共通に認められた（図 3）。

【*Klebsiella*】2018 年に 3 農場 6 頭の豚枝肉か

ら分離された *K. pneumoniae* 14 株を PFGE 解析したところ、複数の個体から同一の PFGE パターンが認められた（図 4）。8 月 27 日にと殺された PF3 農場出荷豚 P93 と P102、9 月 25 日にと殺された PF12 農場出荷豚 P2001 と P2009、10 月 1 日にと殺された PF9 農場出荷豚 P126 由来株であった。

牛では、1 農場から出荷された牛 2 頭から分離された *K. oxytoca* 10 株では、C2002 から分離された 8 株は、C2004 から分離された 2 株のうち 1 株と同一 PFGE パターンを示した。

【*Enterobacter gergoviae*】豚では、1 農場から出荷された豚 2 頭から分離された 4 株は、すべて異なる PFGE パターンを示した（図 5）。

牛では、1 農場から出荷された牛 2 頭から分離された 4 株では、すべての株が同一のバンドパターンを示した（図 5）。

【*Escherichia albertii*】

食中毒菌として注目される豚由来 *E. albertii* の性状を解析した。2018～2019 年に分離された 20 株と 2020 年に 3 養豚場の追跡調査で得られた 18 株の薬剤に対する感受性は、テトラサイクリン耐性が最も多く認められたが、フルオロキノロンや第 3 世代セファロスポリンに対する耐性は認められなかった。これらの *E. albertii* 株の PFGE 像は、農場ごとにクラスターを形成し（図 6）、養豚場内で継続汚染するが示唆された。

（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

前年度までの研究により、肉用鶏群から分離されるサルモネラ株の薬剤耐性は種鶏場及び孵卵場で細菌感染症予防として使用されている抗菌薬の影響を強く受けている可能性が示唆された。今年度は、この可能性を確認するために、新たに鶏肉生産者 2 社の協力の下で、肉用鶏群から分離されるサルモネラ株の薬剤耐性を調査した。種鶏場でテトラサイクリン（TC）、孵卵場

でカナマイシン（KM）を使用している C 社（九州地方）の 8 鶏群（各 5 羽）の盲腸内容物を食鳥処理場で採取し、7 鶏群（88%）からサルモネラ（すべて *S. Schwarzengrund*）が分離された。TC 及び KM の耐性率はどちらも 85%（6/7）と高率であった（表 1）。一方、自社で種鶏場も孵卵場も所有せず、素ビナを購入している D 社（東海地方）の 7 鶏群では、5 鶏群（71%）からサルモネラ（すべて *S. Schwarzengrund*）が分離された。分離株の TC 耐性率は 100%（5/5）、KM 耐性率は 80%（4/5）であった（表 2）。なお、今回調査した両社の 15 鶏群については、ブロイラー農場において抗菌剤は投与されていなかった。

昨年度、飼育期間中に分離された ESBL（CTX-M-3）産生株由来プラスミドは酷似することを報告したが、*aadA2* と *dfrA12* を保有するクラス 1 インテグロン領域の欠損が認められた ESBL プラスミドは、19 日齢で分離された ESBL 産生エンテロバクター由来であった。調査した農場では、24～26 日齢で ST 合剤を使用されており、ST 耐性に関係する耐性因子を欠損したプラスミドは認められなくなった。

（3）食肉等から分離された薬剤耐性菌の分子疫学解析

昨年度、と畜場で採材した豚耳から分離した LA-MRSA（ST398）8 株は、全て *blaI*、*blaZ*、*ermC*、*tet(38)*、*tet(M)* と *czrC* 陽性であった。7 株が SCCmecIVb で、1 株が SCCmecV だった。SCCmecIVb 7 株のうち、3 株がフロルフェニコール耐性遺伝子（*fexA*）、4 株が消毒薬耐性遺伝子（*qacG*）を保有していた。SCCmecV 1 株は、多剤耐性株で、アミノグリコシド（*ant(6)-Ia*）、トリメトプリム（*dfrG*）、フロルフェニコール（*fexA*）、リンコマイシン（*lnu(B)*、*lsa(E)*）およびテトラサイクリン（*tet(K)*）の耐性遺伝子を保有していた（表 3）。

プラスミド性コリスチン耐性遺伝子（*mcr-1*）保有大腸菌 10 株の MLST 型は多様[ST206(2 株、

以下 1 株)、ST 10、ST2614、ST101、ST1112、ST135、ST5826、UT (6-5-188-8-24-8-6)、ST1196]であった。*mcr-1* は、IncI2 プラスミド上に存在し、サブタイプは 9 株が *mcr1.1* で 1 株が *mcr1.12* であった。その他、アミノグリコシド耐性遺伝子 [*aadA5*(1 株), *aph(3'')-Ib*(4 株), *aph(6)-Id*(4 株), *aph(3')-Ia*(2 株)]、テトラサイクリン耐性遺伝子 [*tet(A)*、*tet(B)* 3 株づつ]などの他、プラスミド性キノロン耐性遺伝子 (*qnrS13*) を保有する 1 株が認められた (表 4)。

D. 考察

(1) 市販肉の交差汚染経路の解析

今年度の研究で、複数の枝肉から同一の PFGE 型の大腸菌や *Klebsiella* が分離され、交差汚染が示唆された。また、食肉処理段階で汚染した細菌は水洗前後においても同一の PFGE 型で、汚染が継続することが示唆された。しかし、同一農場から出荷される豚は個体間で同一の PFGE パターンの大腸菌を保有することも明らかとなった。今回、比較的安価で各検査機関で実施可能な PFGE 型と薬剤感受性型を疫学マーカーとして利用したが、同一農場の出荷動物については、本研究方法では交差汚染を特定することはできないと考えられた。

一方、豚の大腸菌の解析で、別日にと畜された別畜主の個体から、同一の PFGE 型の株が分離され、また、*K. pneumoniae* で認められた共通の PFGE 型株は、出荷農場が異なり、出荷時期 (8, 9, 10 月) も長期間にわたっていた。食肉処理施設の環境汚染に起因するのさらなる調査が必要である。

これらから、流通前の枝肉は腸内細菌で汚染し、食肉処理段階で交差汚染を引き起こすことが示唆された。また、食肉処理工程の水洗・トリミング等の工程で汚染細菌を除去することは困難であると考えられた。

2018~2019 年に分離された *E. albertii* 20 株と 2020 年に 3 養豚場の追跡調査で得られた 18 株

の PFGE 解析により、*E. albertii* は農場ごとのクラスター形成したことから、養豚場内で継続汚染することが示唆された。*E. albertii* は、食中毒菌として注目される菌種ではあるが、疫学的に不明な部分が多い。養豚場の汚染率が 45% (10/22)、出荷豚の保菌率が 16%(20/124)で、比較的浸潤していることがうかがわれる。

(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

平成 30 年度に調査した A 社の孵卵場では、C 社が使用していた KM ではなく、SM を使用しており、C 社由来のサルモネラ株 (*S. Manhattan* 及び *S. Schwarzengrund*) には KM 耐性は認められていなかったことから、C 社由来株の高率な KM 耐性は孵卵場における KM 使用が原因と推定された。KM については、2012 年 3 月の孵卵場におけるセフチオフルの使用中止以降、販売量が増加している。また、D 社は、数社の素ビナ生産者から素ビナを購入していたことから、素ビナ生産者は種鶏場で TC、孵卵場で KM を使用している可能性が高いと推定された。以上のことから、ブロイラー鶏群由来サルモネラの薬剤耐性は、ブロイラー農場における抗菌薬使用ではなく、種鶏場及び孵卵場において感染予防目的で使用される抗菌薬の影響を受けていると考えられた。なお、人のコロナウイルス感染症及び鶏の高病原性鳥インフルエンザ感染症の影響で当初協力予定であった鶏肉生産者 3 社の肉用鶏群からのサンプリングが中止された。

一方、飼育期間中の抗菌剤使用が、薬剤耐性菌の選択圧として作用することは知られている。昨年度、飼育期間中に大腸菌を含む腸内細菌科細菌の間で、ESBL (CTX-M-3) プラスミドが伝播することを報告したが、19 日齢で分離された ESBL 産生エンテロバクター由来 ESBL プラスミドにおいて、ストレプトマイシン耐性 (*aadA2*) とトリメトプリム耐性 (*dfrA12*) 遺伝子を保有す

るクラス 1 インテグロン領域の欠損が認められ、飼育期間中に 2 薬剤に感受性を回復した株が出現した。しかし、調査農場では、24~26 日齢で ST 合剤を使用されたことによって、それ以降にトリメトプリム耐性を消失したプラスミドが選択されなかったことが示唆された。

(3) 食肉等から分離された薬剤耐性菌の分子疫学解析

これまでの本課題の調査で、国内の MRSA ST398 では SCCmecIVa と SCCmecV が確認され、*czrC* (カドミウム・亜鉛耐性遺伝子) 保有株は全て SCCmecV であった。しかし、今回 *czrC* を保有する SCCmecIVb が確認され、国内の豚に多様な LA-MRSA が浸潤していることが明らかとなった。また、国内で報告のなかったフロルフェニコール耐性遺伝子 (*fexA*) やリンコマイシン耐性遺伝子 (*lnu(B)*, *lsa(E)*) などの存在も明らかとなった。LA-MRSA の分離率は、農場調査に比べ、と畜場段階で実施した方が高い傾向がある。現在までに、東北~関東の出荷豚の調査を行ったが、中部から九州における調査は未実施である。今後、国内の豚における MRSA の分布実態を明らかにするため、全国調査の実施が望まれる。

プラスミド性コリスチン耐性遺伝子 (*mcr-1*) 保有大腸菌を解析した結果、*mcr-1* サブタイプは *mcr1.1* と *mcr1.12* で、IncI2 プラスミド上に存在していたが、10 株の MLST 型は多様であった。これらのことから、鶏肉を汚染するコリスチン耐性大腸菌は多様で、国産肉用鶏の大腸菌間でプラスミド伝播を伴いながら分布していることが示唆された。また、薬剤耐性の保有状況も株間で異なっていた。アミノグリコシド耐性遺伝子、テトラサイクリン耐性遺伝子、プラスミド性キノロン耐性遺伝子を保有する株も認められ、多剤耐性菌への伝播は抗菌剤治療の選択肢を減少させる原因になるため、継続的な監視が必要である。

