

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

ワンヘルスに基づく食品由来薬剤耐性菌の
サーベイランス体制強化のための研究

令和3年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 菅井 基行

令和4（2022）年 5月

目 次

| | |
|---|-----|
| I. 令和3年度総括研究報告 | |
| ワンヘルスに基づく薬剤耐性調査の総括----- | 1 |
| 研究代表者 菅井 基行 国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター | |
| II. 令和3年度分担研究報告 | |
| 1. 全国地研ネットワークに基づく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----- | 9 |
| 研究分担者 四宮 博人 愛媛県立衛生環境研究所 | |
| 2. 食品由来カンピロバクター、サルモネラ等の薬剤耐性獲得動向に関する サーベイランス及び食品内での制御効果の評価に関する研究----- | 30 |
| 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 | |
| 3. 食品及びヒト由来カンピロバクター、大腸菌の薬剤耐性動向調査----- | 39 |
| 研究分担者 小西 典子 東京都健康安全研究センター | |
| 4. 食肉由来薬剤耐性菌の調査と耐性機序の研究----- | 50 |
| 研究分担者 富田 治芳 群馬大学大学院医学系研究科 | |
| 5. Food-Chain における薬剤耐性菌の実態調査及び分布要因の解析----- | 83 |
| 研究分担者 浅井 鉄夫 岐阜大学大学院連合獣医学研究科 | |
| 6. 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----- | 91 |
| 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 | |
| 7. 動物（家畜）由来細菌の薬剤耐性モニタリング：JVARM との連携----- | 94 |
| 研究分担者 小澤 真名緒 農林水産省動物医薬品検査所 | |
| III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- | 103 |

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3年度総括研究報告書

ワンヘルスに基づく食品由来薬剤耐性菌のサーベイランス体制強化のための研究

研究代表者 菅井基行 国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター長

研究要旨：

厚生労働省は「薬剤耐性（AMR）対策アクションプラン 2016-2020」に従い、ヒト、動物（家畜含）、農業、食品、及び環境の各分野において薬剤耐性菌の動向を把握し、我が国のデータとして「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書」を公開することとした。また、WHO は加盟国の特定の病原菌に関する AMR データを収集する Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS)を開始し、年次報告を公開しており、2022 年にシステムを改訂し GLASS2.0 をスタートさせる。本研究では動物性食品の薬剤耐性菌の動向調査・薬剤耐性機序に関する研究を実施するとともにこれらの報告書にデータを提供することを目的として以下の調査研究を実施した：地方衛生研究所で扱う耐性菌について全国 20-30 か所の協力施設により菌株の収集、薬剤感受性試験。食肉衛生検査所および検疫所由来鶏肉検体から耐性菌の分離と収集、薬剤感受性試験、耐性機序・染色体遺伝子型別。食肉処理場（豚）および市販豚肉由来メチシリン耐性ブドウ球菌の収集、市販鶏肉由来第三世代セファロスポリン耐性菌の季節変動の検討、薬剤感受性試験を含む性状解析。JVARM 参加食肉処理場（牛・豚）、食鳥処理場の健康家畜由来株の耐性菌の収集、薬剤感受性試験、耐性機序・染色体遺伝子型別。健康人糞便からの ESBL 産生大腸菌の分離。これらの分離株について薬剤耐性研究センターにおいてゲノムデータの取得を進めた。ゲノムデータは薬剤感受性データ、菌株とともに薬剤耐性菌バンクで一元管理し、保有耐性遺伝子、MLST、病原遺伝子について解析した。また GLASS 2.0 に対応し、データの提出を行うためのプログラムの開発、GLASS 2.0 仕様でのデータの集計を都道府県別で行い、ワンヘルスプラットフォームと連携するプログラムの開発、当該データを解析しレポートを作成するプログラムの検討・開発を進めた。

研究分担者：

四宮 博人 愛媛県立衛生環境研究所
朝倉 宏 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部
小西 典子 東京都健康安全研究センター 微生物部食品微生物研究科
富田 治芳 群馬大学大学院医学系研究科
浅井 鉄夫 岐阜大学大学院連合獣医学研究科
石井 良和 東邦大学医学部微生物・感染症学講座
小澤 真名緒 農林水産省動物医薬品検査所

菅井グループ研究協力者：

矢原 耕史 国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター 室長
川上 小夜子 国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター 非常勤研究員
北村 徳一 国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター 非常勤研究員
鹿山 鎮男 国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター 室長
Liansheng Yu 国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター 研究員
森谷 晃 国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター 非常勤職員
久恒 順三 国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター 室長

| | | | |
|---------------|-----------------------------|------------|--------|
| 岩尾 泰久 | 国立感染症研究所 | 薬剤耐性研究センター | 主任研究官 |
| 黒木 香澄 | 国立感染症研究所 | 薬剤耐性研究センター | 主任研究官 |
| 杓野 祥子 | 国立感染症研究所 | 薬剤耐性研究センター | 非常勤研究員 |
| 菅原 庸 | 国立感染症研究所 | 薬剤耐性研究センター | 室長 |
| 中野 哲志 | 国立感染症研究所 | 薬剤耐性研究センター | 主任研究官 |
| 近藤 恒平 | 国立感染症研究所 | 薬剤耐性研究センター | 研究員 |
| 左 弁 | 国立感染症研究所 | 薬剤耐性研究センター | 研究員 |
| 坂本 典子 | 国立感染症研究所 | 薬剤耐性研究センター | 非常勤職員 |
| Elahi Shaheem | 国立感染症研究所 | 薬剤耐性研究センター | 非常勤職員 |
| 荒井 千夏 | 国立感染症研究所 | 薬剤耐性研究センター | 非常勤研究員 |
| 島本 整 | 広島大学大学院統合生命科学研究科食品生命科学プログラム | | 教授 |
| 瀬川 孝耶 | 国立感染症研究所 | 薬剤耐性研究センター | 主任研究官 |
| 小松澤 均 | 広島大学大学院医系科学研究科細菌学研究室 | | 教授 |

A. 研究目的：

平成 28 年度に策定された「薬剤耐性 (AMR) 対策アクションプラン 2016-2020」ではヒト、動物 (家畜含)、農業、食品、及び環境の各分野において薬剤耐性菌の動向を把握し、薬剤耐性に関する施策を評価し、課題を明らかにすることが謳われている。このため、厚労省は「薬剤耐性ワンヘルス動向調査検討会」を立ち上げ、今まで各省庁等で独立に行われていた薬剤耐性サーベイランスの成果を総合的にまとめ、年次報告書を作成し、我が国のデータとして公開することとした。また、WHO は 2015 年から加盟国の特定の病原菌に関する AMR データを収集する Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) を開始し、年次報告を公開しており、わが国は GLASS にデータを提出し協力している。GLASS チームはデータベースの充実を図るため 2021 年にシステムを改訂し GLASS2.0 をスタートさせる。GLASS2.0 では AMR の疾病負荷、薬剤耐性動向、AMR による経済的損失等の評価が検討されている。また同チームは今後の GLASS2.0 への収載を見据えてサーベイランスのための全ゲノム解析 (WGS) 法のテクニカル・ノートを発表した。今後は GLASS 改訂に対応したデータを提供して行く必要がある。

これらのデータ提供に対応するため、わが国では食品に関連する耐性菌について平成 27~29 年、平成 30~令和 2 年の 2 期にわたる厚生科学研究 (主任研 渡邊治雄) により食品中の薬剤耐性菌の動向調査を実施し、家畜—食品—ヒト間の耐性菌の流れを一元的に把握することを試みて来た。この間、ヒト由来耐性菌のサーベイランス JANIS と家畜由来耐性菌のサーベイランス JVARM の結果を一元的に比較解析できる体制の構築、全国地方衛生研究所等によって収集される食品由来細菌の薬剤耐性サーベラ

ンスの体制の構築を行い、専門家による流通食肉の薬剤耐性菌サーベイランスを実施してきた。本研究班では 1) 今まで培われて来た食品中の薬剤耐性菌サーベイランスを実施する各種研究機関、大学等の専門家のネットワークを用いて実施体制の強化を行い、2) 動物性食品の薬剤耐性菌の動向調査・薬剤耐性機序に関する研究を実施し、3) その知見を「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書」、GLASS2.0 に提供することを目的とする。

B. 研究方法：

研究目的にある 1)~3) のことを達成するために以下の計画で行った。

- 1) 食品に関連する薬剤耐性菌情報の収集・解析体制の強化
 - (a) サーベイランスを効率的に実施するためにサーベイランスを実施するフィールド、対象とする耐性菌を基準として以下のグループを形成した：地方衛生研究所で扱う流通食品・ヒト由来検体 (四宮、朝倉、小西)、食肉衛生検査所・検疫所由来検体 (富田)、食肉処理場由来検体 (豚・鶏)・市販豚肉 (浅井、石井)、JVARM に参加する食肉処理場検体 (小澤)、ゲノムシーケンセス及び統合解析 (菅井)。
 - (b) GLASS 2.0 に対応し、JANIS データベースから出力したデータを集計するためのプログラムを引き続き開発した。具体的には、匿名化された個人レベルのデータについて、GLASS の公開した Variables in the individual dataset に含まれるデータ項目 (匿名化個人 ID、年齢、性別、検体採取日、検査材料、分離菌、薬剤感受性試験結果等) を抽出するプログラムを開発した。加えて、GLASS 2.0 で追加になった新しい

検査材料と菌の組み合わせ（約 20 通り）を集計するプログラムを開発した。

2) 動物性食品の薬剤耐性菌の動向調査・薬剤耐性機序に関する研究

- (a) 地方衛生研究所で扱う流通食品・ヒト由来サルモネラ、病原大腸菌、カンピロバクターについて全国 20-30 か所の協力地方衛生研究所を選定し、確立したプロトコールに則り、菌株の収集、薬剤感受性試験を実施した（四宮、朝倉、小西）。
- (b) 食肉衛生検査所および検疫所由来鶏肉検体からの ESBL 産生腸内細菌科細菌、AmpC 産生腸内細菌科細菌、コリスチン耐性腸内細菌科細菌、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）、バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）、リネゾリド耐性腸球菌株の分離（検出）と収集、薬剤感受性試験、耐性機序・染色体遺伝子型別を実施した（富田）。
- (c) 食肉処理場（豚）および市販豚肉由来メチシリン耐性ブドウ球菌（LA-MRSA を含む）の収集、（市販鶏肉由来第三世代セファロsporin 耐性菌の季節変動を検討し、薬剤感受性試験を含む性状解析を実施した（浅井、石井）。
- (d) JVARM 参加する食肉処理場（牛・豚）、食鳥処理場の健康家畜由来株のプラスミド性コリスチン耐性遺伝子 *mcr* 保有株、ESBL 産生菌、MRSA、カンピロバクター、サルモネラの収集、薬剤感受性試験、耐性機序・染色体遺伝子型別を実施した（小澤）。
- (e) 健康人糞便から ESBL 産生大腸菌を分離し、健康人における耐性菌保有状況を明らかにした（小西）。
- (f) 各グループが実施するサーベイランスの分離株について薬剤耐性研究センターにおいてハイスループット多検体ゲノム解析システムを利用してゲノムデータを取得する。得られたゲノムデータは薬剤感受性測定データ、菌株とともに薬剤耐性菌バンクで一元管理し、ゲノムデータを元に保有耐性遺伝子、MLST、病原遺伝子について解析を実施している（疫学・統計学専門家 矢原）。

令和 4~5 年に上記の課題について分担研究者が調査、研究を行い、データの蓄積、解析には薬剤耐性研究センターを中心としたネットワークを活用した。年に少なくとも 2 回の班会議を実施し、情報交換を行うとともに解明すべき事項について共同研究を実施し、研究班の目的を達成するための調整を行った（菅井）。

C. 研究結果:

耐性菌データの国内・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 2021」（たたき台）(https://www.mhlw.go.jp/stf/newpage_23261.html)にデータを提供した。

国外ではWHO Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) Report: 2021 (<https://www.who.int/publications/item/9789240027336>)にデータを提供した。

四宮グループ

地方衛生研究所で扱う流通食品・ヒト（有症者）由来のサルモネラ、病原大腸菌、カンピロバクターについて全国 20-30か所の協力地方衛生研究所を選定し、研究内容に関して協力地衛研とともに、当県の倫理審査委員会に申請し、承諾を得た。次いで、全協力地衛研に共通のプロトコールに則り、菌株の収集、薬剤感受性試験、耐性遺伝子の同定を実施するとともに、感染研（研究代表者）と共同で実施するゲノム解析に提供する菌株の選定、送付、登録管理を研究計画通り実施した。また、厚労省「薬剤耐性ワンヘルス動向調査検討会」の年次報告書、及びWHO GLASS（世界の薬剤耐性サーベイランス）への報告資料（サルモネラ属菌の感受性試験結果）を提供した。

朝倉グループ

これ迄に国内に流通する食鳥肉製品由来カンピロバクター菌株を収集し、それらの薬剤感受性試験を開始した。また、過去のカンピロバクター菌株について研究代票者所属機関でのゲノム解析に供するための協議を行った。このほか、食鳥肉製品におけるESBL産生大腸菌定量検出試験を行った。

小西グループ

1) カンピロバクターの薬剤耐性菌出現状況

2020年に東京都内の散発患者から分離された *C. jejuni* 86株および *C. coli* 7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31.4%、*C. coli* が57.1%であった。2019年分離株（*C. jejuni* が54.5%、*C. coli* が68.8%）と比較すると、いずれの耐性率も低下していた。特に *C. jejuni* では過去10年間の中で最も低い耐性率であった。カンピロバクター腸炎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. coli* で28.6%であったが、*C. jejuni* では検出されなかった。

2) 健康者糞便由来大腸菌の薬剤耐性菌出現状況

2021年に健康者糞便248名から分離された248株

の大腸菌を対象に、7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125株（50.4%）であり、2017年（36.5%）、2018年（41.4%）、2019年（39.2%）、2020年（42.3%）と比較して耐性率は上昇していた。最も耐性率が高かった薬剤はNAで32.3%、次いでABPC 30.6%、TC 21.8%であった。フルオロキノロン耐性は14.1%で2020年の6.4%と比較して著しく上昇していた。セファロsporin系薬剤耐性は4.8%であり、2020年と比較してほぼ横ばい傾向であった。

3) 市販鶏肉由来大腸菌の薬剤耐性菌出現状況

2021年に国産鶏肉118検体から分離された大腸菌205株について薬剤感受性試験を実施した。NA耐性率は25.9%、フルオロキノロン耐性率は15.1%、CTX耐性は2.4%であった。

一方、外国産鶏肉36検体から分離された大腸菌61株のNA耐性率は18.0%、フルオロキノロン耐性率は6.6%、CTX耐性率は6.6%であった。

国産由来株ではキノロン系薬剤に対する耐性率が高かったが、外国産由来ではCTX耐性率が高い傾向であった。

今後、分離株を対象にプラスミド性コリスチン耐性遺伝子の保有状況やESBL産生菌の遺伝子型を調べる予定である。

富田グループ

1) 食品に関連する薬剤耐性菌情報の収集・解析体制の強化

(a) 今年度も厚生労働省食品安全局から複数カ所の自治体（食肉衛生検査所・食肉処理場）、および2カ所の検疫所に対してそれぞれ国内産鶏肉と輸入鶏肉検体の収集を依頼し、今年度中に検体が送付される予定である。

(b) 耐性菌バンク構築のために、これまでの調査研究において国内外の食肉検体から分離された薬剤耐性腸内細菌科細菌56株および薬剤耐性腸球菌44株の合計100株を国立感染症薬剤耐性研究センターへ送付した。

2) 動物性食品の薬剤耐性菌の動向調査・薬剤耐性機序に関する研究

(b) 2021年2月から3月にかけて収集した国内産鶏肉50検体（群馬20検体、鹿児島30検体）、および輸入鶏肉97検体（ブラジル62検体、米国15検体、タイ12検体、ニュージーランド6検体、スペイン2検体）について、ESBL産生腸内細菌科細菌、AmpC産生腸内細菌科細菌、コリスチン耐性腸内細菌科細菌、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）、バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）、リネゾリド耐性腸球菌、バシトラシン耐性腸球菌の分離（検出）と薬剤感受性試験、耐性機序・染色体遺伝子型別を実施した。2021年収集株（2020年度調査株）ではESBL産生/Amp

C産生腸内細菌科細菌が国内産鶏肉47検体（94%）から、輸入鶏肉検体26検体（27%）からそれぞれ検出された。ESBLの耐性型はCTX-Mが主であり、群馬県産株からはCTX-M9が多かった。*fonA*陽性（染色体性ESBL）*S. fonticola*が輸入鶏肉4検体（4%）（ブラジル3検体、タイ2検体、ニュージーランド1検体）から検出された。AmpCの耐性型はCITが主であった。一方、コリスチン耐性株やCREは検出されなかった。薬剤耐性腸球菌に関しては、VanN型VRE株が国産鶏肉4検体（8%）（群馬1検体、鹿児島3検体）から検出された。リネゾリド耐性腸球菌（*optrA*陽性株）が国内産鶏肉11検体（22%）（群馬8検体、鹿児島3検体）から検出された。バシトラシン耐性腸球菌（*bla_{cr}*陽性株）が米国产を除く他の鶏肉検体から検出された（分離頻度は24~80%）。

浅井グループ

中部地区のと畜場2か所で49養豚場から出荷した245頭の耳裏スワブを収集し、6.5%塩化ナトリウム加ミューラーヒントン培地（関東化学）で増菌培養後、ポアメディアMRSA II培地（栄研化学）に塗抹した。MRSAは7農場（14.2%）19頭（7.8%）から分離された。今後、分離株の遺伝子型、薬剤感受性等の性状解析を行う。

東海地方（愛知県と岐阜県）および関東（千葉、神奈川、埼玉）を中心に、国産豚肉160パック、輸入豚肉49パックの計209パックを購入し、肉25gを6.5%塩化ナトリウム加ミューラーヒントン培地（関東化学）25m¹で増菌培養後、ポアメディアMRSA II培地（栄研化学）に塗抹した。MRSAは209検体中9検体（4.4%）から分離され、陽性9検体はすべて国産豚肉であった。分離されたMRSAは家畜関連MRSA型（ST398）で、遺伝子型、薬剤感受性等の性状解析を行う。

2021年9月から岐阜市内のスーパーマーケット4店舗で国内産と輸入鶏肉を購入し、MPN法によりESBL産生大腸菌を計数している。11月まで終了し、現在12月の検査を実施中。

採卵鶏農場9か所から45鶏舎（5鶏舎/農場）の糞便を入手し、コリスチン添加培地を用いて大腸菌を分離した。現在、薬剤感受性等の性状解析を実施中。

研究室で保存していた第3世代セファロsporinに耐性を示すコリスチン自然耐性株のβ-ラクタマーゼを同定した。菌種は、*Serratia*、*Hafnia*、*Morganella*などで、β-ラクタマーゼ遺伝子は*Serratia fonticola*から bla_{fonA} 、*Hafnia alvei*から bla_{ACC} 、*Morganella morganii*から bla_{DHA} が検出された。

石井グループ

食品の薬剤耐性菌による汚染状況ならびにヒトから分離される薬剤耐性菌との関連性を明らかにする目的で、我々のグループではと畜場でカットされた豚耳からメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）、食鳥処理場でパッキングされた市販鶏肉から第三世代セファロsporin系薬剤耐性大腸菌（Third-generation cephalosporin-resistant *Escherichia coli*: 3GCR-Ec）の分離および収集を行っている。

豚耳は1農場あたり5頭のそれぞれ片耳をMRSAの分離培養に供試すると定めた。と畜場での農場間クロスコンタミネーションのリスクを最小限にするため、ある1日の最初に各作業ラインに搬入される農場のみの採材とした。本年度はこれまでに、2021年11月から12月に17農場から搬入された豚の85つの豚耳を供試した。うち、少なくとも1株のMRSAが分離されたのは13農場だった。

3GCR-Ecの培養には、小売店でのクロスコンタミネーションのリスクを避けるため、食鳥処理場でパックされた鶏ムネ肉を供試した。20のブロイラー農場で飼育され、食鳥処理場でパックされた241検体を供試し、3GCR-Ecが分離されたのは6農場に由来する24検体（10.0%、1検体あたり1株を選出）だった。

収集された菌株の薬剤感受性を測定するため、フローズプレート（栄研化学）を発注した。令和3年12月中に入手予定である。今後、収集された菌株は国立感染症研究所薬剤耐性菌センターのグループによりイルミナ社の次世代シーケンサー（NGS）によるドラフト全ゲノム解析が実施される予定である。染色体あるいはプラスミドの完全塩基配列を決定する場合は、東邦大学医学部微生物・感染症学講座においてナノポア型NGS（オックスフォード・ナノポアテクノロジー）による解析を行う予定である。

小澤グループ

(1) 食肉処理場（牛・豚）または食鳥処理場の健康家畜由来株のプラスミド性コリスチン耐性遺伝子 *mcr* 保有株15株、ESBL産生菌 4株、MRSA29株、カンピロバクター92株、サルモネラ117株について、次世代シーケンサーによって取得した塩基配列を用いてドラフトゲノム配列を得た。

(2) 平成29年度から平成30年度に分離された、と畜場及び食鳥処理場由来大腸菌が保有している *mcr* 遺伝子が乗ったプラスミドの塩基配列を、ショートリードとロングリードを組み合わせたハイブリッドアセンブルによって取得中。

(3) 令和元年度に分離された、コリスチンのMICが $2 \mu\text{g/mL}$ 以上のと畜場及び食鳥処理場由来大腸菌4株及び食鳥処理場由来サルモネラ属菌59株についてコリスチン耐性遺伝子 *mcr-1*~*mcr-10* を multiplex PCRで検出した。大腸菌より *mcr-1*: 4株、*mcr-3*: 1株が分離されたが、サルモネラ属菌からは遺伝子は検出されなかった。

菅井グループ

感染研・薬剤耐性研究センターでは、各分担研究者が分離した菌株の全ゲノムシーケンシス解析を担当している。当初の受入れ予定の年間約1300株のところ、約700株の菌株あるいは精製DNAを受領済みであり、順次全ゲノムシーケンシングを行っている。その内訳は、食品由来サルモネラ菌・腸球菌・カンピロバクター等340株、ヒト分離サルモネラ菌・カンピロバクター149株、健康人由来大腸菌123株である。また、動物医薬品検査所（小澤先生）からは、トリ由来サルモネラ菌117株分の全ゲノム配列データを受領している。朝倉グループからは鶏肉由来カンピロバクターDNA、ESBL産生大腸菌DNAを受領する予定で、それに先立ちDNA調整法について検討した。今後データ解析を進めることにより、菌の遺伝型や保有する耐性遺伝子の詳細、食品とヒト由来菌株の関連の有無等を明らかにする予定である。

また、（広島大学・島本教授との共同研究により）野菜分離の腸内細菌科細菌6株の全ゲノム解析を実施した。その結果、サムライネギから分離された *Kluyvera sichuanensis* がESBL遺伝子 *blaCTX-95* に近縁（アミノ酸配列の相同性91%）な遺伝子を有することを見出した。

D. 考察:

研究班で得られた耐性菌のデータが、国内・国外への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 2021」、国外においては WHO GLASS に提供され、JANIS や NESID 等のヒト由来データとともに日本におけるワンヘルスアプローチによる基礎データを提供した。

この研究班は食品に関連する薬剤耐性菌の基盤データの収集を目指している。地方衛生研究所が食中毒の原因微生物調査事業の一環として食品等から菌の分離を行なっていること、また地方衛生研究所全国協議会のネットワークを駆使して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いう理由で食品由来細菌（サルモネラ、カンピロバクター、大腸菌）の耐性菌調査は地方衛生研究所に担当していただいた。前の渡邊研究班において

も指摘されていたが、本来、このような食品関連の耐性菌の調査は事業として実施されることが望ましい。また現在の23地方衛生研究所の枠組みを愛媛県衛生環境研究所に取りまとめているが、このような対応が今後も継続できるかについては不明である。食品由来耐性菌のモニタリングに関して、どのような位置付けで集計・解析を担当するかについて今後も検討する必要がある。

「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書」「WHO GLASS」では薬剤耐性データは菌株の感受性データとして報告されている。現在、検討されているGLASS 2.0ではさらに耐性遺伝子データの収載が検討されており、併せて全ゲノムシーケンス配列を読む Genomic Surveillance が推奨されている。このことに鑑み、本研究班では新規に収集する薬剤耐性菌及び、すでに収集した薬剤耐性菌について可能な限り全ゲノムシーケンスデータを採取し、それを元に遺伝子レベルでの薬剤耐性データを集め、国内外での報告に資する基盤データを作成することを目的とした。昨年度の準備を経て、今年度は各分担研究者から収集菌株あるいは精製DNAを収集し、全ゲノムシーケンスを作成するとともに個別に解析したゲノムデータを収集した。今後、データをさらに蓄積するとともに、それらを用いて基盤データのフォーマットを確定させる予定である。

サルモネラに関しては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、2015年～2020年分離株と同様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。大腸菌については下痢原性大腸菌の方がEHECより薬剤耐性率は高く、多剤耐性傾向を示した。*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。国産鶏肉と輸入鶏肉から分離された大腸菌の薬剤耐性パターンは異なり、国産ではABPC, KM, SM, TC, ST, CP, FOM, NA, CPFX, NFLX, OFLXであったのに対し、輸入ではCTX, CFX, GMのみであった。腸内細菌科細菌ESBL遺伝子の探索結果でも国産鶏肉の方が輸入鶏肉より多く検出されており、今後、全ゲノムデータの解析によって耐性遺伝子の違いが浮き彫りになると考えられる。食鳥処理場及び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、大腸菌から*mcr-1*遺伝子及び*mcr-3*遺伝子は検出されたが低率(各年、動物種毎に、いずれも5%以下)であった。鶏肉からの薬剤耐性腸球菌については、VanN型VRE株が国産鶏肉4検体(8%)か

ら検出されているが、ヒトで多く認められるVanAやVanBは検出されなかった。しかしリネゾリド耐性腸球菌(*optrA*陽性株)が国内産鶏肉11検体(22%)検出されている。ヒト由来VREではリネゾリド耐性株は依然として少ないため、今後ヒトに移行しないかを継続してモニターする必要があると考えられた。と畜場での豚耳検体からは関東、東海等地域を問わずMRSAが検出された。薬剤感受性検査結果からLA-MRSAが疑われている。今後、全ゲノムシーケンス結果に基づき、その性状を明らかにしてゆく必要がある。

F. 健康危険情報

特記すべき事項なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) 国内合計 0件
- (2) 海外合計 13件
 - 1) Kawahara R, Watahiki M, Matsumoto Y, Uchida K, Noda M, Masuda K, Fukuda C, Abe Y, Asano Y, Oishi K, Shibayama K, Shinomiya H. Subtype Screening of blaIMP Genes Using Bipartite Primers for DNA Sequencing. *Jpn J Infect Dis.* 2021, 74(6):592-599.
 - 2) Sasaki Y, Kakizawa H, Baba Y, Ito T, Harema Y, Yonemichi M, Ikeda T, Kuroda M, Ohya K, Hara-Kudo Y, Asai T, Asakura H. Antimicrobial resistance in *Salmonella* isolated from food workers and chicken products in Japan. *Antibiotics (Basel).* 2021. 10(12):1541.
 - 3) Kurushima J, Tomita H. Inactivation of GalU Leads to a Cell Wall-Associated Polysaccharide Defect That Reduces the Susceptibility of *Enterococcus faecalis* to Bacteriolytic Agents. *Appl Environ Microbiol.* 87(7):e02875-20. (2021).
 - 4) Hirakawa H, Takita A, Uchida M, Kaneko Y, Kakishima Y, Tanimoto K, Kamitani W, Tomita H. Adsorption of Phenazines Produced by *Pseudomonas aeruginosa* Using AST-120 Decreases Pyocyanin-Associated Cytotoxicity. *Antibiotics (Basel).* 10(4):434. (2021).
 - 5) Hirakawa H, Suzue K, Takita A, Kamitani W, Tomita H. Roles of OmpX, an Outer Membrane Protein, on Virulence and Flagellar Expression in Uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun.* 89(6):e00721-20. (2021).

- 6) Hirakawa H, Suzue K, Takita A, Tomita H. Roles of OmpA in Type III Secretion System-Mediated Virulence of Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Pathogens*. 10(11):1496. (2021).
- 7) Hirakawa H, Bordi C, Tomita H. Gram-Negative Pathogenesis. *Front Microbiol*. 12:813062. (2021).
- 8) Hashimoto Y, Hisatsune J, Suzuki M, Kurushima J, Nomura T, Hirakawa H, Kojima N, Ono Y, Hasegawa Y, Tanimoto K, Sugai M, Tomita H. Elucidation of host diversity of the VanD-carrying genomic islands in enterococci and anaerobes. *JAC Antimicrob Resist*. 4(1):dlab189. (2022).
- 9) Hirakawa H, Suzue K, Tomita H. Roles of the Tol/Pal System in Bacterial Pathogenesis and Its Application to Antibacterial Therapy. *Vaccines (Basel)*. 10(3):422. (2022).
- 10) 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.
- 11) Matsui K, Nakazawa C, Thiri Maung Maung Khin S, Iwabuchi E, Asai T, Ishihara K. Molecular characteristics and antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* serovar Schwarzengrund from chicken meat in Japan. *Antibiotics*. 10(11):1336, 2021.
- 12) Odoi JO, Takayanagi S, Yossapol M, Sugiyama M, Asai T. Third-generation cephalosporin resistance in intrinsic colistin-resistant *Enterobacterales* isolated from retail meat. *Antibiotics*. 10(12):1437, 2021.
- 13) Manao Ozawa, Yukari Furuya, Ryoko Akama, Saki Harada, Mari Matsuda, Hitoshi Abo, Takahiro Shirakawa, Michiko Kawanishi, Eiji Yoshida, Minako Furuno, Hisae Fukuhara, Kazufumi Kasuya, Yoko Shimazaki. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from pigs in Japan (投稿中)
2. 学会発表など
- (1) 学会発表
- 1) 山本詩織、石井良和、朝倉宏. 国内流通鶏肉における ESBL 産生大腸菌並びにサルモネラ属菌の検出状況と分離菌株の遺伝的性状解析. 第42回日本食品微生物学会学術総会.
- 2) 百瀬愛佳、佐々木貴正、米満研三、朝倉宏. 国産鶏肉における第三世代セファロスポリン耐性サルモネラ汚染の低下と血清型 Schwarzengrund の占有率増加. 日本食品衛生学会第117回学術講演会.
- 3) 佐々木貴正、浅井鉄夫、朝倉宏. 国産肥育牛のカンピロバクター感染状況と薬剤耐性 (第14回日本カンピロバクター研究会総会 (2021年9月24日、WEB 開催、国産肥育牛のカンピロバクター感染率と薬剤耐性状況について報告した。)
- 4) 浅井鉄夫 家畜や愛玩動物に分布する薬剤耐性菌 (第91回日本感染症学会西日本地方会学術集会、第64回日本感染症学会中日本地方会学術集会、第69回日本化学療法学会西日本支部総会 合同学会、令和3年11月6日、岐阜、家畜と愛玩動物における薬剤耐性菌の現状について概説した。)
- 5) 浅井鉄夫 動物分野における薬剤耐性菌の対策と課題 (第14回日本医師会・日本獣医師会による連携シンポジウム、令和3年11月30日、WEB 開催、ワンヘルスアプローチで取り組む薬剤耐性菌対策として、AMR 対策アクションプランの成果と課題について獣医学領域から概説した。)
- 6) 小澤真名緒、原田咲、阿保均、古谷ゆかり、赤間亮子、白川崇大、松田真理、川西路子、嶋崎洋子. 「健康家畜由来大腸菌におけるコリスチン耐性遺伝子の保有状況について」第164回日本獣医学会学術集会 (2021年9月、オンライン開催)
- 7) 菅井基行、長期療養型施設における薬剤耐性菌サーベイランスを通して見た疾病負荷評価の試み、第95回日本感染症学会学術講演会第69回日本化学療法学会総会合同学会、シンポジウム、2021.05.07 国内、口頭
- 8) 菅井基行、JARBS —JANIS とリンクした薬剤耐性菌サーベイランス—、第95回日本感染症学会学術講演会第69回日本化学療法学会総会合同学会、教育講演、2021.05.07 国内、口頭
- 9) 菅井基行、薬剤耐性菌について—院内感染症に関連する耐性菌—、令和3年度感染制御専門薬剤師講習会、2021.07.03 国内、口頭
- 10) 菅井基行、JARBS 研究の最終報告結果について、令和3年度 全国国立病院長協議会感染対策委員会、2021.10.21 国内、口頭
- 11) 菅井基行、Our challenges to stop AMR from becoming a silent pandemic in Japan, Invitation as Resource Person for Indonesia G20 Presidency, 2021.10.29. 国外 (インドネシア)、口頭
- 12) 菅井基行、日本の薬剤耐性菌の動向、日本ファージセラピー研究会、2021.11.13 国内、口頭
- 13) 菅井基行、AMR surveillance in policy decisions at the national and hospital level in Japan, Stewards for the future One Region, One Movement to Fight Antimicrobial Resistance (WHO Western Pacific Region), 2021.11.30 国外 (フィリピン)