近年、豚熱 (豚コレラ) や鶏インフルエンザなどの家畜伝染病の防疫のため、農場採材を継続できなくなることがあり、と畜場段階で採材する方が容易な場合もある。しかし、と畜場搬入された家畜における抗菌剤の使用状況を把握することは、管轄の違いにより困難である。今後、家畜保健衛生所や食肉衛生検査所の協力の下で持続性のあるサーベイランス/モニタリングの耐性を構築する必要がある。

E. 結論

薬剤耐性菌による食品の汚染では、生産段階に分布する薬剤耐性菌がと畜場での食肉処理段階で残存することに起因する。肉用鶏では生産段階での薬剤耐性菌の分布に、種鶏場や孵化場での抗菌剤の使用が関連する。

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

- ① 佐々木貴正・百瀬愛佳・朝倉 宏・浅井鉄夫
孵化場におけるセフトオフル使用中止後のブロイラー鶏群由来および鶏肉由来サルモネラの薬剤耐性 鶏病研報 56(2), 47-52, 2020.
- ② Sasaki Y, Asai T, Haruna M, Sekizuka T, Kuroda M, Yamada Y. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from pigs in Japan. Jpn. J. Vet. Res. 68(3): 197-202, 2020.
- ③ Sasaki Y, Yamanaka M, Nara K, Tanaka S, Uema M, Asai T, Tamura Y. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from pigs at abattoirs in Tohoku region, Japan. J Vet Med Sci. 82(9):1400-1403, 2020.
- ④ Yossapol M, Suzuki K, Odoi JO, Sugiyama M, Usui M, Asai T. Persistence of extended-

spectrum β -lactamase plasmids among Enterobacteriaceae in commercial broiler farms. Microbiol Immunol. 64(10):712-718, 2020.

- ⑤ Sasaki Y, Sakurada H, Yamanaka M, Nara K, Tanaka S, Uema M, Ishii Y, Tamura Y, Asai T. Effectiveness of ear skin swabs for monitoring methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in pigs at abattoirs. J Vet Med Sci. 83(1):112-115, 2021.

- ⑥ 佐々木貴正・浅井鉄夫 国内養豚場の家畜関連メチシリン耐性黄色ブドウ球菌浸潤状況 All about Swine 57-58:37-44, 2021.

2. 学会発表

浅井鉄夫 家畜・食肉・ヒトにおけるコリスチン耐性菌の分離状況（第94回日本感染症学会総会、2020年8月21日、東京）

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

図1 豚枝肉由来大腸菌のPFGE解析



図2 と体の洗浄前後に分離した大腸菌のPFGE解析



図3 農場糞便由来大腸菌のPFGE解析

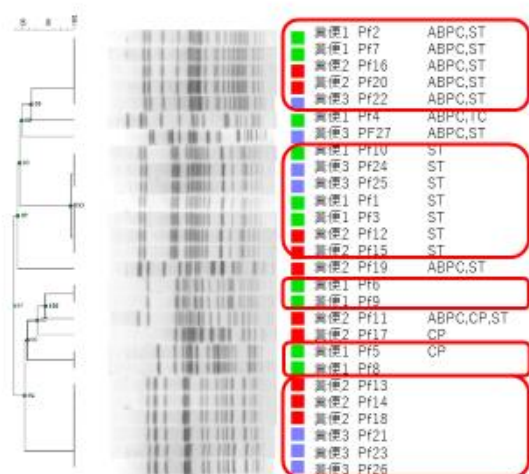


図4 枝肉由来*Klebsiella pneumoniae*のPFGE解析

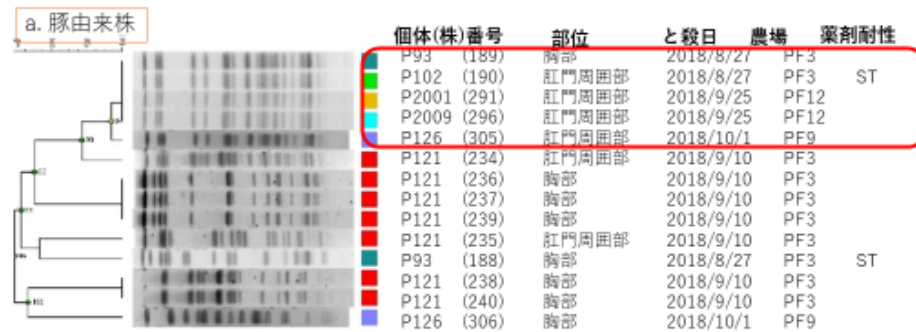


図5 枝肉由来*Enterobacter gergoviae*のPFGE解析



図6 2018～2019年にと場で分離された*E. albertii*

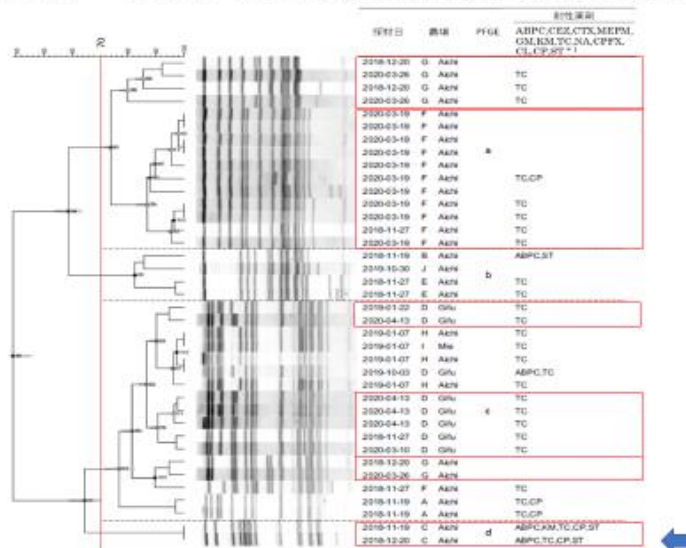


表 1 C 社の 8 鶏群に分布するサルモネラの血清型及び薬剤感受性

調査回	採取年月日	陽性羽数 (5 羽中)	分離株の血清型及び耐性パターン
1	2020/8/4	1	Schwarzengrund (KM, TMP)
2	2020/8/14	0	
3	2020/8/25	5	Schwarzengrund (SM, KM, TC, TMP)
4	2020/9/1	3	Schwarzengrund (SM, KM, TC, TMP)
5	2020/9/15	1	Schwarzengrund (SM, KM, TC, TMP)
6	2020/9/28	3	Schwarzengrund (SM, KM, TC, NA, TMP)
7	2020/10/6	4	Schwarzengrund (SM, KM, TC)
8	2020/10/20	4	Schwarzengrund (SM, KM, TC, TMP)

表 2 D 社の 7 鶏群に分布するサルモネラの血清型及び薬剤感受性

調査回	採取年月日	陽性羽数 (5 羽中)	分離株の血清型及び耐性パターン
1	2020/9/15	3	Schwarzengrund (SM, KM, TC, TMP)
2	2020/9/22	1	Schwarzengrund (SM, KM, TC, TMP)
3	2020/9/29	4	Schwarzengrund (SM, KM, TC)
4	2020/10/13	3	Schwarzengrund (SM, KM, TC, TMP)
5	2020/10/20	3	Schwarzengrund (SM, TC, TMP)
6	2020/10/26	0	
7	2020/11/23	0	

表 3 豚耳から分離した ST398/t034 MRSA における耐性遺伝子の分布

株	県	SCCmec	czrC	耐性型	耐性遺伝子型	
a-1	A	IVb	+	ABPC, CEZ, TC, EM	<i>mecA,blaI,blaZ,erm(C),tet(38),tet(M)</i>	<i>blaR1,</i>
a-2	A	IVb	+	ABPC, CEZ, TC, CP, EM	<i>mecA,blaI,blaZ,erm(C),tet(38),tet(M)</i>	<i>blaR1,fexA,str,</i>
f-1	B	IVb	+	ABPC, TC, EM	<i>mecA,blaI,blaZ,erm(C),tet(38),tet(M)</i>	<i>blaR1,str,</i>
g-1	C	IVb	+	ABPC, CEZ, TC, EM	<i>mecA,blaI,blaZ,erm(C),tet(38),tet(M)</i>	<i>blaR1,qacG,</i>
h-1	D	IVb	+	ABPC, TC, EM	<i>mecA,blaI,blaZ,erm(C),tet(38),tet(M)</i>	<i>blaR1,qacG,</i>
j-1	A	V	+	ABPC, TC, CP, EM, TMP	<i>mecA,blaI,blaZ,erm(C),tet(38),tet(M)</i>	<i>blaR1,fexA,ant(6)-Ia,dfrG,lnu(B),lsa(E),spw,tet(K)</i>
l-1	A	IVb	+	ABPC, TC, CP, EM	<i>mecA,blaI,blaZ,erm(C),tet(38),tet(M)</i>	<i>blaR1,fexA,qacG,str,</i>
m-1	E	IVb	+	ABPC, TC, CP, EM	<i>mecA,blaI,blaZ,erm(C),tet(38),tet(M)</i>	<i>fexA,qacG,</i>