ン)、口頭

- 14) 菅井基行、Presentation of WHO CCs work and their collaboration with WHO, Stewards for the future One Region, One Movement to Fight Antimicrobial Resistance (WHO Western Pacific Region), 2021.11.30 国外(フィリピン)、口頭
- 15) Yahara K., Hirabayashi A., Kajihara T., Shibayama K., Sugai M. Impact of the COVID19 pandemic on the surveillance of antimicrobial resistance. The 15th China-Japan-Korea Forum for Communicable Disease Control and Prevention, 2021.12.10, Web 口頭
- 16) 菅井基行、日本が支援する継続的な国際協力の一例—AMR サーベイランス、薬剤耐性：将来のグローバル健康危機 日本ができること,AMR Alliance Japan, 2022.01.13 国内 口頭
- 17) 菅井基行、JANIS にリンクした薬剤耐性菌サーベイランス—JARBS 結果報告—、第33回日本臨床微生物学会、2022.01.28 国内 口頭
- 18) 菅井基行、AMR アクションプラン—2020年までの振り返り、反省、次に向けての課題—、第33回日本臨床微生物学会、2022.01.29 国内 口頭
- 19) 菅井基行、National One-Health Genomic-based Surveillance in Japan, The Tokyo AMR One-Health Conference 2022, 2022.02.17 国内 口頭
- 20) 菅井基行、人—動物—環境における薬剤耐性菌、岐阜大学連合獣医学部市民公開講座、2022.03.02 国内 口頭

(2) 業界関係者向け説明会

- 1) 浅井鉄夫 次期アクションプランの動物分野の数値目標について(「AMR 対策の数値目標を検討するラウンドテーブル」、令和3年6月30日、WEB 開催、AMR アライアンス・ジャパン、AMR 対策アクションプランの成果と課題について獣医学領域から概説した。)
- 2) 浅井鉄夫 動物分野における抗菌薬使用—現状と今後の課題(「将来への投資~AMR から世界を救うために求められる投資家の役割~」令和3年9月8日、WEB 開催、AMR アライアンス・ジャパン、家畜における薬剤耐性菌と抗菌剤使用の現状について概説した。)

(3) 行政関係者向け説明会

- 1) 浅井鉄夫 動物分野における抗菌薬の適正使用について(「次期 AMR アクションプラン策定作業部会」における有識者ヒアリング、令和3年11月14日、WEB 開催、不明、PwC コンサルティング合同会社、動物分野の抗菌剤の慎重使用に関する現状と課題を概説した。)

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

ワンヘルスに基づく食品由来薬剤耐性菌のサーベイランス
体制強化のための研究

分担課題 全国地研ネットワークに基づく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

山上剛志、高橋洋平、橋本恭奈
佐藤千鶴子、山谷聡子、渡邊 節、
椎名麻衣

(青森県環境保健センター)

(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)

鈴木美雪、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、磯部順子

(富山県衛生研究所)

東方美保、永田暁洋、横山孝治、

(福井県衛生環境研究センター)

石森治樹、岩崎理美

柴田伸一郎、梅田俊太郎

(名古屋市衛生研究所)

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、田野貴仁

(堺市衛生研究所)

齋藤悦子、荻田堅一

(兵庫県立健康科学研究所)

川上優太、林 宏樹、野村亮二

(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)

蔵田和正、佐藤香緒里、池田伸代、

(広島市衛生研究所)

末永朱美、大原有希絵

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)

目黒響子

大羽広宣、藤崎道子、上野可南子

(北九州市保健環境研究所)

浅野由紀子、氏家絢子、矢儀田優佳、

(愛媛県立衛生環境研究所)

青木紀子

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。先行研究班で構築された地方衛生研究所（以下、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（2021年）分離株において、サルモネラに関しては、ヒト由来 146 株中の 46 株(31.5%)、及び食品由来 140 株中の 121 株(86.4%)が、17 剤中の 1 剤以上に耐性を示した。これらは、2015 年～2020 年に分離されたヒト由来計 1,947 株の耐性率(39.8%)、及び食品由来計 715 株の耐性率(91.0%)とそれぞれ近似で、現在の日本の状況を反映していると考えられる。2021 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 *S. Schwarzengrund* の占める割合が 2015 年～2020 年よりも高かったが、

耐性傾向は大きくは異なっていなかった。一方、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るため、血清型別の耐性率を経年的に比較した。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、2015年～2020年分離株と同様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。一方、大腸菌については、2021年分離のヒト由来 330 株中の 113 株 (34.2%)、及び食品由来 34 株中の 24 株(70.6%)が 1 剤以上に耐性を示し、2015年～2020年分離株の結果と近似であった。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、2021年分離の *C. jejuni* (137 株)と *C. coli* (11 株)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、2017年～2020年分離のサルモネラ株(1415 株)を対象に、研究代表者である国立感染症研究所薬剤耐性研究センターと共同でゲノム解析を進め、14 地研の 725 株(ヒト由来 379 株、食品由来 346 株)についてゲノム解析の同意が得られた。さらに、食品由来 156 株について耐性菌バンクへの提供が同意された。本分担任で取得された薬剤耐性データは、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、ゲノム解析情報と合わせて食品由来薬剤耐性菌の動向把握や対策に寄与している。

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いる。食品由来耐性菌に関する前々回研究班(2015～2017 年度)及び前回研究班(2018～2020 年度)において、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、全国の地研で統一されたプロトコルや判定表に基づいて実施する体制を構築し、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」に提供される。加えて、薬剤耐性菌のゲノム解析を進め、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. 調査対象菌株

薬剤感受性検査としては、2021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。ゲノム解析としては、2017年～2020年に分離され、前々回、前回研究班で薬剤感受性試験を実施済みのサルモネラ株(1415 株)を対象とした。

2. 薬剤感受性検査

協力 20 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、2017 年度(サルモネラ、

大腸菌)、2018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 EAaggEC、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

2021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、各血清型毎に2015年～2020年分離株と比較した。

5. 薬剤耐性菌のゲノム解析と薬剤耐性菌バンクへの提供

前々回研究班、前回研究班(2017年～2020年)で収集したヒト(患者)及び食品由来のサルモネラ株を対象に、同意の得られた地研の菌株について、本研究班代表の国立感染症研究所(感染研)薬剤耐性研究センターと共同して、次世代シーケンサー(NGS)によるゲノム解析を実施した。同意の得られたゲノムデータと菌株を薬剤耐性菌バンクで保管し、同意が得られなかった菌株はゲノム解析後に廃棄した。地研の同意については、あらかじめ研究分担者である愛媛県立衛生環境研究所から協力地研に意向調査を行った(末尾に同意回答書を添付)。

倫理面への配慮

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

C. 研究結果

1. ヒト及び食品から分離されたサルモネラの内訳と血清型

2021年に収集されたサルモネラは、ヒト由来146株、食品由来140株、総計286株で、それぞれの内訳と耐性率を表1及び表2に示す。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31.5%、食品由来株86.4%で、前回研究班のこれまでの結果と同様であった。2021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Others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～2021年に収集されたヒト由来2,093株及び食品由来855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、KM, SM, TC, ST, NA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、2021年分離の食品由来株では例年よりやや低い傾向であった。一方、アミノグリコシド系薬GM, AMK、キノロン系薬CPFX, 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が、2021年分離の食品由来株でMEPM耐性が2.1%検出された。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2株、食品由来5株)を図2に示す。食品由来5株中の4株は、国産鶏肉由来であった。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3株、食品由来4株)を図3に示す。

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～2021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（855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132株の耐性率を図4に示す。これらの菌株には共通する点が多いが、それぞれの血清型に特徴的な点も認められた。すなわち、*S. Schwarzengrund* ではABPC耐性が低く、*S. Manhattan* ではKM耐性が認められなかった。これらの傾向は全体としては、前回研究班の報告書で示した2015年～2020年分離株での傾向とほぼ同様であった。

一方、2015年～2021年に収集されたヒト由来2,093株中の上位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78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が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耐性率は低いですがSM, TC耐性率は高かった。一方、鶏肉よりも鶏卵から分離される *S. Enteritidis* ではSM, TC耐性率は低く、2021年分離株から初めてCPFX耐性菌が検出された。食品からの分離が少ない *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、2015年～2020年分離株での傾向と同様であった。

次に、2021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類似していた。この点についても、2015年～2020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

2021年分離のヒト由来大腸菌330株のうち、17剤中の1剤以上に耐性を示した株は113株で、耐性率は34.2%であった（表14）。大腸菌株の分類別耐性率は、EHEC 32.4%、EHEC以外の下痢原性大腸菌 41.2%、その他 52.2%であり、EHEC以外の下痢原性大腸菌株とその他の大腸菌の耐性率が例年よりも低い傾向であった。一方、食品（牛肉、鶏肉など）由来株34株のうち、24株が1剤以上に耐性で（耐性率70.6%）、例年よりも高い傾向であった。

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、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、多くの抗菌剤に対して、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、2021年分離の *C. jejuni* (137株)と *C. coli* (11株)について、例年と同様の耐性傾向であった。*C. jejuni*、*C. coli* 共にヒト由来株と食品由来株の耐性傾向に強い類似性があり、食品由来耐性菌とヒト由来耐性菌との関連が強く示唆された（表15、図9）。*C. coli* は菌株数が多くないが、ヒト由来株、食品由来株とも、EM, CPF, NAに対する耐性率が *C. jejuni* よりも高い傾向を示した。

7. 薬剤耐性菌のゲノム解析と薬剤耐性菌バンクへの提供

前々回研究班、前回研究班（2017年～2020年）で収集したヒト由来サルモネラ984株及び食品由来サルモネラ431株のうち、ヒト由来サルモネラ379株及び食品由来サルモネラ346株の計725株についてゲノム解析の同意が得られ、2021年度中に感染研に菌株が送付された。これらの菌株については、ゲノム解析され、データベースに登録される予定である。また、食品由来156株について、耐性菌バンクに提供・保管の同意が得られた。

D. 考察

前々回、前回研究班での調査に引き続き、全国 20 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、2021 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（146 株）は 31.5%、食品由来株（140 株）は 86.4%が、1 剤以上の抗菌剤に耐性を示した。2015 年～2021 年の年次毎の耐性率はほぼ同様で、現在の日本における状況を反映していると考えられる。ヒト由来株の血清型は非常に多様で多くの型が含まれていたが、食品由来株は 5 種類の型が 97%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、2021 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 2 株、食品由来株中 5 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。

2021 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。鶏肉からも分離される *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は、*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, CPF, 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、2017 年～2020 年分離のサルモネラ株（1415 株）を対象に、研究代表者である感染研と共同でゲノム解析を進め、14 地研の 725 株（ヒト由来 379 株、食品由来 346 株）についてゲノム解析の同意が得られた。さらに、食品由来 156 株について耐性菌バンクへの提供が同意された。

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。これらの結果をワンヘルス・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 20 地研の協力を得て、2021 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～2020 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 JVARМ など既存の薬剤耐性データベースと統合し、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を期待される。

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) Kawahara R, Watahiki M, Matsumoto Y, Uchida K, Noda M, Masuda K, Fukuda C, Abe Y, Asano Y, Oishi K, Shibayama K, Shinomiya H. Subtype Screening of blaIMP Genes Using Bipartite Primers for DNA Sequencing. Jpn J Infect Dis. 2021, 74(6):592-599.

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

菅井班地研グループ同意回答書

ゲノムデータと菌株情報の使用に関する回答書

(菌株を薬剤耐性菌バンクに提供しない場合)

当施設から国立感染症研究所 薬剤耐性研究センターへ輸送したヒト及び食品由来サルモネラ菌株につき、NGS 解析後に廃棄したうえで、ゲノムデータ及び菌株情報について下記の条件で使用することに同意します (該当する項目にチェックを入れてください)。

菌種名・薬剤感受性試験結果・分離された県名・由来検体・分離年・菌株のゲノム情報について、公共データベースへの登録および公開に同意する

誓約事項：分離された医療施設名および個人情報などは一切公開されません。

はい いいえ

※県名について同意頂けない場合は「県名」としてください。

ゲノムデータ及び菌株情報を国立感染症研究所で実施する薬剤耐性に関する個別研究で使用してもよい

誓約事項：新たな研究成果が得られた場合には貴施設に報告し、学会、論文等で成果発表する場合は事前に連絡し、必要に応じてオーナーシップ等について協議します。

はい いいえ

2021 年 月 日

施設名

お名前 (施設長)

印

実務担当者のお名前

実務担当者の E-mail アドレスおよび電話番号

E-mail

TEL

菌株使用に関する回答書

(菌株を薬剤耐性菌バンクに提供する場合)

当施設から国立感染症研究所 薬剤耐性研究センターへ輸送した食品由来サルモネラ菌株につき、国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター内に設置されている薬剤耐性菌バンクにて管理するとともに、下記の条件で使用することに同意します（該当する項目にチェックを入れてください）。

菌種名・薬剤感受性試験結果・分離された県名・由来検体・分離年・菌株のゲノム情報について、公共データベースへの登録および公開に同意する

誓約事項：分離された医療施設名および個人情報などは一切公開されません。

はい いいえ

※県名について同意頂けない場合は「県名」としてください。

菌株を国立感染症研究所で実施する薬剤耐性に関する個別研究で使用してもよい

誓約事項：新たな研究成果が得られた場合には貴施設に報告し、学会、論文等で成果発表する場合は事前に連絡し、必要に応じてオーサーシップ等について協議します。

はい いいえ

菌株を大学、地方衛生研究所、製薬企業等、研究機関へ分与してもよい

誓約事項：分与は菌株のみとし、個人や分離医療機関が特定できる情報は提供しません。また、分与した株の再分与は一切禁止と致します（使用目的は、国立感染症研究所及び分与を受ける研究機関にご一任いただきたくお願いいたします）。

はい いいえ

2021年 月 日

施設名

お名前（施設長）

印

実務担当者のお名前

実務担当者のE-mailアドレスおよび電話番号

E-mail

TEL

表 1. ヒト及び食品由来サルモネラ株の薬剤耐性状況

(2021 年分離株* n=286)

(2022/3/1 時点)

| 由来 | 菌株数 | 耐性菌株数# | 耐性率 | |
|------|--------|--------|-------|--------|
| ヒト由来 | 146 | 46 | 31.5% | |
| 食品由来 | 140 | 121 | 86.4% | |
| 内訳 | 国産鶏肉 | 134 | 115 | 85.8% |
| | 外国産鶏肉 | 3 | 3 | 100.0% |
| | その他・不明 | 3 | 3 | 100.0% |

*2021 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

(2021 年分離株 n=146)

(2022/3/1 時点)

| 検体名 | 菌株数 | 耐性菌株数 | 耐性率 |
|-----|-----|-------|--------|
| 糞便 | 103 | 38 | 36.9% |
| 血液 | 10 | 1 | 10.0% |
| 尿 | 3 | 3 | 100.0% |
| 菌株 | 30 | 4 | 13.3% |
| 合計 | 146 | 46 | 31.5% |

図 1. ヒト及び食品由来サルモネラ株の血清型(2021 年分離株)

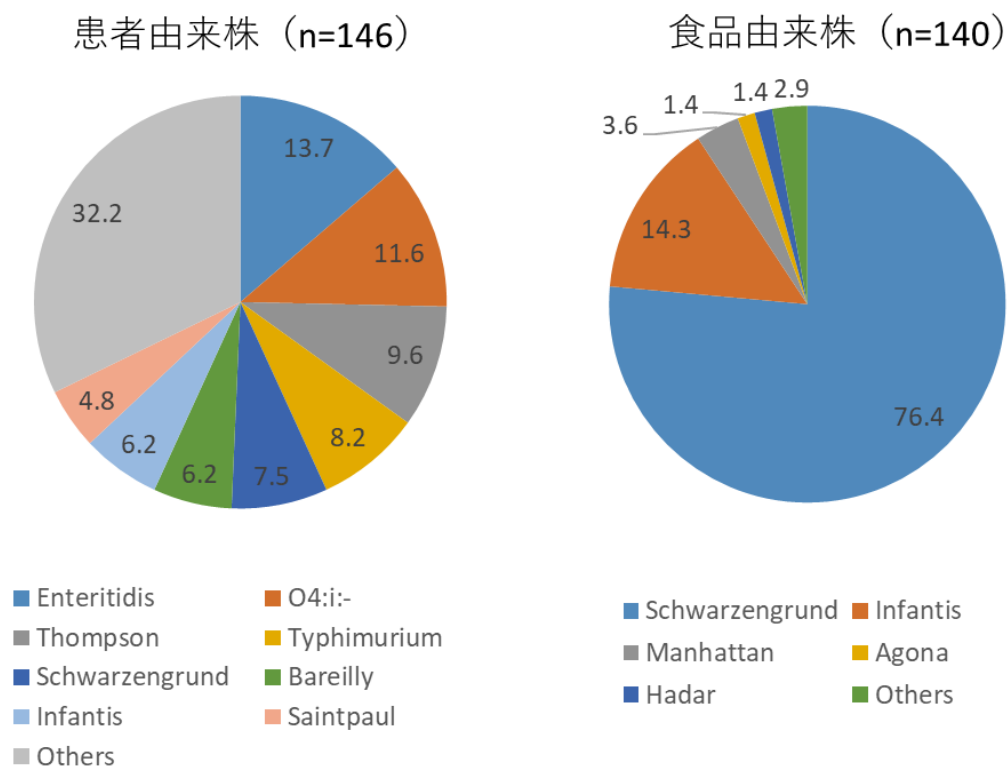


表 3. ヒト由来 non-typhoidal *Salmonella* spp.の耐性率(2015-2021 年)

| | 2015 (n=387) | 2016 (n=360) | 2017 (n=409) | 2018 (n=315) | 2019 (n=265) | 2020 (n=211) | 2021 (n=146) | 合計 (n=2093) |
|---------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|----------------|
| ABPC | 17.3 | 18.1 | 15.6 | 19.4 | 14.7 | 14.7 | 12.3 | 16.5 |
| GM | 0.3 | 0.6 | 0.7 | 0.6 | 1.5 | 0.5 | 0.7 | 0.7 |
| KM | 5.9 | 11.7 | 7.3 | 8.3 | 6.4 | 6.2 | 7.5 | 7.7 |
| SM | 27.4 | 30.0 | 26.4 | 29.2 | 23.8 | 25.6 | 21.9 | 26.9 |
| TC | 32.6 | 29.2 | 27.1 | 25.4 | 22.6 | 26.1 | 21.9 | 27.2 |
| ST | 4.4 | 6.7 | 7.8 | 6.3 | 3.4 | 9.0 | 4.8 | 6.1 |
| CP | 2.3 | 6.4 | 5.1 | 6.0 | 5.3 | 5.2 | 5.5 | 5.0 |
| CTX | 0.3 | 2.5 | 3.2 | 3.2 | 1.5 | 0.9 | 2.1 | 2.0 |
| CAZ | 0.3 | 2.2 | 1.7 | 1.9 | 0.8 | 0.9 | 1.4 | 1.3 |
| CFX | 0.0 | 1.4 | 0.5 | 0.6 | 0.0 | 0.9 | 1.4 | 0.6 |
| FOM | 0.0 | 0.3 | 0.2 | 0.3 | 0.4 | 0.5 | 0.0 | 0.2 |
| NA | 7.0 | 8.1 | 8.8 | 5.7 | 4.2 | 5.2 | 5.5 | 6.7 |
| CPFX | 0.3 | 0.8 | 1.7 | 0.3 | 0.4 | 0.0 | 1.4 | 0.7 |
| NFLX | 0.3 | 0.8 | 0.5 | 0.0 | 0.8 | 0.0 | 0.0 | 0.4 |
| AMK | 0.0 | 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 | 0.7 | 0.0 |
| MEPM | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.5 | 0.0 | 0.0 |
| 1剤以上耐性数 | 164 | 161 | 152 | 125 | 89 | 83 | 46 | 820 |
| 1剤以上耐性率 | 42.4 | 44.7 | 37.2 | 39.7 | 33.6 | 39.3 | 31.5 | 39.2 |

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(2015-2021 年)

| | 2015 (n=156) | 2016 (n=110) | 2017 (n=86) | 2018 (n=108) | 2019 (n=126) | 2020 (n=129) | 2021 (n=140) | 合計 (n=855) |
|---------|-----------------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|---------------|
| ABPC | 17.9 | 13.6 | 11.6 | 12.0 | 11.1 | 12.4 | 5.0 | 12.0 |
| GM | 0.0 | 0.9 | 1.2 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.7 | 0.4 |
| KM | 48.1 | 47.3 | 45.3 | 50.0 | 57.1 | 65.9 | 62.9 | 54.4 |
| SM | 82.7 | 70.9 | 69.8 | 77.8 | 64.3 | 70.5 | 71.4 | 72.9 |
| TC | 85.9 | 76.4 | 73.3 | 78.7 | 70.6 | 82.9 | 80.7 | 78.9 |
| ST | 19.9 | 16.4 | 12.8 | 38.0 | 25.4 | 24.8 | 15.7 | 21.9 |
| CP | 7.1 | 10.0 | 2.3 | 8.3 | 4.0 | 7.0 | 4.3 | 6.2 |
| CTX | 5.1 | 5.5 | 8.1 | 6.5 | 6.3 | 4.7 | 1.4 | 5.1 |
| CAZ | 4.5 | 6.4 | 8.1 | 6.5 | 4.8 | 3.9 | 0.0 | 4.6 |
| CFX | 2.6 | 3.6 | 8.1 | 4.6 | 5.6 | 5.4 | 2.1 | 4.3 |
| FOM | 0.0 | 0.9 | 1.2 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.2 |
| NA | 18.6 | 18.2 | 14.0 | 16.7 | 27.0 | 23.3 | 20.0 | 20.0 |
| CPFX | 0.0 | 0.9 | 1.2 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.2 |
| NFLX | 0.0 | 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 | 0.0 |
| IPM | 0.0 | 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 | 2.1 | 0.4 |
| 1剤以上耐性数 | 143 | 96 | 77 | 98 | 113 | 124 | 121 | 772 |
| 1剤以上耐性率 | 91.7 | 87.3 | 89.5 | 90.7 | 89.7 | 96.1 | 86.4 | 90.3 |

各年 1 月~12 月に分離された菌株

図 2. 6 剤以上に耐性を示したサルモネラ株(2021 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 |
|------|-------|------|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|----|------|------|-----|-----|------|
| 2021 | 8 | R | S | S | R | R | S | R | R | R | R | S | R | I | S | S | S | S |
| 2021 | 10 | R | R | I | R | R | R | R | R | R | R | S | R | I | S | S | S | S |

食品由来株

| 分離年 | 薬剤耐性数 | ABPC | GM | KM | SM | TC | ST | CP | CTX | CAZ | CFX | FOM | NA | CPFX | NFLX | AMK | IPM | MEPM |
|------|-------|------|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|-----|----|------|------|-----|-----|------|
| 2021 | 6 | R | S | R | S | R | S | S | R | S | R | I | R | I | S | S | S | S |
| 2021 | 6 | S | S | R | R | R | R | S | S | S | I | S | R | I | S | S | I | R |
| 2021 | 6 | I | S | R | R | R | S | I | S | S | R | S | R | I | S | S | S | R |
| 2021 | 7 | R | S | R | R | R | R | R | S | S | S | S | R | I | S | S | S | S |
| 2021 | 7 | R | S | R | R | R | R | R | S | S | S | 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(2021 年分離株)

ヒト由来株

| 分離年 | 耐性薬剤数 | CTX | CAZ | CFX |
|------|-------|-----|-----|-----|
| 2021 | 10 | R | R | R |
| 2021 | 8 | R | R | R |
| 2021 | 2 | R | S | S |

食品由来株

| 分離年 | 薬剤耐性数 | CTX | CAZ | CFX |
|------|-------|-----|-----|-----|
| 2021 | 6 | R | S | R |
| 2021 | 5 | R | S | S |
| 2021 | 4 | I | S | R |
| 2021 | 6 | S | S | R |

表 5. 食品由来 *S. Infantis* の耐性率(2015-2021 年)

| | 2015 (n=65) | 2016 (n=33) | 2017 (n=19) | 2018 (n=27) | 2019 (n=24) | 2020 (n=8) | 2021 (n=20) | 合計 (n=196) |
|---------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|----------------|---------------|
| ABPC | 10.8 | 12.1 | 5.3 | 14.8 | 8.3 | 37.5 | 10.0 | 11.7 |
| GM | 0.0 | 3.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.5 |
| KM | 46.2 | 42.4 | 15.8 | 33.3 | 37.5 | 62.5 | 35.0 | 39.3 |
| SM | 81.5 | 72.7 | 68.4 | 85.2 | 58.3 | 50.0 | 60.0 | 73.0 |
| TC | 89.2 | 81.8 | 68.4 | 85.2 | 58.3 | 37.5 | 70.0 | 77.6 |
| ST | 18.5 | 30.3 | 0.0 | 44.4 | 12.5 | 0.0 | 30.0 | 21.9 |
| CP | 3.1 | 3.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 12.5 | 5.0 | 2.6 |
| CTX | 4.6 | 6.1 | 5.3 | 11.1 | 8.3 | 12.5 | 0.0 | 6.1 |
| CAZ | 3.1 | 9.1 | 5.3 | 11.1 | 0.0 | 12.5 | 0.0 | 5.1 |
| CFX | 4.6 | 9.1 | 5.3 | 14.8 | 8.3 | 25.0 | 5.0 | 8.2 |
| FOM | 0.0 | 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 | 15.0 | 6.6 |
| CPFX | 0.0 | 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 | 0.0 |
| AMK | 0.0 | 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 | 0.0 |
| MEPM | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 1剤以上耐性数 | 61 | 29 | 15 | 24 | 19 | 7 | 16 | 171 |
| 1剤以上耐性率 | 93.8 | 87.9 | 78.9 | 88.9 | 79.2 | 87.5 | 80.0 | 87.2 |

各年 1 月~12 月に分離された菌株

表 6. 食品由来 *S. Schwarzengrund* の耐性率(2015-2021 年)

| | 2015 (n=47) | 2016 (n=38) | 2017 (n=45) | 2018 (n=51) | 2019 (n=66) | 2020 (n=95) | 2021 (n=107) | 合計 (n=449) |
|---------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|---------------|
| ABPC | 17.0 | 5.3 | 0.0 | 7.8 | 3.0 | 5.3 | 1.9 | 5.1 |
| GM | 0.0 | 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 | 73.7 | 72.0 | 79.5 |
| SM | 93.6 | 78.9 | 82.2 | 76.5 | 74.2 | 80.0 | 73.8 | 78.8 |
| TC | 95.7 | 84.2 | 80.0 | 86.3 | 81.8 | 93.7 | 83.2 | 86.6 |
| ST | 36.2 | 18.4 | 24.4 | 56.9 | 43.9 | 30.5 | 14.0 | 30.5 |
| CP | 19.1 | 13.2 | 4.4 | 9.8 | 6.1 | 5.3 | 4.7 | 7.8 |
| CTX | 0.0 | 0.0 | 2.2 | 0.0 | 0.0 | 1.1 | 0.9 | 0.7 |
| CAZ | 0.0 | 0.0 | 2.2 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.2 |
| CFX | 0.0 | 0.0 | 2.2 | 0.0 | 0.0 | 1.1 | 0.9 | 0.7 |
| FOM | 0.0 | 2.6 | 2.2 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.4 |
| NA | 25.5 | 21.1 | 6.7 | 23.5 | 27.3 | 20.0 | 18.7 | 20.5 |
| CPFX | 0.0 | 2.6 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.2 |
| NFLX | 0.0 | 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 | 0.0 |
| IPM | 0.0 | 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 | 2.8 | 0.7 |
| 1剤以上耐性数 | 47 | 38 | 45 | 49 | 65 | 94 | 93 | 431 |
| 1剤以上耐性率 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 96.1 | 98.5 | 98.9 | 86.9 | 96.0 |

各年 1 月~12 月に分離された菌株

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(2021 年分離株 n=132)

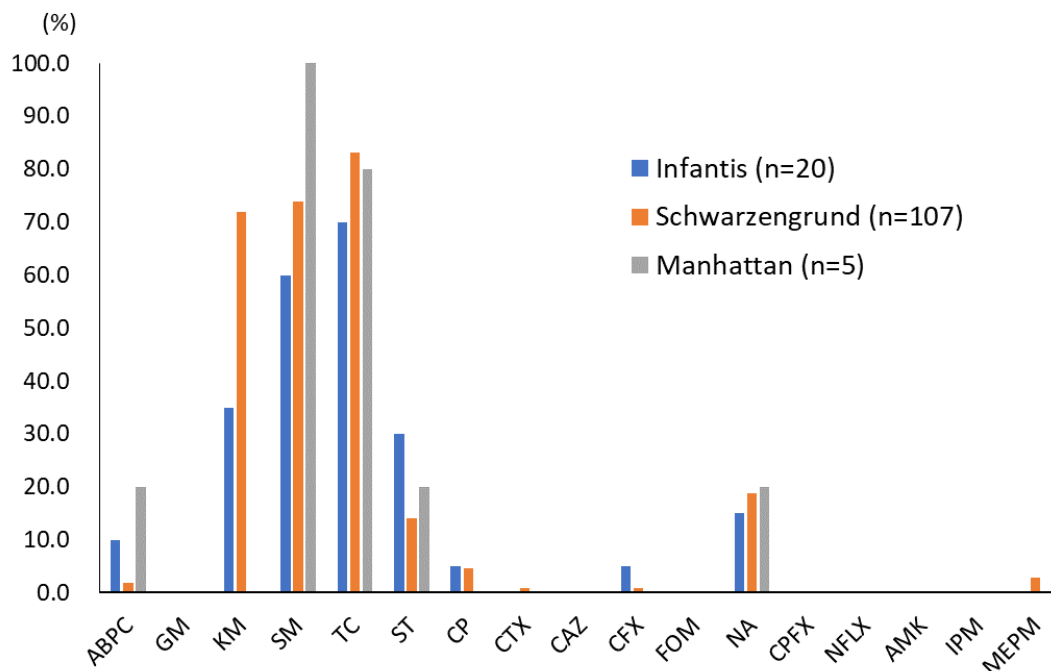


表 7. ヒト由来 *S. Infantis* の耐性率(2015-2021 年)

| | 2015 (n=34) | 2016 (n=48) | 2017 (n=48) | 2018 (n=22) | 2019 (n=16) | 2020 (n=19) | 2021 (n=9) | 合計 (n=196) |
|---------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|---------------|
| ABPC | 0.0 | 2.1 | 0.0 | 9.1 | 6.3 | 5.3 | 0.0 | 2.6 |
| GM | 0.0 | 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 | 11.1 | 13.3 |
| SM | 29.4 | 33.3 | 20.8 | 50.0 | 31.3 | 26.3 | 22.2 | 30.1 |
| TC | 47.1 | 33.3 | 22.9 | 54.5 | 37.5 | 47.4 | 22.2 | 36.7 |
| ST | 14.7 | 14.6 | 2.1 | 18.2 | 0.0 | 21.1 | 0.0 | 10.7 |
| CP | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 9.1 | 6.3 | 5.3 | 0.0 | 2.0 |
| CTX | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 4.5 | 6.3 | 5.3 | 0.0 | 1.5 |
| CAZ | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 5.3 | 0.0 | 0.5 |
| CFX | 0.0 | 2.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 5.3 | 0.0 | 1.0 |
| FOM | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 6.3 | 0.0 | 0.0 | 0.5 |
| NA | 8.8 | 4.2 | 8.3 | 0.0 | 12.5 | 5.3 | 11.1 | 6.6 |
| CPF | 0.0 | 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 | 0.0 |
| AMK | 0.0 | 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 | 0.0 |
| MEPM | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 1剤以上耐性数 | 16 | 22 | 11 | 13 | 6 | 11 | 2 | 81 |
| 1剤以上耐性率 | 47.1 | 45.8 | 22.9 | 59.1 | 37.5 | 57.9 | 22.2 | 41.3 |