表 4 鶏肉から分離された *mcr* 保有コリスチン耐性大腸菌

Strain No.	Serotype	MLST	<i>mcr</i> gene	Resistance genes against						
			subtype	Aminoglycoside	β -lactam	Phenicol	Trimethoprim	quinolone	Sulfa	Tetracycline
<u>CL-266</u>	O13/O135:H48	ST 10	<i>mcr</i> -1.1							
<u>CL-276</u>	H34	ST2614	<i>mcr</i> -1.1	<i>aadA5</i> , <i>aph</i> (3'')-Ib, <i>aph</i> (6)-Id			<i>dfrA17</i>	<i>gyrA</i> (S83L)	<i>sul2</i>	<i>tet</i> (B)
<u>CL-304</u>	H31	ST101	<i>mcr</i> -1.1	<i>aph</i> (3'')-Ib, <i>aph</i> (3')-Ia, <i>aph</i> (6)-Id	<i>bla</i> _{TEM-1B}	<i>catA1</i>	<i>dfrA1</i>	<i>gyrA</i> (S83L)	<i>sul1</i> , <i>sul2</i>	<i>tet</i> (B)
<u>CL-21</u>	H27	ST1112	<i>mcr</i> -1.12	<i>aph</i> (3'')-Ib, <i>aph</i> (3')-Ia, <i>aph</i> (6)-Id				<i>gyrA</i> (S83L)		<i>tet</i> (B)
<u>CL-25</u>	O91:H28	ST135	<i>mcr</i> -1.1	<i>aph</i> (3'')-Ib, <i>aph</i> (6)-Id						<i>tet</i> (A)
<u>CL-480</u>	O81:H7	ST5826	<i>mcr</i> -1.1		<i>bla</i> _{TEM-1B}		<i>dfrA1</i>	<i>gyrA</i> (S83L)	<i>sul1</i>	<i>tet</i> (A)
<u>CL-230</u>	H52	novel	<i>mcr</i> -1.1					<i>qnrS13</i>	<i>sul2</i>	<i>tet</i> (A)
<u>CL-184</u>	O91:H28	ST1196	<i>mcr</i> -1.1		<i>bla</i> _{TEM-1B}			<i>gyrA</i> (S83L, D87N)		<i>tet</i> (A)
<u>CL-859</u>	H5	ST206	<i>mcr</i> -1.1		<i>bla</i> _{TEM-1}					
<u>CL-933</u>	H5	ST206	<i>mcr</i> -1.1		<i>bla</i> _{TEM-1}					

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2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（鶏肉）検体を調査し、検出・分離された耐性菌の解析を行った。2019 年度（2020 年 2～3 月）に収集した国内産鶏肉 71 検体、国外産（輸入）鶏肉 132 検体の合計 203 検体を調査した。ESBL 産生菌は 66 検体陽性（32.5%）、AmpC 産生菌は検体陽性（9.4%）であり、それらの分離頻度は過去 2 年間と比較し、同程度であった（昨年度と一昨年度は ESBL 産生菌 24.2%と 39.8%、AmpC 産生菌 5.8%と 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 39.4%、輸入 28.8%）、これまでと同様の傾向であった（昨年度と一昨年度は国内産 36.0%と 52.0%、輸入 11.1%と 25.6%）。AmpC 産生菌の検出率は国内産が 4.2%、輸入食肉が 12.1%と過去 2 年間と異なり国内産鶏肉の方が低かった（昨年度と一昨年度は国内産が 11.0%と 23.0%、輸入食肉が 0%と 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 型と SHV 型が多く、輸入肉では CTX-M 型が多かった。CTX-M 型遺伝子として国内産では主に M1 型グループであり（約 2/3）、CTX-M1 が最も多く分離された（41 株中 17 株；41.5%）。輸入食肉では CTX-M2 型が多く分離された。AmpC 型遺伝子としては国内外共に CIT 型（CMY-2）を含め複数の遺伝子型が検出された。これら食肉から分離された多剤耐性腸内細菌科細菌 51 株中の 36 株（71.6%）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 7 株検出された。今年度の調査では食肉検体からはカルバペネム耐性やプラスミド性コリスチン耐性の腸内細菌科細菌は検出されなかった。一方、食肉由来腸球菌については、輸入食肉 3 検体から低度耐性 VRE が検出されたが耐性遺伝子型は不明であった。リネゾリド耐性腸球菌の調査では、国内産鶏肉 41 検体（57.7%）と輸入鶏肉 5 検体（3.8%）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。PFGE 解析の結果から、今回分離されたリネゾリド耐性株は同一の起源を持つ株が地域で拡散している可能性が示唆された。

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) ESB�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液体培地で一夜培養し、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-8*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、0.1 mlをVCM 4 mg/L加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。選択用寒天平板の培養時間はすべて37℃、48時間培養した。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。

4) リネゾリド (LZD) 耐性腸球菌の検出

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；リネゾリド (LZD)

腸球菌の分離；LZD耐性菌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、LZD 1.5 mg/L加Enterococcosel Brothで48時間選択的増菌後、0.1 mlをLZD 1.5 mg/L加Enterococcosel agar選択培地に塗布し、得られたコロニーをLZD 1.5 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。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。LZD耐性腸球菌のプラスミド性（伝達性）耐性遺伝子の検出、および菌種の確認には*cfr*, *optrA*, *poxA*, *fexA*, *fexB*, 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 2019 年度(2020 年 2 月～3 月)に収集した国内産鶏肉 71 検体、輸入鶏肉 132 検体の合計 203 検体を解析した(表 1～表 17、図 1)。

ESBL 産生菌は 66 検体陽性(32.5%)、AmpC 産生菌は 19 検体陽性(9.6%)であり、それらの分離頻度は、昨年度よりも高いが、一昨年度より低いものであった(昨年度は ESBL 産生菌 24.2%、AmpC 産生菌 5.8%、一昨年度は 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やや高い頻度で検出され(国内産 39.4%、輸入 28.8%)、これまで同様の傾向であった(昨年度は国内産 36.0%、輸入 11.1%、一昨年度は国内産 52.0%、輸入 25.6%)。一方、AmpC 産生菌の検出率は国内産が 4.2%、輸入食肉が 12.1%と昨年度までとは異なり国内産鶏肉の方が高かった(昨年度は国内産 11.0%、輸入食肉が 0%、一昨年度は国内産が 23.0%、輸入食肉が 3.5%)。耐性菌の産地別の分離頻度は異なっており、特に輸入鶏肉ではその差は著しく、ブラジル産がいずれも高い頻度であった(表 2～5、表 9、表 10)。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(93%)と SHV 型(32%)が多く、輸入肉では CTX-M 型(58%)が多かった(表 6、表 11、表 12)。CTX-M 型遺伝子として国内産では主に M1 型グループであり(約 2/5)、CTX-M1 が最も多く分離された。輸入食肉では CTX-M2 型が最も多く分離された。AmpC 型遺伝子としては国内外共に CIT 型(CMY-2)を含む複数の耐性遺伝子型が検出された(表 7、表 13)。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 産生株がブラジル産鶏肉 3 検体から検出された(表 6)。

ESBL 産生および AmpC 産生の輸入鶏肉由来株(合計 51 株)および国内産鶏肉由来株(合計 42 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、輸入鶏肉由来 6 株(11.5%)および国内産鶏肉由来 26 株(61.9%)については CTX 耐性が伝達し、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、輸入鶏肉由来株では、IncI1 型 3 株、IncK 型 2 株、IncA/C 型 1 株、IncN 型 1 株であった。また国内産鶏肉由来株では IncI1 型 14 株、IncFIB 型 4 株、IncN 型 2 株、IncK 型 1 株、IncA/C 型 1 株であった。

ESBL 産生株、AmpC 産生株(国内 51 株、国外 42 株、合計 93 株)の菌種としては *Escherichia coli* が最多であり(77 株 83%)、国内産から *Pantoea agglomerans* が 1 株、国外産(輸入)から *Serratia fonticola* が 7 株分離された(表 8、表 14)。昨年度と一昨年度に ESBL 産生菌として、染色体性

に *fonA* 遺伝子を保持する *Serratia fonticola* がタイ産、ブラジル産、米国产鶏肉から検出されたが、今年度も同種菌がブラジル産鶏肉から 7 株が検出された(表 15)。これらの耐性遺伝子の塩基配列の決定と系統樹解析から、今回分離された 7 株を含む食肉由来の株が保有する *fonA* 遺伝子は互いに近縁であることが明らかとなった(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

昨年度は *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が、今年度の食肉検体からはプラスミド性コリスチン耐性 *mcr* 遺伝子は検出されなかった。

3) VRE の検出(表 2、表 3)

VRE について、今年度はブラジル産鶏肉 2 検体およびタイ産鶏肉 1 検体から低度耐性 VRE 株(バンコマイシンの MIC 値; 4-8 mg/L)が検出された(表 2、表 3)。Multiplex PCR 法による耐性遺伝子型の解析では、これら VRE 株の耐性型は不明であった。

4) リネゾリド(LZD)耐性腸球菌の検出(表 12、表 3、表 16、図 2)

今年度も昨年度と同様に食肉検体から 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 41 検体(群馬 39 検体、鹿児島 2 検体)と輸入鶏肉 5 検体(ブラジル 2 検体、タイ 2 検体、トルコ 2 検体)から LZD 低度耐性株(MIC: 4-8 mg/L)が検出された(表 12、表 3、表 16、図 2)。昨年度と同様に陽性検体は主に国内産(群馬)の鶏肉検体からであり、41 検体中 39 検体(95%)から LZD 低度耐性 *E. faecalis* (*optrA*⁺, *fexA*⁺) 株が検出された。産地鹿児島からの 2 検体からも *E. faecalis* 株が検出されたが、耐性遺伝子は不明であった。またブラジル産、タイ産、およびトルコ産鶏肉検体から耐性株が検出され、タイ産 1 検体からの株を除き、全て *E. faecalis* (*optrA*⁺, *fexA*⁺) であった。図 2 に代表的な耐性株の PFGE 解析と薬剤感受性結果を示すが、群馬産由来株はパターンが同一、あるいは極めて類似していることから、起源が同一の *E. faecalis* (*optrA*⁺, *fexA*⁺) 株がこの地域に拡散している可能性が示された(図 2)。

D. 考察

ESBL/AmpC 産生株の調査においては、4 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)した後、耐性菌の検出率は良好であると考えられる。この増菌処理により、少量の耐性菌の検出も可能となる定性的な検出方法は、他の定量的な検出方法、いわゆる増菌や薬剤による選択的培養操作を