各年 1 月~12 月に分離された菌株

表 8. ヒト由来 *S. Enteritidis* の耐性率(2015-2021 年)

| | 2015 (n=39) | 2016 (n=41) | 2017 (n=50) | 2018 (n=43) | 2019 (n=37) | 2020 (n=35) | 2021 (n=20) | 合計 (n=265) |
|---------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|
| ABPC | 5.1 | 19.5 | 6.0 | 7.0 | 5.4 | 0.0 | 0.0 | 6.8 |
| GM | 0.0 | 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 | 0.0 | 0.8 |
| SM | 12.8 | 12.2 | 14.0 | 14.0 | 5.4 | 2.9 | 0.0 | 9.8 |
| TC | 10.3 | 2.4 | 6.0 | 9.3 | 5.4 | 2.9 | 0.0 | 5.7 |
| ST | 5.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 5.7 | 0.0 | 1.5 |
| CP | 2.6 | 0.0 | 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 | 5.0 | 0.8 |
| CAZ | 0.0 | 2.4 | 0.0 | 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 | 0.0 |
| FOM | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 2.3 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.4 |
| NA | 10.3 | 26.8 | 14.0 | 25.6 | 10.8 | 14.3 | 15.0 | 17.0 |
| CPFX | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 5.0 | 0.4 |
| NFLX | 0.0 | 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 | 0.0 |
| IPM | 0.0 | 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 | 0.0 |
| 1剤以上耐性数 | 13 | 16 | 13 | 16 | 7 | 9 | 4 | 78 |
| 1剤以上耐性率 | 33.3 | 39.0 | 26.0 | 37.2 | 18.9 | 25.7 | 20.0 | 29.4 |

各年 1 月~12 月に分離された菌株

表 9. ヒト由来 *S. Thompson* の耐性率(2015-2021 年)

| | 2015 (n=28) | 2016 (n=28) | 2017 (n=30) | 2018 (n=29) | 2019 (n=27) | 2020 (n=11) | 2021 (n=14) | 合計 (n=167) |
|---------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|
| ABPC | 0.0 | 10.7 | 0.0 | 0.0 | 7.4 | 0.0 | 0.0 | 3.0 |
| GM | 0.0 | 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 | 0.0 | 1.2 |
| SM | 7.1 | 7.1 | 3.3 | 6.9 | 0.0 | 0.0 | 7.1 | 4.8 |
| TC | 3.6 | 7.1 | 6.7 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 3.0 |
| ST | 0.0 | 7.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 1.2 |
| CP | 0.0 | 7.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 1.2 |
| CTX | 0.0 | 10.7 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 1.8 |
| CAZ | 0.0 | 7.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 1.2 |
| CFX | 0.0 | 7.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 1.2 |
| FOM | 0.0 | 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 | 0.0 | 0.6 |
| CPFX | 0.0 | 7.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 1.2 |
| NFLX | 0.0 | 7.1 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 1.2 |
| AMK | 0.0 | 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 | 0.0 |
| MEPM | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 1剤以上耐性数 | 3 | 3 | 2 | 3 | 2 | 0 | 1 | 14 |
| 1剤以上耐性率 | 10.7 | 10.7 | 6.7 | 10.3 | 7.4 | 0.0 | 7.1 | 8.4 |

各年 1 月~12 月に分離された菌株

表 10. ヒト由来 *S. 4:i:-* の耐性率(2015-2021 年)

| | 2015 (n=60) | 2016 (n=37) | 2017 (n=36) | 2018 (n=36) | 2019 (n=23) | 2020 (n=24) | 2021 (n=17) | 合計 (n=233) |
|---------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|
| ABPC | 71.7 | 64.9 | 77.8 | 86.1 | 82.6 | 79.2 | 76.5 | 76.0 |
| GM | 1.7 | 0.0 | 2.8 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.9 |
| KM | 3.3 | 5.4 | 2.8 | 8.3 | 4.3 | 4.2 | 11.8 | 5.2 |
| SM | 73.3 | 70.3 | 80.6 | 91.7 | 82.6 | 70.8 | 70.6 | 77.3 |
| TC | 85.0 | 62.2 | 77.8 | 80.6 | 65.2 | 50.0 | 76.5 | 73.4 |
| ST | 5.0 | 10.8 | 5.6 | 8.3 | 8.7 | 0.0 | 5.9 | 6.4 |
| CP | 3.3 | 10.8 | 8.3 | 13.9 | 8.7 | 4.2 | 11.8 | 8.2 |
| CTX | 0.0 | 2.7 | 2.8 | 2.8 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 1.3 |
| CAZ | 0.0 | 2.7 | 2.8 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.9 |
| CFX | 0.0 | 0.0 | 2.8 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.4 |
| FOM | 0.0 | 2.7 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.4 |
| NA | 1.7 | 2.7 | 5.6 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 1.7 |
| CPFX | 0.0 | 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 | 0.0 |
| AMK | 0.0 | 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 | 0.0 |
| MEPM | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| 1剤以上耐性数 | 58 | 29 | 32 | 33 | 22 | 21 | 14 | 209 |
| 1剤以上耐性率 | 96.7 | 78.4 | 88.9 | 91.7 | 95.7 | 87.5 | 82.4 | 89.7 |

各年 1 月~12 月に分離された菌株

表 11. ヒト由来 *S. Saintpaul* の耐性率(2015-2021 年)

| | 2015 (n=27) | 2016 (n=26) | 2017 (n=42) | 2018 (n=10) | 2019 (n=8) | 2020 (n=12) | 2021 (n=7) | 合計 (n=132) |
|---------|----------------|----------------|----------------|----------------|---------------|----------------|---------------|---------------|
| ABPC | 7.4 | 7.7 | 14.3 | 10.0 | 0.0 | 8.3 | 0.0 | 9.1 |
| GM | 0.0 | 0.0 | 2.4 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.8 |
| KM | 0.0 | 3.8 | 4.8 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 2.3 |
| SM | 3.7 | 3.8 | 11.9 | 0.0 | 0.0 | 8.3 | 0.0 | 6.1 |
| TC | 40.7 | 15.4 | 21.4 | 10.0 | 12.5 | 25.0 | 14.3 | 22.7 |
| ST | 0.0 | 11.5 | 16.7 | 10.0 | 12.5 | 8.3 | 0.0 | 9.8 |
| CP | 3.7 | 0.0 | 14.3 | 0.0 | 12.5 | 0.0 | 0.0 | 6.1 |
| CTX | 0.0 | 0.0 | 11.9 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 3.8 |
| CAZ | 0.0 | 0.0 | 2.4 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.8 |
| CFX | 0.0 | 3.8 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.8 |
| FOM | 0.0 | 0.0 | 2.4 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.8 |
| NA | 7.4 | 3.8 | 19.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 8.3 |
| CPFX | 3.7 | 0.0 | 9.5 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 3.8 |
| NFLX | 3.7 | 0.0 | 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 | 0.0 |
| IPM | 0.0 | 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 | 0.0 |
| 1剤以上耐性数 | 13 | 8 | 14 | 2 | 3 | 4 | 1 | 45 |
| 1剤以上耐性率 | 48.1 | 30.8 | 33.3 | 20.0 | 37.5 | 33.3 | 14.3 | 34.1 |

各年 1 月~12 月に分離された菌株

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(2021 年分離株 n=78)

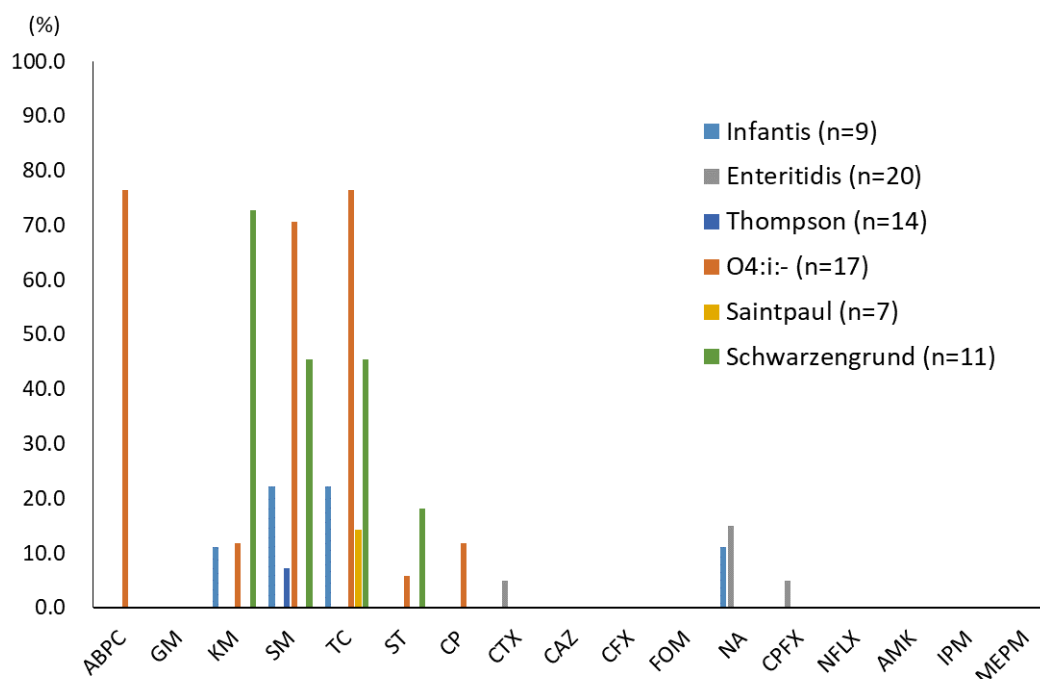


表 12. ヒト及び食品から検出される *S. Infantis*, *S. Schwarzengrund*, *S. Manhattan* の耐性率(2021 年)

表12.患者及び食品から検出される *S. Infantis*、*S. Schwarzengrund*、*S. Manhattan* の耐性率 (2021年)

| | Infantis | | Schwarzengrund | | Manhattan | |
|------|----------|----------|----------------|-----------|-----------|---------|
| | ヒト(n=9) | 食品(n=20) | ヒト(n=11) | 食品(n=107) | ヒト(n=3) | 食品(n=5) |
| ABPC | 0.0 | 10.0 | 0.0 | 1.9 | 0.0 | 20.0 |
| GM | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| KM | 11.1 | 35.0 | 72.7 | 72.0 | 0.0 | 0.0 |
| SM | 22.2 | 60.0 | 45.5 | 73.8 | 100.0 | 100.0 |
| TC | 22.2 | 70.0 | 45.5 | 83.2 | 100.0 | 80.0 |
| ST | 0.0 | 30.0 | 18.2 | 14.0 | 0.0 | 20.0 |
| CP | 0.0 | 5.0 | 0.0 | 4.7 | 0.0 | 0.0 |
| CTX | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.9 | 0.0 | 0.0 |
| CAZ | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| CFX | 0.0 | 5.0 | 0.0 | 0.9 | 0.0 | 0.0 |
| FOM | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| NA | 11.1 | 15.0 | 0.0 | 18.7 | 0.0 | 20.0 |
| CPFX | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| NFLX | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| AMK | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| IPM | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 0.0 |
| MEPM | 0.0 | 0.0 | 0.0 | 2.8 | 0.0 | 0.0 |

各年 1 月~12 月に分離された菌株

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(2021 年分離株) (表 12 のグラフ)

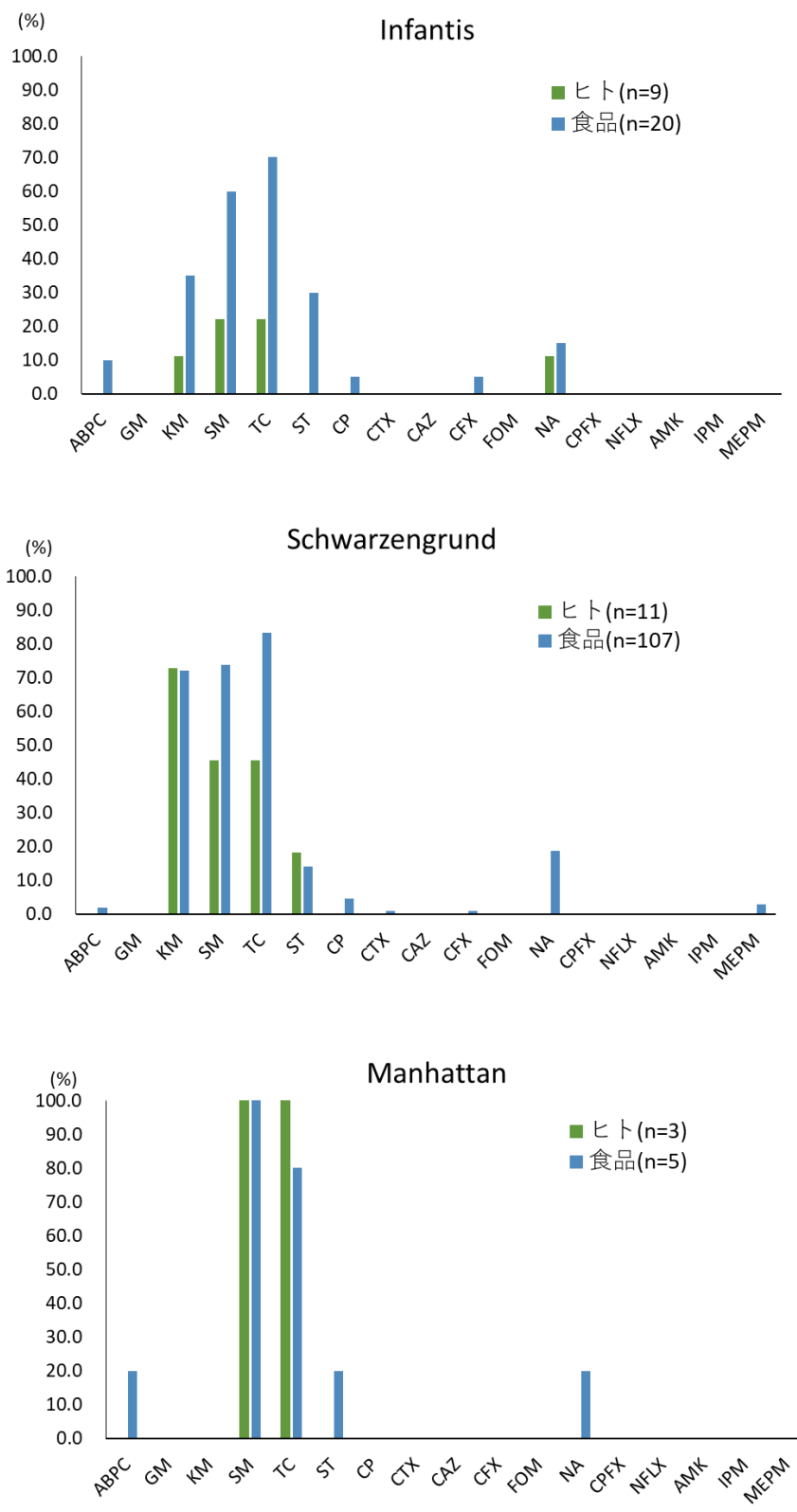


表13. 本研究で用いた大腸菌株の分類

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

(病原微生物検出情報Vol.33 No.1表1を改変)

表 14. ヒト及び食品由来大腸菌株の薬剤耐性状況(2015~2021 年分離株)

ヒト由来株 (n=2182)

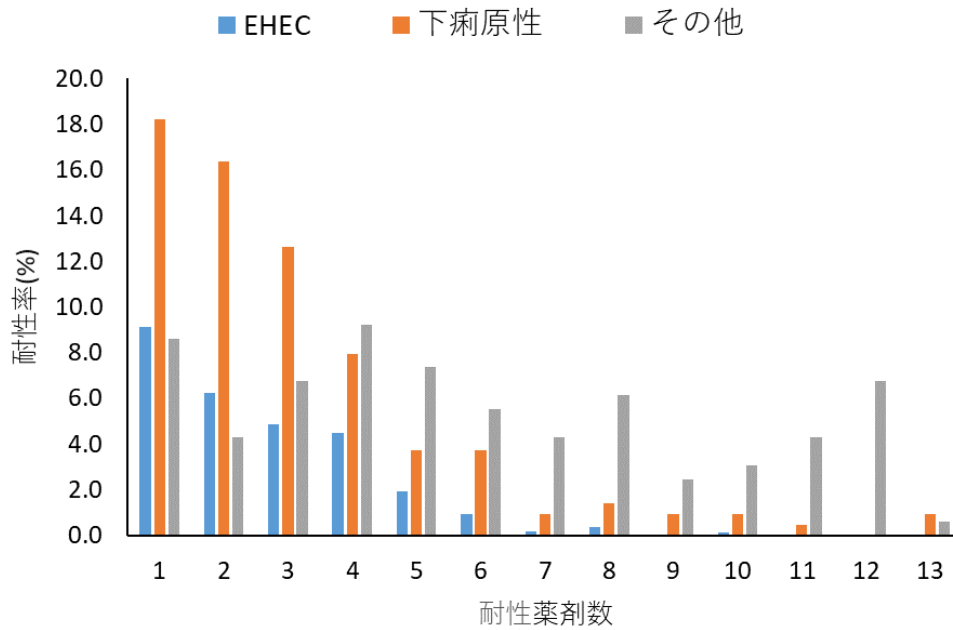
| 年 | 分類 | 株数 | 耐性数 | 耐性率 |
|------|------|------|-----|------|
| 2015 | EHEC | 130 | 39 | 30.0 |
| | 下痢原性 | 23 | 20 | 87.0 |
| | その他 | 12 | 6 | 50.0 |
| | 計 | 165 | 65 | 39.4 |
| 2016 | EHEC | 115 | 35 | 30.4 |
| | 下痢原性 | 32 | 24 | 75.0 |
| | その他 | 24 | 15 | 62.5 |
| | 計 | 171 | 74 | 43.3 |
| 2017 | EHEC | 191 | 68 | 35.6 |
| | 下痢原性 | 26 | 18 | 69.2 |
| | その他 | 28 | 23 | 82.1 |
| | 計 | 245 | 109 | 44.5 |
| 2018 | EHEC | 471 | 110 | 23.4 |
| | 下痢原性 | 56 | 35 | 62.5 |
| | その他 | 36 | 26 | 72.2 |
| | 計 | 563 | 171 | 30.4 |
| 2019 | EHEC | 282 | 73 | 25.9 |
| | 下痢原性 | 35 | 24 | 68.6 |
| | その他 | 27 | 20 | 74.1 |
| | 計 | 344 | 117 | 34.0 |
| 2020 | EHEC | 326 | 93 | 28.5 |
| | 下痢原性 | 25 | 18 | 72.0 |
| | その他 | 13 | 11 | 84.6 |
| | 計 | 364 | 122 | 33.5 |
| 2021 | EHEC | 290 | 94 | 32.4 |
| | 下痢原性 | 17 | 7 | 41.2 |
| | その他 | 23 | 12 | 52.2 |
| | 計 | 330 | 113 | 34.2 |
| 合計 | EHEC | 1805 | 512 | 28.4 |
| | 下痢原性 | 214 | 146 | 68.2 |
| | その他 | 163 | 113 | 69.3 |
| | 計 | 2182 | 771 | 35.3 |

食品由来株 (n=130)

| 年 | 分類 | 株数 | 耐性数 | 耐性率 |
|------|------|-----|-----|-------|
| 2015 | EHEC | 4 | 1 | 25.0 |
| | 下痢原性 | 2 | 2 | 100.0 |
| | その他 | 0 | 0 | - |
| | 計 | 6 | 3 | 50.0 |
| 2016 | EHEC | 5 | 2 | 40.0 |
| | 下痢原性 | 2 | 2 | 100.0 |
| | その他 | 0 | 0 | - |
| | 計 | 7 | 4 | 57.1 |
| 2017 | EHEC | 0 | 0 | - |
| | 下痢原性 | 9 | 5 | 55.6 |
| | その他 | 19 | 12 | 63.2 |
| | 計 | 28 | 17 | 60.7 |
| 2018 | EHEC | 1 | 0 | 0.0 |
| | 下痢原性 | 15 | 9 | 60.0 |
| | その他 | 13 | 8 | 61.5 |
| | 計 | 29 | 17 | 58.6 |
| 2019 | EHEC | 2 | 1 | 50.0 |
| | 下痢原性 | 2 | 1 | 50.0 |
| | その他 | 1 | 0 | 0.0 |
| | 計 | 5 | 2 | 40.0 |
| 2020 | EHEC | 5 | 1 | 20.0 |
| | 下痢原性 | 5 | 3 | 60.0 |
| | その他 | 11 | 4 | 36.4 |
| | 計 | 21 | 8 | 38.1 |
| 2021 | EHEC | 1 | 0 | 0.0 |
| | 下痢原性 | 8 | 8 | 100.0 |
| | その他 | 25 | 16 | 64.0 |
| | 計 | 34 | 24 | 70.6 |
| 合計 | EHEC | 18 | 5 | 27.8 |
| | 下痢原性 | 43 | 30 | 69.8 |
| | その他 | 69 | 40 | 58.0 |
| | 計 | 130 | 75 | 57.7 |

※食品由来には、外国産のものを含む。

図 7. ヒト由来大腸菌株の多剤耐性状況(2015~2021 年分離株の 1 剤以上耐性株)



| 6剤以上に耐性を示す株の割合 (%, 各分離株あたり) | |
|--------------------------------|------|
| EHEC | 1.7 |
| 下痢原性 | 9.3 |
| その他 | 33.1 |

図 8. ヒト由来大腸菌株の各種薬剤耐性率(2015~2021 年分離株)

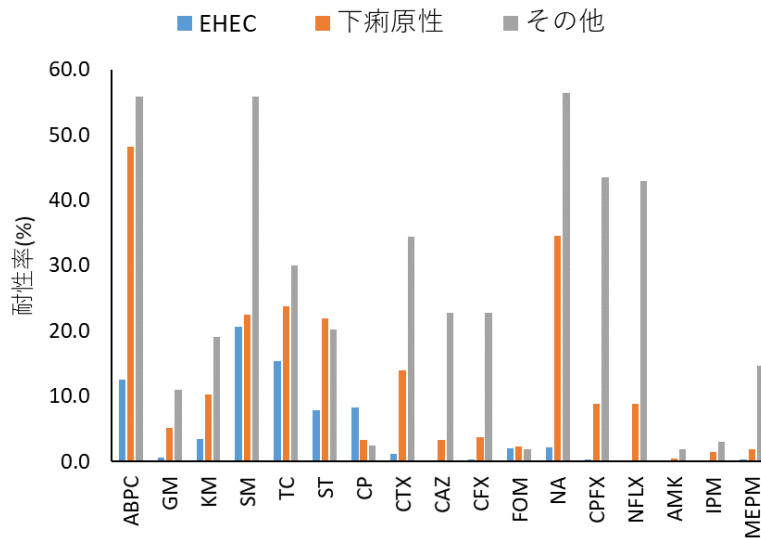


表 15. ヒト及び食品由来 *C. jejuni/coli* の耐性率(2018~2021 年分離株)

| ヒト由来 <i>C.jejuni</i> 及び <i>C.coli</i> の耐性率(2018-2021) | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|------------------|---------------|---------------|-------------------|----------------|---------------|-------------------|---------------|---------------|------------------|---------------|--------------|-------------------|----------------|---------------|
| | 2018 | | | 2019 | | | 2020 | | | 2021 | | | 2018-2021 | | |
| | 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=78) | coli (n=4) | 合計 (n=82) | jejuni (n=417) | coli (n=27) | 合計 (n=444) |
| EM | 2.1 | 16.7 | 3.0 | 1.4 | 10.0 | 1.9 | 0.0 | 28.6 | 1.9 | 1.3 | 100.0 | 6.1 | 1.2 | 29.6 | 2.9 |
| TC | 16.0 | 33.3 | 17.0 | 31.0 | 30.0 | 31.0 | 28.0 | 57.1 | 29.9 | 29.5 | 100.0 | 32.9 | 26.6 | 48.1 | 27.9 |
| CET | 92.6 | 100.0 | 93.0 | 98.6 | 100.0 | 98.7 | 99.0 | 100.0 | 99.1 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 97.6 | 100.0 | 97.7 |
| CPFX | 44.7 | 83.3 | 47.0 | 66.9 | 80.0 | 67.7 | 55.0 | 42.9 | 54.2 | 32.1 | 75.0 | 34.1 | 52.5 | 70.4 | 53.6 |
| NA | 45.7 | 83.3 | 48.0 | 66.2 | 80.0 | 67.1 | 56.0 | 42.9 | 55.1 | 32.1 | 75.0 | 34.1 | 52.8 | 70.4 | 53.8 |
| ABPC | 11.7 | 33.3 | 13.0 | 23.4 | 40.0 | 24.5 | 13.0 | 14.3 | 13.1 | 17.9 | 0.0 | 17.1 | 17.3 | 25.9 | 17.8 |
| 1剤以上耐性数 | 89 | 6 | 95 | 145 | 10 | 155 | 100 | 7 | 107 | 78 | 4 | 82 | 412 | 27 | 439 |
| 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 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 98.8 | 100.0 | 98.9 |

| 食品由来 <i>C.jejuni</i> 及び <i>C.coli</i> の耐性率(2018-2021) | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|------------------|----------------|--------------|------------------|----------------|--------------|-------------------|---------------|---------------|------------------|---------------|--------------|-------------------|----------------|---------------|
| | 2018 | | | 2019 | | | 2020 | | | 2021 | | | 2018-2021 | | |
| | jejuni (n=60) | coli (n=12) | 合計 (n=72) | jejuni (n=74) | coli (n=12) | 合計 (n=86) | jejuni (n=103) | coli (n=8) | 合計 (n=111) | jejuni (n=59) | coli (n=7) | 合計 (n=66) | jejuni (n=296) | coli (n=39) | 合計 (n=335) |
| EM | 0.0 | 25.0 | 4.2 | 1.4 | 25.0 | 4.7 | 0.0 | 50.0 | 3.6 | 0.0 | 14.3 | 1.5 | 0.3 | 28.2 | 3.6 |
| TC | 25.0 | 58.3 | 30.6 | 31.1 | 66.7 | 36.0 | 28.2 | 50.0 | 29.7 | 33.9 | 57.1 | 36.4 | 29.4 | 59.0 | 32.8 |
| CET | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 100.0 | 99.0 | 100.0 | 99.1 | 98.3 | 85.7 | 97.0 | 99.3 | 97.4 | 99.1 |
| CPFX | 35.0 | 58.3 | 38.9 | 44.6 | 58.3 | 46.5 | 41.7 | 50.0 | 42.3 | 47.5 | 57.1 | 48.5 | 42.2 | 56.4 | 43.9 |
| NA | 35.0 | 58.3 | 38.9 | 44.6 | 58.3 | 46.5 | 42.7 | 50.0 | 43.2 | 47.5 | 57.1 | 48.5 | 42.6 | 56.4 | 44.2 |
| ABPC | 30.0 | 16.7 | 27.8 | 18.9 | 50.0 | 23.3 | 21.4 | 25.0 | 21.6 | 37.3 | 0.0 | 33.3 | 25.7 | 25.6 | 25.7 |
| 1剤以上耐性数 | 60 | 12 | 72 | 74 | 12 | 86 | 102 | 8 | 110 | 58 | 7 | 65 | 294 | 39 | 333 |
| 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 | 98.3 | 100.0 | 98.5 | 99.3 | 100.0 | 99.4 |

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) (2018~2021 年分離株)

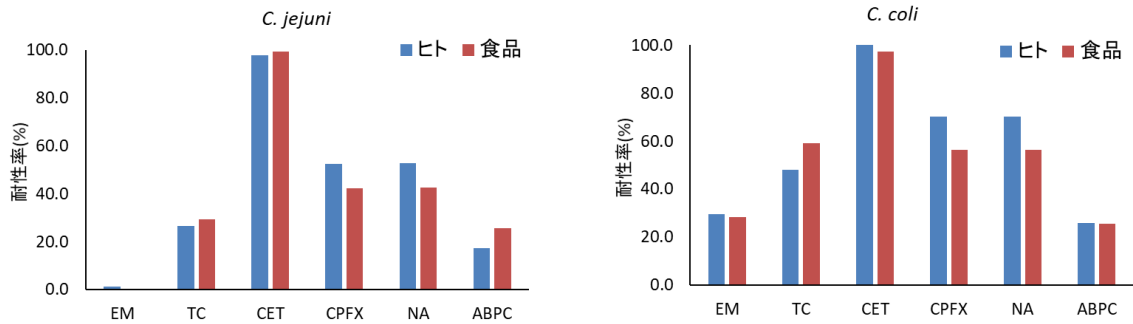


表16. サルモネラ株のゲノム解析及びゲノムデータ・菌株情報の登録に関する協力地研の同意状況

| 項目 | 同意地研数 | 菌株数 (ヒト由来、食品由来) |
|-------------------------------|-------|--------------------|
| NGSによるゲノム解析 | 14 | 725 (379, 346) |
| ゲノムデータ・菌株情報の データベースへの登録・公開 | 14 | 725 (379, 346) |

2022.3.31 時点

令和3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）
「ワンヘルスに基づく食品由来薬剤耐性菌のサーベイランス体制強化のための研究」

分担研究報告書

食品由来カンピロバクター、サルモネラ等の薬剤耐性獲得動向に関する
サーベイランス及び食品内での制御効果の評価に関する研究

| | | |
|-------|-------|--------------|
| 研究分担者 | 朝倉 宏 | 国立医薬品食品衛生研究所 |
| 研究協力者 | 山本詩織 | 国立医薬品食品衛生研究所 |
| 研究協力者 | 佐々木貴正 | 国立医薬品食品衛生研究所 |
| 研究協力者 | 平井和也 | 国立医薬品食品衛生研究所 |

研究要旨：国内で製造加工された鶏肉製品を対象として、ESBL 産生大腸菌・腸内細菌科菌群、サルモネラ属菌、カンピロバクターの汚染状況並びに分離株の遺伝的性状解析を行った。計 134 検体の鶏もも肉及び鶏内臓肉を対象とした調査の結果、ESBL 産生大腸菌及び同腸内細菌科菌群は 49.3%または 100%の検出率を示したが、あわせて行った定量試験成績より、ESBL 産生大腸菌の汚染菌数は総じて低い状況にあることが確認された。同菌株の約 86%はβラクタム系以外の薬剤にも耐性を示し、5 株は 8 剤に耐性を示した。サルモネラ属菌は 73 検体（54.5%）より検出され、うち 52 株は SM・KM・TC に耐性を示す血清型 Schwarzengrund であった。カンピロバクターは 77 検体より検出され、うち 54 検体からは *C. jejuni*が、23 検体からは *C. coli*が分離された。AMP 耐性は *C. jejuni* 43 株、*C. coli* 18 株で認められたほか、*C. jejuni* 株の CPFX 及び TC に対する耐性率はそれぞれ 48.1%、31.5%であった。食肉加工 2 施設由来鶏肉検体におけるサルモネラ検出率を季節別に確認したところ、夏季に相対的な減少を認めたものの、総じて検出率は高く、その多くは血清型多剤耐性を示す Schwarzengrund であったことから、多剤耐性を示す同血清型株による鶏肉の広域性汚染実態が推察された。以上、本研究では鶏肉における複数の薬剤耐性菌の汚染実態を定性或いは定量的に求めた。引き続き、食品における関連データを集積することは、国内に侵淫する薬剤耐性菌の伝播経路として食品が介在する可能性とその大きさを評価する上で必要不可欠な課題と考えられる。

A. 研究目的

ESBL 産生大腸菌は鶏肉から高率に検出され、ヒト健康被害との関連性も推察されているが、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又は分離株の特性に留まっており、定量成績は乏しい。

また、鶏肉等の生物的危害要因と認知される

カンピロバクター、サルモネラについても薬剤耐性の頻度をサーベイランスを通じて評価することが求められている。

以上の背景を踏まえ、本分担研究では、鶏肉及び鶏内臓肉を対象として、ESBL 産生大腸菌の定性・定量試験を行うと共に、サルモネラ

属菌及びカンピロバクター・ジェジュニ/コリ分離株の薬剤感受性を調査することを目的として検討を進めた。また、鶏肉由来サルモネラ属菌株については、薬剤耐性と種鶏場・孵化場における抗菌剤使用状況との関連性をあわせて調査したので報告する。

B. 研究方法

1. 食品検体

国内で製造加工され、冷蔵温度帯で流通する鶏もも肉及び鶏内臓肉計 134 検体を入手し、ESBL 産生大腸菌・腸内細菌科菌群の定量・定性検出試験、及びサルモネラ属菌とカンピロバクター・ジェジュニ/コリの定性検出試験に供した。また、2 施設で加工された鶏むね肉、及び流通鶏むね肉 234 検体を令和 3 年 4 月から 12 月にかけて入手し、サルモネラ属菌分離試験に供した。