行わない調査結果とは、分離（検出）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は異なり、今年度はESBL産生菌が国内産および輸入鶏肉のいずれからも多く分離された（30～40%）。一方で、AmpC産生菌の分離頻度は比較的低かった（国外12%、国内4%）。今年度は、輸入鶏肉におけるブラジル産の検体数が高く、他の国からの検体が少なかったことも、分離頻度に影響していることが考えられる。これまでの調査ではブラジル産の鶏肉検体からは比較的多くの耐性菌が分離される傾向を認めている。また本年度は、国内産鶏肉検体は2つの地域からの収集のみであったが、その国内地域でのESBL産生菌およびAmpC産生菌の分離頻度に大きな差は認めなかった。

今年度もESBL産生菌として、染色体性に *fonA* 遺伝子を保持する *Serratia fonticola* がブラジル産鶏肉から7株が検出された。過去2年間の調査においても毎年、輸入鶏肉（タイ産、ブラジル産、米国産）から *fonA* を保持する同菌種が検出されたことから、近年、国外の養鶏環境中に *Serratia fonticola* が拡散していることが示唆された。

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。しかし、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*) を保持する耐性菌は検出されなかった。今後の動向調査が必要ではあるが、世界各国での家畜環境でのコリスチン使用禁止によって、環境中でのコリスチン耐性菌の拡散、選択的増加が抑えられていることが推察される。

食肉由来 VRE について、これまでの調査では国内産鶏肉検体から VanN 型 VRE (*E. faecium*) が検出されていたが、今年度の調査では検出されなかった。またブラジル産鶏肉から VanA 型 VRE 株がしばしば分離されていたが、今年度の検体からは検出されなかった。しかし、一部の輸入鶏肉（ブラジル産、タイ産）から低度耐性 VRE 株が検出された。これらの低度耐性株では既知の耐性遺伝子は検出されず、耐性遺伝子は不明であった。

昨年度からの調査で、新たにリネゾリド耐性腸球菌の検出とその解析を行っている。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

(*poxtA*, *optrA*, *fexA*, *fexB*) の伝播と拡散が危惧されている。

昨年同様に今回の調査では *cfr* 遺伝子陽性の高度耐性株は検出されなかったが、LZD 低度耐性腸球菌が国内外の鶏肉検体から分離された。輸入鶏肉からの分離頻度は低かったが、国内群馬地域の検体の95%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。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* が多く分離された（表16、図2）。この事象は昨年度と同様であり、群馬地域の養鶏環境中に同一クローン株が拡散している、あるいはこの地域での食肉処理過程での何らかの共通する汚染等が考えられた。昨年度の群馬県の検体採取担当者への確認では、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、検体の汚染は考えにくく、地域環境中での耐性菌の拡散が強く示唆された。今後も継続的な調査による動向把握、また交差汚染に留意した検体収集が必要と考える。

E. 結論

食肉由来多剤耐性菌として、国内外の鶏肉検体の約4割からESBL産生の腸内細菌科菌、また1割からAmpC産生の腸内細菌科菌が検出され、いずれも主に大腸菌であった。ESBL産生菌として国外の鶏肉検体から *Serratia fonticola* が検出された。また国内外の鶏肉検体からリネゾリド低度耐性腸球菌が検出された。

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) Tanimoto K, Nomura T, Hashimoto Y, Hirakawa H, Watanabe H, Tomita H. Isolation of *Serratia fonticola* producing FONA, a minor extended-spectrum β -lactamase (ESBL), from imported chicken meat in Japan. Jpn J Infect Dis. 74(1):79-81 (2021).
- 2) Hashimoto Y, Kita I, Suzuki M, Hirakawa H, Ohtaki H, Tomita H. First report of the local spread of vancomycin-resistant enterococci ascribed to the interspecies transmission of a *vanA* gene cluster-carrying linear plasmid. mSphere. 5(2): e00102-20 (2020)

・

2. 学会発表

- 1) 1. 谷本弘一、野村隆浩、橋本佑輔、平川秀忠、富田治芳．鶏肉からの *Serratia fonticola* の分離と minor ESBL である FONA の解析．第 49 回薬剤耐性菌研究会、(埼玉県熊谷 2020 年 11 月 13 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 | なし |

表1. 2020年収集検体

海外産鶏肉（ミンチ肉）

	ブラジル	米国	タイ	トルコ	カナダ	フランス	合計
検体数	103	13	12	2	1	1	132

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	0	41	71

表2. 2020年収集輸入鶏肉からの多剤耐性菌分離状況
(陽性検体数)

産地	検体数	腸内細菌科細菌(大腸菌、その他)				腸球菌	
		ESBL	AmpC	コリスチン 耐性	CRE	VRE	LZD耐性
ブラジル	103	37 (35.9%)	15 (14.6%)	0	0	2* (1.9%)	2** (1.9%)
米国	13	0	1 (7.7%)	0	0	0	0
タイ	12	1 (8.3%)	0	0	0	1* (8.3%)	2** (16.7%)
トルコ	2	0	0	0	0	0	1** (50%)
カナダ	1	0	0	0	0	0	0
フランス	1	0	0	0	0	0	0
計	132	38 (28.8%)	16 (12.1%)	0	0	3* (2.3%)	5** (3.8%)

ESBL/AmpC; 第三世代セファロスポリン系抗菌薬分解酵素(産生の多剤耐性菌)

CRE; カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(いわゆる治療困難となる悪夢の耐性菌)

VRE; バンコマイシン耐性腸球菌、*低度耐性株(MIC: 4-8mg/L)

LZD; リネゾリド(VREおよびMRSAの治療薬)、**低度耐性株(MIC: 4-16mg/L)

表3. 2020年収集国産鶏肉からの多剤耐性菌分離状況
(陽性検体数)

産地	検体数	腸内細菌科細菌(大腸菌、その他)				腸球菌	
		ESBL	AmpC	コリスチン 耐性	CRE	VRE	LZD耐性
鹿児島	30	13 (43.3%)	1 (3.3%)	0	0	0	2* (6.7%)
群馬県	41	15 (36.6%)	2 (4.9%)	0	0	0	39* (95.1%)
計	71	28 (39.4%)	3 (4.2%)	0	0	0	41* (57.7%)

ESBL/AmpC; 第三世代セファロスポリン系抗菌薬分解酵素(産生の多剤耐性菌)
 CRE; カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(いわゆる治療困難となる悪夢の耐性菌)
 VRE; バンコマイシン耐性腸球菌
 LZD; リネゾリド(VREおよびMRSAの治療薬)、*低度耐性株(MIC: 4-8mg/L)

表4. ESBL/AmpC産生腸内細菌科細菌

輸入鶏肉132検体：陽性検体数

耐性遺伝子	耐性菌陽性検体数
ESBL*	38 (28.8%)
AmpC	16 (12.1%)
ESBL or AmpC	46 (34.8%)

* 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5. 輸入鶏肉：陽性検体数

ブラジル（103検体）	耐性菌陽性検体数
-------------	----------

ESBL	37 (35.9 %)
------	-------------

AmpC	15 (14.6 %)
------	-------------

タイ（12検体）	耐性菌陽性検体数
----------	----------

ESBL	1 (8.3 %)
------	-----------

AmpC	0
------	---

アメリカ（13検体）	耐性菌陽性検体数
------------	----------

ESBL	0
------	---

AmpC	1 (7.7 %)
------	-----------

表6. 輸入鶏肉: ESBL型別検体数

ESBL (38)	検体数	CTX-M	検体数
CTX-M	22 (57.9 %)	CTX-M-15	Gp1 2
TEM	3 (7.9 %)	CTX-M-55	Gp1 5
SHV	1 (2.6 %)	CTX-M-2	Gp2 12*
FONA	7 (18.4 %)	CTX-M-8	Gp8/25 3
Non-typable	6 (15.8 %)		

*この場合、株数は13 これ以外では検体数と株数と同じ

表7. 輸入鶏肉：AmpC型別検体数

AmpC (16)	検体数
CIT (CMY-2)	8 (50.0 %)*
EBC	3 (18.8 %)
FOX	3 (18.8 %)
DHA	1 (6.3 %)
Non-typable	1 (6.3 %)

*この場合、株数は10 これ以外では検体数と株数と同じ

表8. 輸入雞肉：ESBL/AmpC產生菌菌種

菌種(51株)	株数
<i>E. coli</i>	36 (71.6 %)
<i>Serratia fonticola</i>	7 (13.7 %)
<i>Enterobacter spp</i>	2 (3.9 %)
<i>Proteus spp</i>	2
<i>Rahnella spp</i>	2
<i>Citrobacter freundii</i>	1 (2.0 %)
<i>Pantoea agglomerans</i>	1

表9. 国産鶏肉：陽性検体数

地域(検体数)	耐性菌陽性検体数
鹿児島(30)	13 (43.3 %)
群馬 (41)	16 (39.0 %)
合計 (71)	29 (40.8 %)

表10. 国産鶏肉：陽性検体数

鹿児島(30)	耐性菌陽性検体数
---------	----------

ESBL	13 (43.3 %)
------	-------------

AmpC	1 (3.3 %)
------	-----------

群馬(41)	耐性菌陽性検体数
--------	----------

ESBL	15 (36.6 %)
------	-------------

AmpC	2 (4.9 %)
------	-----------

合計(71)	耐性菌陽性検体数
--------	----------

ESBL	28 (39.4 %)
------	-------------

AmpC	3 (4.2 %)
------	-----------

表11. 国産鶏肉:ESBL遺伝子(検体数)

ESBL (28)	鹿児島	群馬**	計
CTX-M-1	0	12	12 (42.9 %)
CTX-M-2	7	2	9 (32.1 %)
CTX-M-8	0	5	5 (17.9 %)
TEM	1	0	1 (3.6 %)
SHV*	5	4 (SHV-12)	9 (32.1 %)