2. 鶏もも肉及び鶏内臓肉検体からの各種薬剤耐性菌の検出試験

1) 検体の前処理

鶏もも肉及び鶏内臓肉検体各 25 g を、225 mL の緩衝ペプトン水(BPW)を加えたストマッカー袋に入れ、1 分間ストマッキング処理を行った。

2) ESBL 産生大腸菌/腸内細菌科菌群の定量/定性検出試験

上述の検体懸濁液 200 μ L をクロモアガー ESBL 培地に塗抹し、培養後に発育した定型集落を計数した（本検体における検出下限値は 50 CFU/g）。

また、定性試験については、検体懸濁液残液に対し、セフォタキシムを終濃度 1 μ g/ μ L となるよう添加した後、増菌培養を行い、同培養液をクロモアガーESBL 培地に塗抹・培養した。培養後は定型集落の発育の有無を確認した上で、1 検体につき 1~2 集落を釣菌し、薬剤

感受性試験及び CTX-M 型別試験に供した。

3) サルモネラ属菌検出試験

サルモネラ属菌の検出にあたっては上項 1) の手順で検体懸濁液を調整した後、BPW 中で増菌培養を行った上で、病原菌自動検出システム (MDS) を用いたスクリーニング試験を行った。スクリーニング試験陽性となった検体についてはその後、RV 培地で二次増菌培養を行い、クロモアガーサルモネラ培地に画線塗抹し、提携集落を分離した。得られた分離株については、血清型別試験及び薬剤感受性試験に供した。

4) カンピロバクター検出試験

検体 25 g を 225mL の Preston 培地を用いて検体懸濁液を調整し、42°C で 24 時間微好気環境下で増菌培養を行った。同培養液を病原菌自動検出システム (MDS) を用いたスクリーニング試験に供し、陽性となった検体由来培養液については、その後、クロモアガーカンピロバクター培地に画線塗抹し、定型集落を分離した。得られた分離株については、薬剤感受性試験に供した。

3. 鶏むね肉検体のサルモネラ属菌検出試験

2 加工施設由来の鶏むね肉検体について、令和 3 年 4 月から 12 月にかけて、月単位で入手し、1 検体につき 25 g を NIHSJ-01 法に準じた定性検出試験に供した。分離株の確保にあたっては、1 検体につき最大 2 集落を対象とした。最終的に得られた分離株は、血清型別試験及び薬剤感受性試験に供した。

4. 各種型別試験

1) 薬剤感受性試験

鶏もも肉及び鶏内臓肉由来の ESBL 産生大腸菌株については、計 8 剤 (SM, GM, ,KM, ST/TMP, CL, CP, TC, NA, CIP)、サルモネラ属菌株については、計 9 剤 (AMP, CEZ, CTX, SM, GM, KM, TC, NA, CIP)、カンピロバク

一属菌株については計 4 剤 (AMP, EM, TC, CPM) を対象としたディスク法による薬剤感受性試験に供した。

鶏むね肉由来のサルモネラ属菌株については、計 12 剤 (AMP, CEZ, CTX, SM, GM, KM, TC, CP, CL, TMP, NA, CPM) を対象とした薬剤感受性試験に供した。

2) CTX-M 型別試験

ESBL 産生大腸菌株については、常法に基づき、PCR を用いた CTX-M 型別試験に供した。

C. 結果

1. 鶏もも肉及び鶏内臓肉検体からの ESBL 産生大腸菌・腸内細菌科菌群の検出状況及び分離株の薬剤感受性並びに遺伝特性

令和 3 年度に入手した計 134 検体における ESBL 産生大腸菌の陽性率は 49.3% (66 検体/134 検体) であったほか、ESBL 産生腸内細菌科菌群は全ての検体で陽性を示した。定量検出試験を通じ、当該検体における ESBL 産生大腸菌及び腸内細菌科菌群それぞれの菌数分布を求めたところ、ESBL 産生大腸菌は 69 検体、ESBL 産生腸内細菌科菌群は全検体より検出され、それぞれの平均±SD 値は、 $1.1 \pm 0.8 \log \text{CFU/g}$ 、 $3.5 \pm 1.0 \log \text{CFU/g}$ であった。ESBL 産生腸内細菌科菌群の約 52.2% は $3.0 \log \text{CFU/g}$ 以上の菌数分布を認めたほか、15 検体では $2.0 \log \text{CFU/g}$ 以上の ESBL 産生大腸菌が検出され、それらの多くは鶏内臓肉検体であった (図 1、表 1)。

ESBL 産生大腸菌分離株計 130 株を薬剤感受性試験に供した結果、112 株 (86.2%) が β ラクタム系以外の薬剤にも耐性を示したほか、5 株は計 8 剤に耐性を示した (図 2、表 2)。また、これらの 5 株はメロペネムにも耐性を示した (データ未載)。薬剤の別では TC 耐性が全

体の 64.6% と最も高く、次いで SM 耐性率が 53.1%、NA 耐性率が 52.3% であった (図 2)。

CTX-M 遺伝子型別試験を通じ、当該遺伝子は全体の 60% より検出され、CTX-M-1 は 41 株 (31.5%)、CTX-M-9 は 20 株 (15.4%) より検出された (図 3)。鶏もも肉と鶏内臓肉の別では、鶏もも肉由来株が CTX-M-1 及び CTX-M-2 陽性である割合が高く、鶏内臓肉由来株では CTX-M-1、CTX-M-8、CTX-M-9 陽性率が高い傾向を認めた (図 3)。

2. 鶏もも肉及び鶏内臓肉検体におけるサルモネラ属菌の定性検出状況、及び分離株の血清型別並びに薬剤感受性

上述の検体についてサルモネラ属菌の定性検出試験を実施したところ、73 検体 (54.5%) より本菌が検出された。検体別の陽性検体数は鶏肉が 28 検体 (陽性率 51.9%)、鶏内臓肉 (肝臓) が 45 検体 (56.3%) であった。

計 73 株の血清型別を調査したところ、全体の 71.2% (鶏肉由来 14 株及び鶏内臓肉由来 38 株の計 52 株) が血清型 Schwarzengrund であり、その他としては血清型 Manhattan が 9 株、Infantis が 1 株、型別不能が 11 株であった (表 2)。

これらの分離株を薬剤感受性試験に供した結果、59 株 (80.8%) は 1 剤以上に耐性を示し、うち 43 株 (58.9%) は 3 剤以上に耐性を示した (図 4)。血清型 Schwarzengrund の全 52 株は SM, KM, TC に耐性を示した (図 4)。

3. 鶏もも肉及び鶏内臓肉検体におけるカンピロバクターの定性検出状況、及び分離株の薬剤感受性

上述の検体についてカンピロバクターの定性検出試験を実施したところ、77 検体 (57.5%) より本菌が検出され、うち 54 検体からは *C. jejuni* が、23 検体からは *C. coli* が

分離された。

分離株を薬剤感受性試験に供したところ、*C. jejuni*は*C. coli*に比べて多剤耐性率が高い傾向がみられ、3剤に耐性を示す株は*C. jejuni*が9株、*C. coli*が5株であった(表3)。薬剤の別では、EM耐性株が認められなかった一方、AMP耐性は*C. jejuni*43株(79.6%)、*C. coli*18株(78.3%)で認められた(図5)。また、*C. jejuni*株のCPFX及びTCに対する耐性率はそれぞれ48.1%、31.5%であった(図5)。

4.2 施設(食肉加工施設)由来鶏むね肉検体におけるサルモネラ属菌の季節別検出率の動向と分離株の血清型別並びに薬剤耐性状況

食肉加工施設 2 施設の協力を得て、令和3年4月から12月にかけて、鶏むね肉計234検体を対象としたサルモネラ属菌定性検出試験を行ったところ、両施設由来検体からのサルモネラ属菌検出率は夏季に低下傾向を示した(図6)。

分離株を血清型別試験に供したところ、計393株のうち、306株(77.9%)は血清型Schwarzengrundであり、70株(17.8%)は血清型Infantis、12株(3.1%)は血清型Manhattan等であった(表4)。これらの薬剤耐性状況を確認したところ、血清型Schwarzengrund株の44.4%(136/306株)はSM, KM, TCの3剤に耐性を示した一方、血清型Infantis株における同3剤耐性率は15.7%(11/70株)であった(表5)。

D. 考察

本分担研究では、市場流通する鶏モモ肉・鶏内臓肉検体を対象として、ESBL産生大腸菌・腸内細菌科菌群の汚染分布を定性・定量の両面から検討すると共に、同一検体からのサルモネラ属菌及びカンピロバクターの定性検出状況を調査した。

調査結果から、対象検体におけるESBL産生大腸菌の汚染率は高かったものの、その汚染菌数は総じて低い状況にあることが確認された。また、分離株のCTX-M遺伝子型としてはCTX-M-1が高い割合にある状況、並びに多くの菌株はβラクタム系以外の薬剤に対しても耐性を示すことが確認された。先行研究でのサーベイランスでは、ほぼ同等の耐性率が確認されているおり、令和3年度の状況に大きな変動はないものと考えられるが、今後の動向についても引き続き注視する必要があると思われる。

また、サルモネラ属菌については近年鶏肉に関連する血清型としてSchwarzengrundが高い占有率を示す状況が継続していることが確認された。同血清型株は他の血清型株に比べて、高い薬剤耐性率を示していたことは、ヒト臨床分離株の血清型や薬剤耐性状況と紐付けた形でサーベイランス体制を維持・強化していくことが、ワンヘルスに基づく食品由来薬剤耐性菌の動向を把握し、食品の安全確保の観点からのリスク管理策を講じていく上で極めて重要な課題と言える。

本年度に鶏肉検体より分離されたカンピロバクター株については、高いAMP耐性率を示した一方、EM耐性は確認されなかった。後者は主として*C. coli*で認められることが多いことから、本年度分離された菌株に占める*C. coli*の占有率の低さが上述の結果に反映された可能性も考えられる。また、TC耐性は主にプラスミド性に水平伝播を呈することが知られており、同剤の耐性率はCPFXとあわせて持続的なモニタリングが求められる対象となるであろう。

食肉加工 2 施設由来の鶏肉検体におけるサルモネラ検出率が夏季に減少傾向を示した理由は現時点では明らかではないが、施設の別によらず、そうした傾向が認められたは、国内の鶏肉全般で同様の季節変動を示す可能性が示

唆される。但し、夏季にあっても 60%以上の検体より当該菌が検出されたこと、そして多剤耐性の割合が高い血清型 Schwarzengrund が多くを占めた結果は、鶏肉等における本菌のサーベイランスの意義を改めて示す結果とも解釈される。

E. 結論

国内で製造加工される鶏肉及び鶏内臓肉では ESBL 産生大腸菌の汚染率は高いが、汚染菌数は総じて低い状況にあることが確認された。また、当該食品では、サルモネラ属菌による高い汚染率が継続している状況が確認された。当該菌の多くは血清型 Schwarzengrund であり、高頻度に多剤耐性を示したことから、その動向を引き続き注視する必要性が提起された。カンピロバクターについては、AMP 耐性率が高い状況が確認されると共に、TC や CPFX 耐性率は大きな変動が生じていないものと推察される知見をえた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Sasaki Y, Kakizawa H, Baba Y, Ito T, Haremaki Y, Yonemichi M, Ikeda T, Kuroda M, Ohya K, Hara-Kudo Y, Asai T, Asakura H. Antimicrobial resistance in *Salmonella* isolated from food workers and chicken products in Japan. *Antibiotics* (Basel). 2021. 10(12):1541.

2. 学会発表

- 1) 山本詩織、石井良和、朝倉宏. 国内流通鶏肉における ESBL 産生大腸菌並びにサルモネラ属菌の検出状況と分離菌株の遺伝的性状解析. 第 42 回日本食品微生物学会学術総会.
- 2) 百瀬愛佳、佐々木貴正、米満研三、朝倉宏. 国産鶏肉における第三世代セファロスポ

リン耐性サルモネラ汚染の低下と血清型 Schwarzengrund の占有率増加. 日本食品衛生学会第 117 回学術講演会.

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1. 鶏もも肉・内臓肉検体における ESBL 産生大腸菌・腸内細菌科菌群の菌数分布

| 菌数 (log CFU/g) | ND | < 2.0 | 2.0-3.0 | 3.0-4.0 | > 4.0 | 平均±SD |
|-------------------|----|-------|---------|---------|-------|---------|
| 大腸菌 | 65 | 29 | 10 | 4 | 1 | 1.1±0.8 |
| 腸内細菌科菌群 | 0 | 4 | 35 | 38 | 32 | 3.5±1.0 |

表 2. 鶏もも肉・鶏内臓肉（肝臓）検体由来サルモネラ属菌株の血清型別分布.

| 血清型 | 全体 | | 鶏肉由来 | | 鶏肝臓由来 | |
|----------------|----|--------|------|--------|-------|--------|
| | 株数 | (%) | 株数 | (%) | 株数 | (%) |
| Schwarzengrund | 52 | (71.2) | 14 | (50.0) | 38 | (84.4) |
| Manhattan | 9 | (12.3) | 4 | (14.3) | 5 | (11.1) |
| Infantis | 1 | (1.4) | 1 | (3.6) | 0 | (0.0) |
| UT | 11 | (15.1) | 9 | (32.1) | 2 | (4.4) |
| 計 | 73 | | 28 | | 45 | |

表 3. 鶏もも肉・鶏内臓肉（肝臓）検体由来カンピロバクター株の薬剤耐性状況.

| 耐性 薬剤数 | 菌株数 (%) | <i>C. jejuni</i> | <i>C. coli</i> |
|-----------|-----------|------------------|----------------|
| 3 | 14 (18.2) | 9 (16.7) | 5 (21.7) |
| 2 | 22 (28.6) | 20 (37.0) | 2 (8.7) |
| 1 | 31 (40.3) | 19 (35.2) | 12 (52.2) |
| 0 | 10 (13.0) | 6 (11.1) | 4 (17.4) |

単位：菌株数 (%)

表 4. 鶏むね肉検体由来サルモネラ属菌株の血清型別内訳.

| 血清型別 | 菌株数 (%) |
|----------------|-------------|
| Schwarzengrund | 306 (77.9%) |
| Infantis | 70 (17.8%) |
| Manhattan | 12 (3.1%) |
| Enteritidis | 2 (0.5%) |
| Untypeable | 3 (0.8%) |

表 5. 食肉加工 2 施設の鶏むね肉検体由来サルモネラ属菌株の血清型別及び薬剤耐性状況.

| 血清型 | 薬剤耐性パターン | A | B | 計 | 血清型 | 薬剤耐性パターン | A | B | 計 |
|----------------|-----------------|-----|-----|-----|-------------|--------------|----|---|----|
| Schwarzengrund | | 177 | 129 | 306 | Infantis | | 70 | 0 | 70 |
| | SM+KM+TC+NA+TMP | 2 | 20 | 22 | | SM+KM+TC+NA | 1 | 0 | 1 |
| | SM+KM+TC+TMP | 22 | 43 | 65 | | SM+KM+TC+TMP | 6 | 0 | 6 |
| | SM+KM+TC+NA | 2 | 6 | 8 | | SM+KM+TC | 4 | 0 | 4 |
| | SM+KM+NA+TMP | 0 | 1 | 1 | | SM+TC+NA | 2 | 0 | 2 |
| | SM+TC+NA+TMP | 1 | 2 | 3 | | SM+TC+TMP | 18 | 0 | 18 |
| | SM+TC+NA | 2 | 3 | 5 | | KM+NA+TMP | 1 | 0 | 1 |
| | SM+KM+TC | 6 | 35 | 41 | | SM+TC | 20 | 0 | 20 |
| | SM+TC+TMP | 8 | 2 | 10 | | KM+TMP | 2 | 0 | 2 |
| | KM+TC+TMP | 0 | 2 | 2 | | SM | 3 | 0 | 3 |
| | KM+NA+TMP | 0 | 6 | 6 | | KM | 1 | 0 | 1 |
| | SM+KM | 2 | 0 | 2 | | TC | 6 | 0 | 6 |
| | SM+TC | 13 | 8 | 21 | | TMP | 3 | 0 | 3 |
| | KM+TC | 1 | 1 | 2 | | 感受性 | 3 | 0 | 3 |
| | KM+TMP | 2 | 0 | 2 | Manhattan | | 10 | 2 | 12 |
| | KM+CP | 1 | 0 | 1 | | SM+TC | 9 | 2 | 11 |
| | SM | 7 | 0 | 7 | | 感受性 | 1 | 0 | 1 |
| | KM | 36 | 0 | 36 | Enteritidis | | 2 | | 2 |
| | TMP | 1 | 0 | 1 | | 感受性 | 2 | | 2 |
| | 感受性 | 71 | 0 | 71 | UT | | 2 | | 3 |
| | | | | | | SM+KM+TC+TMP | 1 | | 1 |
| | | | | | | SM+KM+TC | 1 | | 1 |
| | | | | | | 感受性 | 0 | | 1 |

SM: streptomycin, TC: tetracycline, KM: kanamycin, NA: nalidixic acid, TMP: trimethoprim.