*鹿児島ではSHVは単独で、群馬ではTEM-1との共存が殆ど

**群馬由来検体からは異なるESBLを産生する株が複数分離される

表12. 国産鶏肉：ESBL遺伝子（株数）

ESBL (41*)	鹿児島	群馬	計
CTX-M-1	0	17*	17* (41.5 %)
CTX-M-2	7	2	9 (22.0 %)
CTX-M-8	0	5	5 (12.2 %)
TEM	1	0	1 (2.4 %)
SHV	5	4 (SHV-12)	9 (22.0 %)

*検体数との違いはこの部分のみ

表13. 国産鶏肉：AmpC遺伝子（検体数*）

AmpC (3)	鹿児島	群馬	計
CIT(CMY-2)	1	0	1 (33.3 %)
FOX	0	1	1 (33.3 %)
MOX	0	1	1 (33.3 %)

*株数も同じ

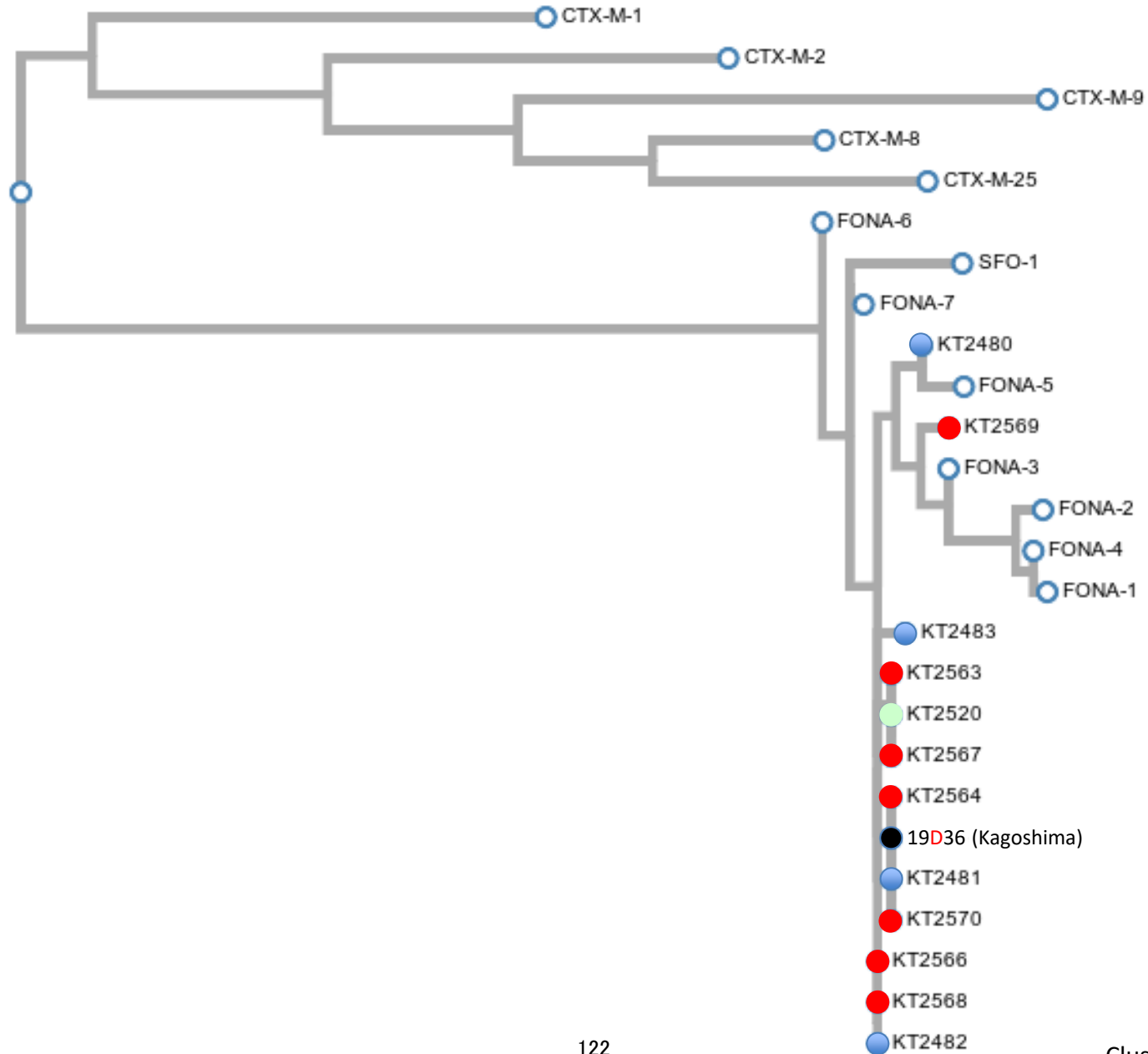
表14. 国産鶏肉:ESBL/AmpC産生菌菌種

菌種	株数
<i>E. coli</i>	41 (97.6 %)
<i>Pantoea agglomerans</i>	1 (2.4 %)
計	42

表15. *S. fonticola*の薬剤感受性

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
2563	2020	ブラジル	横浜	128<	≤1	1	64	1	0.25	≤0.25	≤0.25	0.5	0.5	0.5	4	≤0.25
2564	2020	ブラジル	横浜	128<	8	2	128	2	0.25	≤0.25	≤0.25	0.5	0.5	0.5	2	≤0.25
2566	2020	ブラジル	福岡	128<	8	4	128	4	0.5	≤0.25	≤0.25	0.5	0.5	0.5	4	≤0.25
2567	2020	ブラジル	東京	128<	2	0.5	4	≤0.25	0.5	≤0.25	≤0.25	0.5	0.5	0.5	4	≤0.25
2568	2020	ブラジル	仙台	128<	2	≤0.25	8	≤0.25	1	≤0.25	≤0.25	0.5	0.5	0.5	4	≤0.25
2569	2020	ブラジル	仙台	128<	2	2	128	1	1	≤0.25	≤0.25	1	1	1	4	≤0.25
2570	2020	ブラジル	福岡	128<	2	2	64	1	0.5	≤0.25	≤0.25	0.5	0.5	0.5	2	≤0.25

図1. FONAの系統樹(アミノ酸配列)



● 2017

● 2018

● 2019

表16-1. 鶏肉由来リネゾリド(LZD)耐性腸球菌

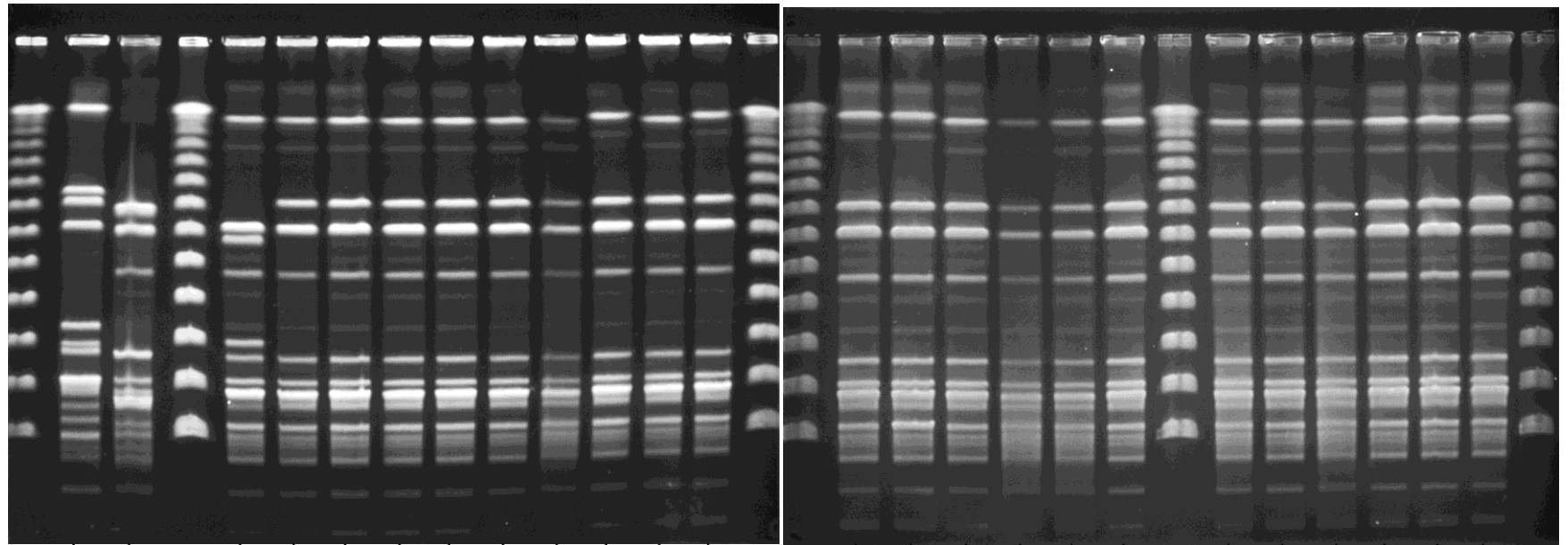
群大No.	検疫所検体No.	検体採取鶏舎及び港湾	検疫所又は検査所	国又は県	採取年月日	送付年月日	受取年月日	処理年月日	VanPariPC R	poxA	optrA	fexA	fexB	
LZDr 10.1	鹿児島ー1 0	1	串木野食肉衛生検査所	鹿児島	令和2年2月18日	令和2年2月18日	令和2年2月20日	令和2年3月2日	E. faecalis	-	-	-	-	
LZDr 10.2	鹿児島ー1 0	2	串木野食肉衛生検査所	鹿児島	令和2年2月18日	令和2年2月18日	令和2年2月20日	令和2年3月2日	E. faecalis	-	-	-	-	
LZDr 25.1	鹿児島ー2 5	1	鹿屋食肉衛生検査所	鹿児島	令和2年2月3日	令和2年2月3日	令和2年2月5日	令和2年3月2日	E. faecalis	-	-	-	-	
LZDr 25.2	鹿児島ー2 5	2	鹿屋食肉衛生検査所	鹿児島	令和2年2月3日	令和2年2月3日	令和2年2月5日	令和2年3月2日	E. faecalis	-	-	-	-	
LZDr 31.1	1	1	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	E. faecalis	-	+	+	-
LZDr 31.2	1	2	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 32.1	2	1	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	E. faecalis	-	+	+	-
LZDr 32.2	2	2	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 33.1	3	1	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	E. faecalis	-	+	+	-
LZDr 33.2	3	2	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 35.1	5	1	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	E. faecalis	-	+	+	-
LZDr 35.2	5	2	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 36.1	6	1	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 36.2	6	2	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 37.1	7	1	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 37.2	7	2	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 38.1	8	1	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 38.2	8	2	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 40.1	10	1	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 40.2	10	2	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 41.1	11	1	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 41.2	11	2	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 42.1	12	1	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 42.2	12	2	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 43.1	13	1	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 43.2	13	2	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 44.1	14	1	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 44.2	14	2	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 45.1	15	1	C-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 45.2	15	2	C-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 46.1	16	1	C-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 46.2	16	2	C-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 47.1	17	1	C-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 47.2	17	2	C-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 48.1	18	1	C-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 48.2	18	2	C-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 49.1	19	1	C-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 49.2	19	2	C-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 50.1	20	1	C-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 50.2	20	2	C-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 51.1	21	1	C-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 51.2	21	2	C-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 52.1	22	1	D-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 52.2	22	2	D-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 53.1	23	1	D-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年3月3日	-	+	+	-	
LZDr 53.2	23	2	D-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年3月3日	-	+	+	-	

表16-2. 鶏肉由来リネゾリド(LZD)耐性腸球菌

[illegible]

鹿児島2検体4株 群馬39検体78株 ブラジル2検体4株 トルコ1検体2株 タイ2検体4株 合計92株

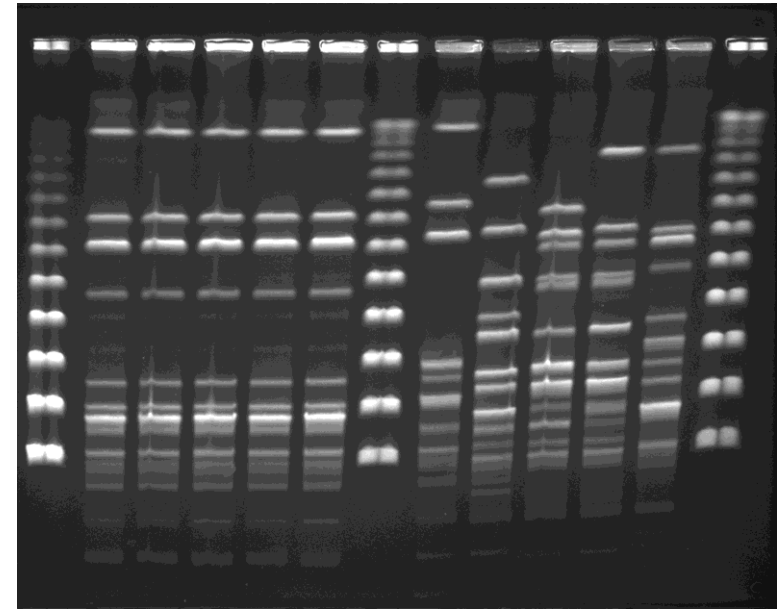
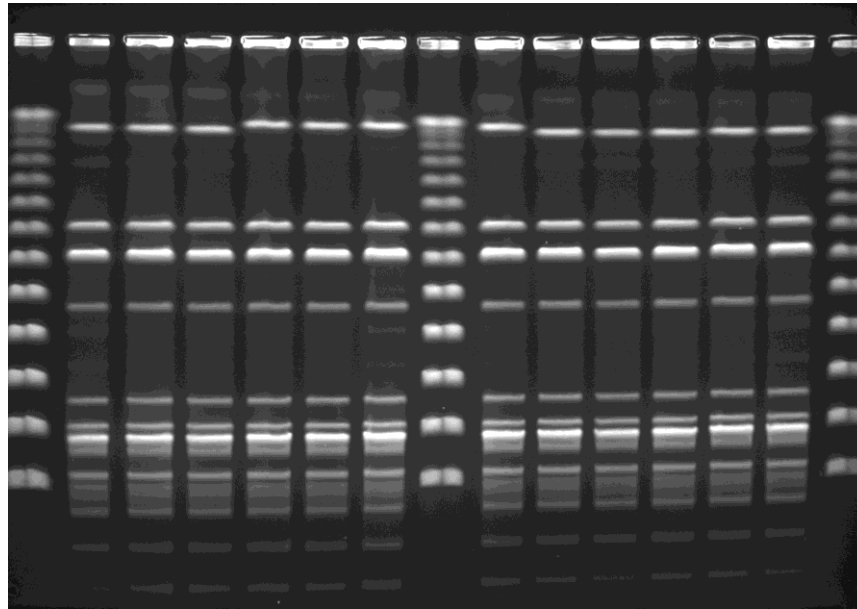
図2-1. LZD耐性腸球菌のPFGE解析と薬剤感受性



LZDr10.1 LZDr25.1 LZDr31.1 LZDr32.1 LZDr33.1 LZDr35.1 LZDr36.1 LZDr37.1 LZDr38.1 LZDr40.1 LZDr41.1 LZDr42.1 LZDr43.1 LZDr44.1 LZDr45.1 LZDr46.1 LZDr47.1 LZDr48.1 LZDr49.1 LZDr50.1 LZDr51.1 LZDr52.1 LZDr53.1 LZDr54.1

Stock No.	群大No.	検査所検体No.	検体採取調査及び港湾	検査所又は検査所	国又は県	採取年月日	送付年月日	受取年月日	処理年月日	VanPariPCR	LZD	FFC	CP	EM	LCM	TC	TGC	CPFX	FOS	ABPC	MEPM	VCM	TEIC	SM	KM	SPC	GM	RFP	FA	NFT
2019年度 LZDr株	LZDr 10.1	鹿児島—10	1	串木野食肉衛生検査所	鹿児島	令和2年2月18日	令和2年2月18日	令和2年2月20日	令和2年3月2日	<i>E. faecalis</i>	16	16	16	2	128	2	0.5	2	32	1	4	2	0.5	64	64	128	16	4	4	32
2019年度 LZDr株	LZDr 25.1	鹿児島—25	1	鹿屋食肉衛生検査所	鹿児島	令和2年2月3日	令和2年2月3日	令和2年2月5日	令和2年3月2日	<i>E. faecalis</i>	4	16	16	64	64	64	0.25	2	32	1	4	2	0.5	128	128	64	16	2	4	8
2019年度 LZDr株	LZDr 31.1	1	1	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	<i>E. faecalis</i>	8	64	128	≧512	≧512	256	0.5	2	32	1	8	2	0.125	64	≧512	≧512	≧512	2	4	16
2019年度 LZDr株	LZDr 32.1	2	1	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	<i>E. faecalis</i>	8	128	128	≧512	≧512	256	0.5	2	32	1	8	2	0.25	64	≧512	≧512	≧512	2	4	16
2019年度 LZDr株	LZDr 33.1	3	1	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	<i>E. faecalis</i>	8	64	128	≧512	≧512	256	0.5	2	32	1	4	2	0.5	64	≧512	≧512	≧512	2	4	16
2019年度 LZDr株	LZDr 35.1	5	1	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	<i>E. faecalis</i>	8	64	128	≧512	≧512	256	0.5	2	32	1	8	2	0.5	64	≧512	≧512	≧512	2	4	16
2019年度 LZDr株	LZDr 36.1	6	1	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	<i>E. faecalis</i>	8	64	128	≧512	≧512	256	0.5	2	32	1	4	2	0.5	64	≧512	≧512	≧512	2	4	16
2019年度 LZDr株	LZDr 37.1	7	1	A-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	<i>E. faecalis</i>	8	64	128	≧512	≧512	256	0.5	2	32	1	4	2	0.125	64	≧512	≧512	≧512	2	4	16
2019年度 LZDr株	LZDr 38.1	8	1	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	<i>E. faecalis</i>	8	64	128	≧512	≧512	256	0.5	1	32	1	4	2	0.25	64	≧512	≧512	≧512	2	4	16
2019年度 LZDr株	LZDr 40.1	10	1	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	<i>E. faecalis</i>	8	64	128	≧512	≧512	256	0.5	2	32	1	4	2	0.25	64	≧512	≧512	≧512	2	4	16
2019年度 LZDr株	LZDr 41.1	11	1	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	<i>E. faecalis</i>	8	64	128	≧512	≧512	256	0.5	2	32	1	4	2	0.5	64	≧512	≧512	≧512	2	4	16
2019年度 LZDr株	LZDr 42.1	12	1	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	<i>E. faecalis</i>	8	64	128	≧512	≧512	256	0.5	1	32	1	4	2	0.125	64	≧512	≧512	≧512	2	4	16
Stock No.	群大No.	検査所検体No.	検体採取調査及び港湾	検査所又は検査所	国又は県	採取年月日	送付年月日	受取年月日	処理年月日	VanPariPCR	LZD	FFC	CP	EM	LCM	TC	TGC	CPFX	FOS	ABPC	MEPM	VCM	TEIC	SM	KM	SPC	GM	RFP	FA	NFT
2019年度 LZDr株	LZDr 43.1	13	1	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	<i>E. faecalis</i>	8	64	128	≧512	≧512	256	0.5	2	32	1	8	2	0.5	64	≧512	≧512	≧512	2	4	16
2019年度 LZDr株	LZDr 44.1	14	1	B-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	<i>E. faecalis</i>	8	64	128	≧512	≧512	256	0.5	1	32	1	4	2	0.5	64	≧512	≧512	≧512	2	4	16
2019年度 LZDr株	LZDr 45.1	15	1	C-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	<i>E. faecalis</i>	8	64	128	≧512	≧512	256	0.5	1	32	1	4	2	0.5	64	≧512	≧512	≧512	2	4	16
2019年度 LZDr株	LZDr 46.1	16	1	C-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	<i>E. faecalis</i>	8	64	128	≧512	≧512	256	0.5	1	32	1	4	2	0.5	64	≧512	≧512	≧512	2	4	16
2019年度 LZDr株	LZDr 47.1	17	1	C-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	<i>E. faecalis</i>	4	64	128	≧512	≧512	256	0.25	2	16	1	4	2	0.25	64	≧512	≧512	≧512	2	4	8
2019年度 LZDr株	LZDr 48.1	18	1	C-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	<i>E. faecalis</i>	4	64	128	≧512	≧512	256	0.25	1	16	1	4	2	0.25	64	≧512	≧512	≧512	1	4	8
2019年度 LZDr株	LZDr 49.1	19	1	C-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	<i>E. faecalis</i>	4	64	128	≧512	≧512	256	0.25	2	16	1	4	2	0.5	64	≧512	≧512	≧512	2	4	8
2019年度 LZDr株	LZDr 50.1	20	1	C-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	<i>E. faecalis</i>	4	64	128	≧512	≧512	256	0.25	1	16	1	4	2	0.5	64	≧512	≧512	≧512	1	4	8
2019年度 LZDr株	LZDr 51.1	21	1	C-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月17日	令和2年2月17日	令和2年2月17日	<i>E. faecalis</i>	4	64	128	≧512	≧512	256	0.25	1	16	1	4	2	0.5	64	≧512	≧512	≧512	1	4	8
2019年度 LZDr株	LZDr 52.1	22	1	D-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	<i>E. faecalis</i>	4	64	128	≧512	≧512	256	0.5	2	16	1	4	2	0.5	64	≧512	≧512	≧512	1	4	8
2019年度 LZDr株	LZDr 53.1	23	1	D-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	<i>E. faecalis</i>	4	64	128	≧512	≧512	256	0.25	2	16	1	4	2	0.25	64	≧512	≧512	≧512	1	4	8
2019年度 LZDr株	LZDr 54.1	24	1	D-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	<i>E. faecalis</i>	4	64	128	≧512	≧512	256	0.5	2	32	1	8	2	0.25	64	≧512	≧512	≧512	1	4	8

図2-2. LZD耐性腸球菌のPFGE解析と薬剤感受性



LZDr55.1																																LZDr56.1																																LZDr57.1																																LZDr58.1																																LZDr59.1																																LZDr60.1																																LZDr61.1																																LZDr62.1																																LZDr63.1																																LZDr64.1																																LZDr65.1																																LZDr66.1																																LZDr67.1																																LZDr68.1																																LZDr69.1																																LZDr70.1																																LZDr71.1																																LZDr72.1																																LZDr77.1																																LZDr106.1																																LZDr172.1																																LZDr188.1																															
Stock No.	群大No.	検疫所検体No.	検体採取機会及び港湾	検疫所又は検査所	国又は県	採取年月日	送付年月日	受取年月日	処理年月日	VanPariPCR	LZD	FFC	CP	EM	LCM	TC	TGC	CPFX	FOS	ABPC	MEPM	VCM	TEIC	SM	KM	SPC	GM	RFP	FA	NFT																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
2019年度 LZDr株	LZDr 55.1	25	1	D-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年3月3日	4	64	128	≧512	≧512	256	0.5	2	16	1	4	2	0.25	64	≧512	≧512	≧512	1	4	16																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
2019年度 LZDr株	LZDr 56.1	26	1	D-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年3月3日																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																					
2019年度 LZDr株	LZDr 57.1	27	1	E-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年3月3日	4	64	128	≧512	≧512	256	0.5	2	32	1	4	2	0.5	64	≧512	≧512	≧512	1	4	8																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
2019年度 LZDr株	LZDr 58.1	28	1	E-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年3月3日	4	64	128	≧512	≧512	256	0.5	1	16	1	4	2	0.5	64	≧512	≧512	≧512	1	4	8																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
2019年度 LZDr株	LZDr 59.1	29	1	E-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年3月3日	4	64	128	≧512	≧512	256	0.5	1	16	1	4	2	0.25	64	≧512	≧512	≧512	1	4	8																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
2019年度 LZDr株	LZDr 60.1	30	1	E-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年3月3日	4	64	128	≧512	≧512	256	0.25	1	16	1	4	2	0.125	64	≧512	≧512	≧512	1	4	8																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
2019年度 LZDr株	LZDr 61.1	31	1	E-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年3月3日																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																					
2019年度 LZDr株	LZDr 62.1	32	1	F-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年3月3日	4	64	128	≧512	≧512	256	0.5	2	16	1	4	2	0.25	64	≧512	≧512	≧512	1	4	8																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
2019年度 LZDr株	LZDr 63.1	33	1	F-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年3月3日	4	64	128	≧512	≧512	256	0.5	2	16	1	4	2	0.5	64	≧512	≧512	≧512	1	4	8																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
2019年度 LZDr株	LZDr 64.1	34	1	F-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年3月3日	4	64	128	≧512	≧512	256	0.25	2	16	1	4	2	0.5	64	≧512	≧512	≧512	1	4	8																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
2019年度 LZDr株	LZDr 65.1	35		F-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年3月3日	4	64	128	≧512	≧512	256	0.5	2	16	1	4	2	0.25	64	≧512	≧512		16	1	4	8																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																
2019年度 LZDr株	LZDr 66.1	36		F-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年3月3日																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																					
Stock No.	群大No.	検疫所検体No.	検体採取機会及び港湾	検疫所又は検査所	国又は県	採取年月日	送付年月日	受取年月日	処理年月日	VanPariPCR	LZD	FFC	CP	EM	LCM	TC	TGC	CPFX	FOS	ABPC	MEPM	VCM	TEIC	SM	KM	SPC	GM	RFP	FA	NFT																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
2019年度 LZDr株	LZDr 67.1	37		G-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年3月3日	4	64	128	≧512	≧512	256	0.5	2	16	1	4	2	0.25	64	≧512	≧512	≧512	1	4	8																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
2019年度 LZDr株	LZDr 68.1	38		G-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年3月3日	4	128	128	≧512	≧512	256	0.5	2	16	1	4	2	0.5	64	≧512	≧512	≧512	1	4	8																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
2019年度 LZDr株	LZDr 69.1	39		G-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年3月3日	4	64	128	≧512	≧512	256	0.25	2	16	1	4	2	0.5	64	≧512	≧512	≧512	1	4	8																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
2019年度 LZDr株	LZDr 70.1	40		G-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年3月3日	4	64	128	≧512	≧512	256	0.25	2	16	1	4	2	0.5	64	≧512	≧512	≧512	1	4	8																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
2019年度 LZDr株	LZDr 71.1	41		G-1	群馬県食肉衛生検査所	群馬県	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年2月25日	令和2年3月3日																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																					
2019年度 LZDr株	LZDr 72.1	31319779	1		横浜検疫所	ブラジル	平成31年4月10日	令和2年3月11日	令和2年3月12日	令和2年4月8日	<i>E. faecalis</i>	8	128	64	≧512	≧512	256	0.5	2	32	1	4	2	0.25	64	64	64	16	2	8	16																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																
2019年度 LZDr株	LZDr 77.1	31321572	1		横浜検疫所	ブラジル	令和1年5月15日	令和2年3月11日	令和2年3月12日	令和2年4月8日	<i>E. faecalis</i>	8	128	64	≧512	≧512	256	0.5	2	32	1	4	2	0.5	64	64	64	16	2	4	16																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																
2019年度 LZDr株	LZDr 106.1	31331109	1		横浜検疫所	タイ	令和1年8月28日	令和2年3月11日	令和2年3月12日	令和2年4月15日	<i>E. faecalis</i>	16	16	32	≧512	≧512	256	0.5	2	32	1	4	4	0.5	64	64	64	16	4	4	8																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																
2019年度 LZDr株	LZDr 172.1	66368061	1	福岡	神戸検疫所	タイ	令和1年9月10日	令和2年6月8日	令和2年6月9日	令和2年7月30日	<i>E. faecalis</i>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																				
2019年度 LZDr株	LZDr 188.1	66371385	1	成田	神戸検疫所	トルコ	令和1年10月21日	令和2年6月8日	令和2年6月9日	令和2年7月30日	<i>E. faecalis</i>																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																				

厚生労働科学研究費補助金補助金（食品の安全確保推進研究事業）
分担研究報告書

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

研究参加者：青木 弘太郎 東邦大学医学部微生物・感染症学講座・助教

研究要旨

ヒト、家畜、食品、および伴侶動物に加えて環境に由来する薬剤耐性菌が保有する薬剤耐性伝達因子を解析し、拡散様式ならびに過程を明らかにすることは、薬剤耐性菌を制御する上で重要な情報である。我々のグループでは、ヒト、家畜、食品、伴侶動物、および環境に由来する第三セファロスポリン系薬耐性あるいはカルバペネム系薬耐性腸内細菌目細菌を対象に、全ゲノム解析により薬剤耐性遺伝子ならびに薬剤耐性伝達因子を解析した。海外渡航がない患者から分離されたカルバペネマーゼ産生大腸菌を解析した結果、*bla*_{NDM-5} は IncX3 プラスミド上に検出され、そのプラスミドは東京湾の海水から分離された大腸菌から検出された *bla*_{NDM-5} 搭載プラスミドと酷似していた。また、本プラスミドは中国および香港において農場の動物および環境サンプルから高頻度に検出されるプラスミドにも構造が酷似していた。これらの結果から、海外で問題となる薬剤耐性遺伝子伝達因子が家畜、食品、および環境を介して本邦に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

A. 研究目的

薬剤耐性菌の制御にはその拡散様式および過程を理解することが重要である。海外渡航歴がない患者からカルバペネム耐性大腸菌が分離されたことから、全ゲノム解析によりその薬剤耐性遺伝子および伝達性遺伝因子を解明することを目的とした。

B. 研究方法

海外渡航歴のない患者から分離された 3 株カルバペネム耐性大腸菌について、全ゲノム解析を行った。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 (オックスフォード ナノポアテクノロジー) の 2 機種を組合せて行った。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的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。プラスミド構造の比較ゲノム解析には、類似するプラスミド塩基配列情報を公共データベース (National Center for Biotechnology Information, NCBI) からダウンロードして用いた。

(倫理面への配慮)

本研究は、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行われた。

C. 研究結果

渡航歴の患者の感染部位 (TUM18530) および便 (TUM18780) から分離された大腸菌はいずれも multilocus sequence typing (MLST) により sequence type (ST) 1011 に属していた。また、便から分離された異なる薬剤感受性パターンの大腸菌 (TUM18781) は ST2040 に属していた (表 1)。これらの全ゲノム解析の結果、3 株が共通して *bla*_{NDM-5} 搭載 IncX3 プラスミドを有していたことが明らかになった。一方で、ST1011 に属する菌株は、IncFIC および IncFII ハイブリッドプラスミドおよび IncHI2 プラスミドを有していたが、ST2040 に属する菌株はそれらのプラスミドを有していなかった (表 1)。

*bla*_{NDM-5} 搭載 IncX3 プラスミドの構造は互いに酷似しており、接合伝達による伝達性が確認された。既報のプラスミドと類似性を比較した結果、東京湾の海水サンプルから分離された大腸菌から検出された *bla*_{NDM-5} 搭載 IncX3 プラスミドと構造が酷似していた (図 1)。また、本プラスミドは中国および香港において農場の動物および環境サンプルから高頻度に検出されるプラスミドにも構造が酷似していた。これらの成果は論文投稿中である。

D. 考察

海外で問題となる薬剤耐性遺伝子伝達因子が

家畜、食品、および環境を介して本邦に影響を及ぼしている可能性が示唆された。

E. 結論

全ゲノム解析により本邦の市中に *bla*_{NDM-5} 搭載 IncX3 プラスミドが拡散していることを明らかにした。

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

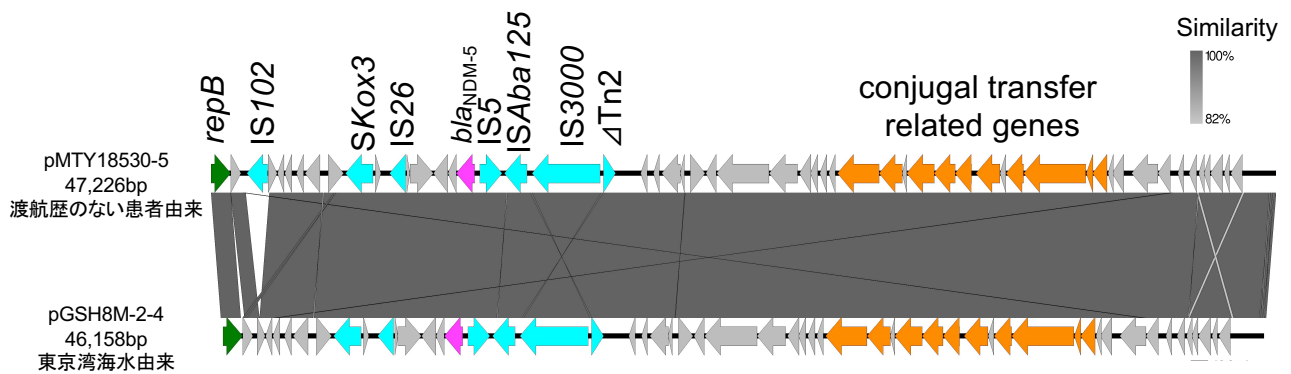
3. その他

なし

表 1. カルバペネム耐性大腸菌の

Strain	ST	Replicon and plasmid Inc/Rep type	Antibiotic resistance gene
TUM18530 and TUM18780	ST1011	Chromosome	<i>aac(3)-lid</i> , <i>aadA2</i> , <i>bla</i> _{TEM-1B} , <i>mdf(A)</i> <i>mph(A)</i> , <i>catA1</i> , <i>sul1</i> , <i>dfrA12</i>
		IncFIC and IncF II plasmid	<i>tetA</i>
		IncHI2 plasmid	<i>aac(3)-lid</i> , <i>aadA22</i> , <i>aph(6)-Id</i> , <i>aph(3')-Ia</i> , <i>rmtB</i> <i>bla</i> _{TEM-1B} , <i>bla</i> _{CTX-M-55} , <i>qnrS1</i> , <i>fosA3</i> , <i>lnu(F)</i> , <i>mph(A)</i> <i>floR</i> , <i>ARR-2</i> , <i>sul3</i> , <i>tet(A)</i> , <i>dfrA14</i>
		IncX3 plasmid	<i>bla</i> _{NDM-5}
TUM18781	ST2040	IncX3 plasmid	<i>bla</i> _{NDM-5}

図 1. *bla*_{NDM-5} 搭載 IncX3 プラスミド完全長構造比較



研究成果の刊行に関する一覧表

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
Wakabayashi Y, Sekizuka T, Yamaguchi T, Fukuda A, Suzuki M, Kawahara R, Taguchi M, Kuroda M, Semba K, Shinomiya H, Kawatsu K.	Isolation and plasmid characterisation of <i>Salmonella enterica</i> serovar Albany harbouring mcr-5 from retail chicken meat in Japan.	FEMS Microbiol Lett.	367(15)	fnaa127	2020
Toshiki Kajihara, Koji Yahara, Sergey Romualdovich Eremin, Barbara Tornimbene, Visanu Tsamlikitkul, Joahn Stelling, Akihiro Hirabayashi, Eiko Anzai, Satoyo Wakai, Nobuaki Matsunaga, Kayoko Hayakawa, Norio Ohmagari, Motoyuki Sugai, and Keigo Shibayama	Comparison of de-identification methods used by WHO Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) and Japan Nosocomial Infections Surveillance (JANIS) in the surveillance of antimicrobial resistance	PLoS One	15(6)	e0228234	2020
Soliman AM, Ramadan H, Ghannam E, Yu L, Hishatsune J, Kayama S, Sugai M, Nariya H, Shimamoto T, Jackson CR, Shimamoto T	Emergence of <i>Salmonella</i> genomic island 1 variant SG11-C in a multidrug-resistant clinical isolate of <i>Klebsiella pneumoniae</i> ST485 from Egypt	Antimicrobial Agents and Chemotherapy	64(9)	e01055-20	2020
Sadek M, Nariya H, Shimamoto T, Kayama S, Yu L, Hisatsune J, Sugai M, Nordmann P, Poirel L, Shimamoto T	First genomic characterization of bla _{VIM-1} and mcr-9-carrying <i>Enterobacter hormaechei</i> isolated from food of animal origin	Pathogens	9(9)	687	2020

Khalifa H, Soliman A, Saito T, Kayama S, Yu L, Hisatsune J, Sugai M, Nariya H, Ahmed A, Shimamoto T, Matsumoto T, Shimamoto T					
Kitagawa H, Ohsuge H, Yu L, Kayama S, Hara T, Kashiya S, Kajihara T, Hisatsune J, Sugai M	Aeromonas dhakensis is not a rare cause of Aeromonas bacteremia in Hiroshima, Japan	J Infect Chemother	26(2)	316-320	2020
Ahmed M Soliman, Hirofumi Nariya, Daiki Tanaka, Liansheng Yu, Junzo Hisatsune, Shizuo Kayama, Kohei Kondo, Motoyuki Sugai, Toshishi Shimamoto, Tadashi Shimamoto	Vegetable-derived carbapenemase-producing high-risk <i>Klebsiella pneumoniae</i> ST15 and <i>Acinetobacter baumannii</i> ST2 clones in Japan: co-existence of <i>bla</i> _{NDM-1} , <i>bla</i> _{OXA-66} , <i>bla</i> _{OXA-72} , and <i>AbaR4-like</i> resistance island from the same sample	Applied and Environmental Microbiology	In press		2021
Liansheng Yu, Hiroki Kitagawa, Shizuo Kayama, Junzo Hisatsune, Hiroki Ohsuge, and Motoyuki Sugai	Complete Genome Sequence of <i>Aeromonas caviae</i> Strain MS6064, a <i>mcr-3</i> -Carrying Clinical Isolate from Japan	Microbiology Resource Announcements	10(9)	e01037-20	2021
佐々木貴正、上間匡、百瀬愛佳、米満研三、浅井鉄夫、朝倉宏.	2食鳥処理場におけるブロイラー群および胸肉のカンピロバクター・サルモネラ汚染状況と薬剤耐性.	鶏病研報	50	153-158	2020

令和3年4月13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 隆字



次の職員の令和2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・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。

令和3年4月7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2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) 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

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 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3年3月18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2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3年4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 印

次の職員の令和2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。



リハ

(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	<p>① 承認</p> <p>② 条件付承認</p> <p>③ 計画の変更</p> <p>④ 不承認</p> <p>⑤ 研究の停止又は中止</p> <p>⑥ その他 ()</p>
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。

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2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) 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 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)			
		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"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	<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"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	<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"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	<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"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	<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"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	<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。

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 脇田 隆字



次の職員の令和2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□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3年 3 月 29 日

厚生労働大臣
—(国立医薬品食品衛生研究所長)— 殿
—(国立保健医療科学院長)—

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 合田 幸広 印

次の職員の令和2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 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
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 (H30-食品-一般-006)
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。

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2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) 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。

令和3年3月22日

厚生労働大臣 殿

機関名 国立大学法人東海国立大学機構
岐阜大学

所属研究機関長 職 名 機構長

氏 名 松尾 清彦 印

次の職員の令和2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) 大学院連合獣医学研究科
(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 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		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"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	<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"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	<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"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	<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"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	<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"/> 有 <input checked="" type="checkbox"/> 無	<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 3 年 3 月 23 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 印



次の職員の令和2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。