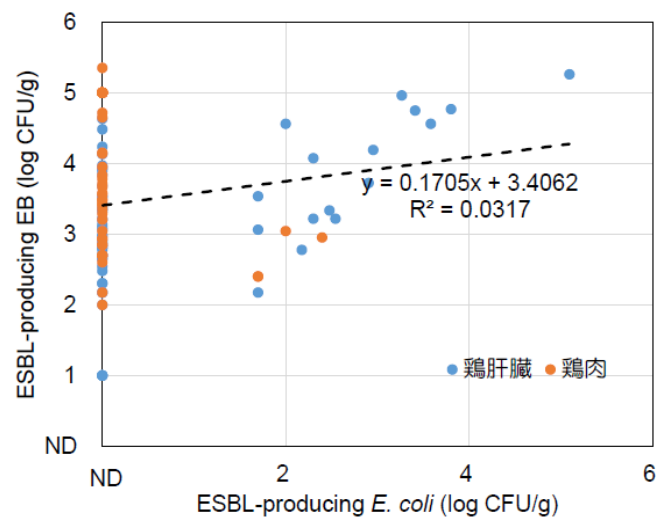


図 1. 鶏肉・鶏内臓肉（肝臓）検体での ESBL 産生大腸菌・腸内細菌科菌群の菌数分布相関図.

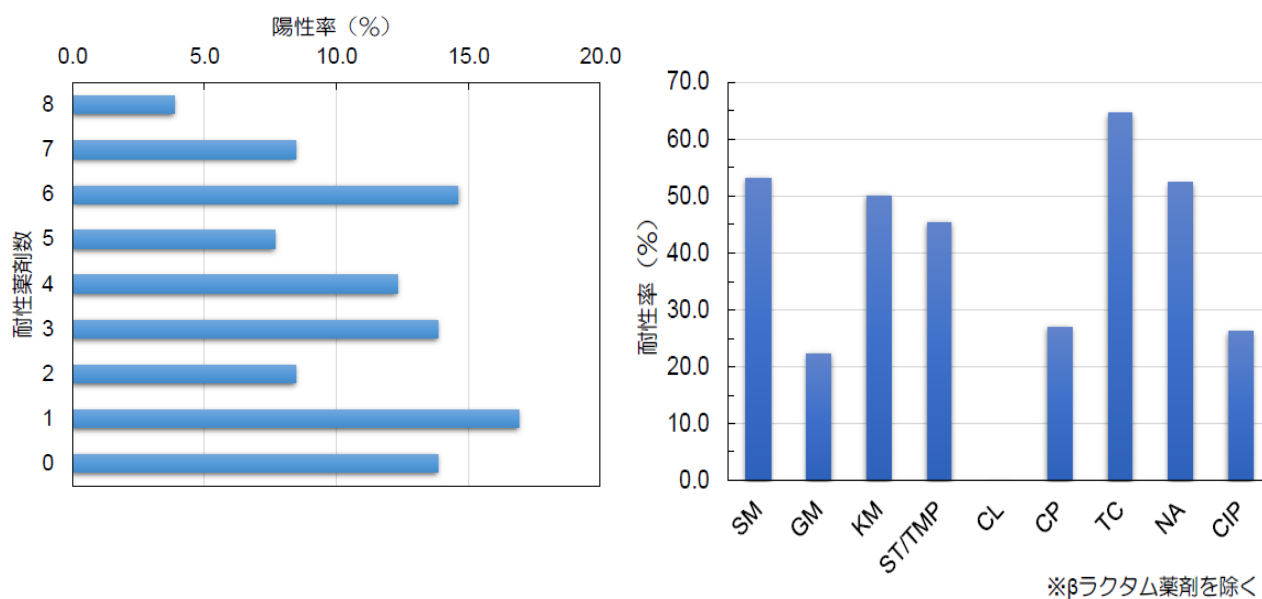


図 2. 鶏肉・鶏内臓肉（肝臓）検体由来 ESBL 産生大腸菌株の薬剤耐性状況.

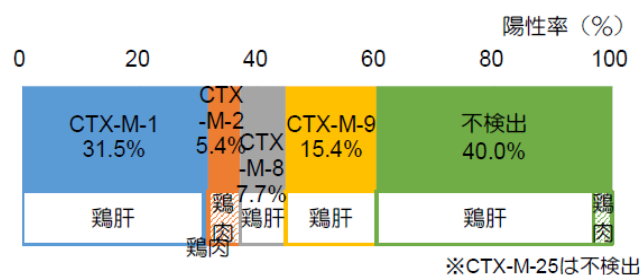


図 3. 鶏肉・鶏内臓肉（肝臓）検体由来 ESBL 産生大腸菌株の CTX-M 型別成績.

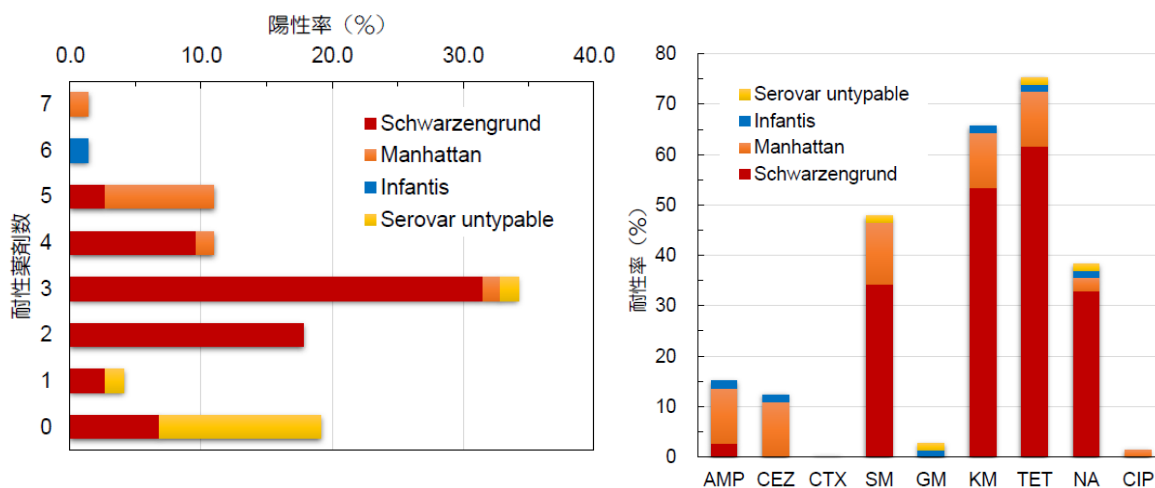


図 4. 鶏肉・鶏内臓肉（肝臓）検体由来サルモネラ属菌株の薬剤耐性状況.

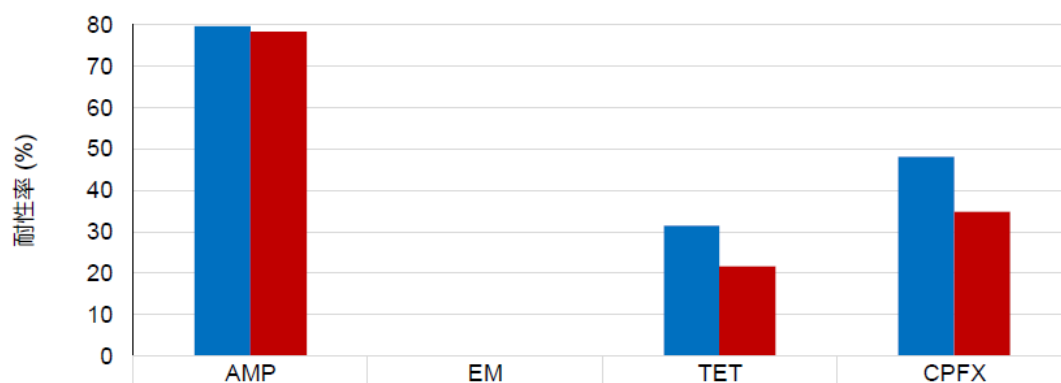


図 5. 鶏肉・鶏内臓肉（肝臓）検体由来カンピロバクター株の薬剤耐性状況.

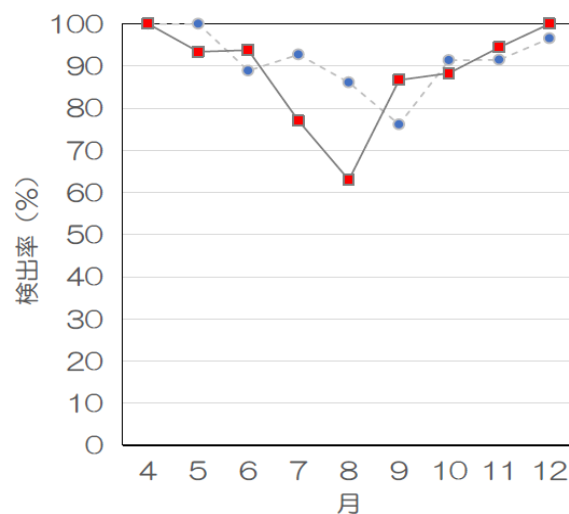


図 6. 食肉加工 2 施設由来鶏むね肉検体における季節別サルモネラ属菌検出状況.

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3年度 分担研究報告書

ワンヘルスに基づく食品由来薬剤耐性菌のサーベイランス体制の強化のための研究

分担課題 食品及びヒト由来カンピロバクター、大腸菌の
薬剤耐性動向調査

| | | | |
|-------|-------|----------------|---------|
| 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 |
| | 和田 紀乃 | 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 |
| | 横山 敬子 | 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

2020年に分離された散発患者由来 *C. jejuni* 86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27株（31.4%）であった。2019年分離株と比較すると耐性率は大きく減少しており、過去10年間の中では最も低かった。一方、*C. coli* 7株のフルオロキノロンおよびNA耐性は4株（57.1%）であった。EM耐性株は *C. jejuni* では検出されなかったが、*C. coli* では2株（28.6%）認められた。*C. jejuni* のEM耐性率は低く推移しているが、*C. coli* では *C. jejuni* よりも高い傾向で推移している。

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50.4%で耐性率はやや高い傾向であった。例年はABPCの耐性率が最も高い傾向であったが、2021年分離株ではNAの耐性率が高かった。更にフルオロキノロン系薬剤に対する耐性率も2020年の6.4%と比較して2021年は14.1%と高い傾向であった。今後の動向に注視していく必要がある。CTX耐性率は4.8%であり、例年と同様の傾向であった。

2021年に搬入された国産鶏肉118検体中、大腸菌が検出されたのは109検体（92.4%）輸入鶏肉では36検体中31検体（86.1%）であった。国産由来株で耐性率が高かった薬剤はABPC、KM、SM、TC、ST合剤、CP、FOM、NA、CPFX、NFLX、OFLXの11薬剤であった。一方、輸入由来株の方が高かった薬剤はCTX、CFXおよびGMの3薬剤のみであった。この耐性傾向は昨年と同様である。国産由来株のCTX耐性率は2019年以降3%程度で推移している。プラスミド性コリスチン耐性遺伝子保は国産由来の3食品3株から検出された。遺伝子型は全て *mcr-1* であった。

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。

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、医療の現場では耐性菌による院内感染

がたびたび発生し、問題となっている。今後、薬剤耐性を獲得した下痢症起因菌等の病原菌が蔓延すれば、治療が極めて困難となりヒトの健康を脅かす重大な問題となってくる。

薬剤耐性菌の蔓延を防止するためには、ヒト、食品、家畜、環境を包括するワンヘルス・アプローチが必要である。また、薬剤耐性菌の変化と特徴、出現状況や拡大傾向を継続的・持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ヒト由来株、食品由来株の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

2020年に都内の病院で分離された *C. jejuni* 86株および *C. coli* 7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°C、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

2019年に都内病院で分離された散発患者由来の *C. jejuni* 132株および *C. coli* 16株を供試した。供試薬剤はNA, CPFX, LVFX, EM, ABPC, TCの6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°C、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°C、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

2021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248人から分離された大腸菌248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)、セフォタキシム (CTX)、セフォキシチン (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

2021年に食中毒関連調査のために搬入された国産鶏肉118検体と都内スーパーマーケットで購入した輸入鶏肉36検体 (ブラジル産: 25検体, タイ産: 11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°C、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。必要に応じてMALDI-TOF MSを用いた同定も行った。

3) 薬剤感受性試験

国産鶏肉118検体から分離した205株および輸入鶏肉36検体から分離した61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. 2021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

2021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62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9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た（3 健研健第 185 号）。

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

2020 年に分離された散発患者由来 *C. jejuni* 86 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 27 株 (31.4%) であった。2019 年分離株と比較すると耐性率は大きく減少しており、過去 10 年間の中では最も低かった (図 1)。一方、*C. coli* 7 株のフルオロキノロンおよび NA 耐性は 4 株 (57.1%)、であった (図 2)。EM 耐性株は *C. jejuni* では検出されなかったが、*C. coli* では 2 株 (28.6%) 認められた。*C. jejuni* の EM 耐性率は低く推移しているが、*C. coli* では *C. jejuni* よりも高い傾向で推移している。

ABPC 耐性は *C. jejuni* で 7 株 (8.1%)、*C. coli* は 2 株 (28.6%) であった。TC 耐性株は *C. jejuni* では 21 株 (24.4%)、*C. coli* では 3 株 (42.9%) であった。

2) 微量液体希釈法による MIC 値の測定

2019 年に分離された *C. jejuni* 132 株および *C. coli* 16 株を供試した。NA に対する MIC が 128 μ g/mL 以上であったのは、*C. jejuni* では 73 株 (55.3%)、*C. coli* では 12 株 (75.0%) 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 CPFX と EM であり、CPFX は $\geq 4 \mu$ g/mL、EM は $\geq 32 \mu$ g/mL で耐性である。CPFX 耐性は *C. jejuni* では 76 株 (57.6%)、*C. coli* では 12 株 (75.0%)、EM 耐性は *C. jejuni* で 2 株 (1.5%)、*C. coli* で 5 株 (37.5%) 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 (図 5)。

TC の生物学的ブレイクポイントは $\geq 16 \mu$ g/mL で、*C. jejuni* は 51 株 (38.6%)、*C. coli* は 11 株 (68.8%) が耐性であった。LVFX の生物学的ブレイクポイントは $\geq 4 \mu$ g/mL で、*C. jejuni* は 76 株 (57.6%)、*C. coli* は 11 株 (68.8%) が耐性であった。

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

2021 年に健康者の糞便から分離された 248 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 125 株 (50.4%) 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 NA で 32.3%、次いで ABPC 30.6%、TC 21.8%、SM および ST 合剤がそれぞれ 17.3% であった。フルオロキノロン (CPFEX, NFLX, OFLX) 耐性は 14.1%、CTX 耐性は 4.8%、CAZ 耐性は 1.2%、AMK 耐性は 0.4% であった。CFX、IPM および MEPM に耐性を示した株は認められなかった (図 6)。2021 年分離株は 2020 年分離株と比較してキノロン系薬剤に対する耐性率が非常に上昇していた。

2) ESBL 産生菌の検出と遺伝子型別試験

第 3 世代セファロsporin 系薬剤に耐性を示した 12 株 (4.8%) 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 12 株で、AmpC 産生株は認められなかった。ESBL 産生株の遺伝子型は CTX-M-1 グループが最も多く 6 株、CTX-M-9 グループが 5 株、CTX-M-1 グループおよび CTX-M-9 グループ両方のタイプが 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 248 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

2021 年に搬入された国産鶏肉 118 検体中、大腸菌が検出されたのは 109 検体 (92.4%) であった。輸入鶏肉では 36 検体中 31 検体 (86.1%) 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 205 株および輸入由来株 61 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、国産由来株で耐性率が高かったのは ABPC, KM, SM, TC, ST 合剤, CP, FOM, NA, CPF, 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 CTX, CFX および GM の 3 薬剤のみであった (図 7)。この耐性傾向は昨年と同様であった。

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 10.4% であったが、2020 年は 1.0% まで低下した後、2021 年は 2.4% とわずかに上昇していた。また外国産鶏肉でも 27.0% (2015 年) から 6.6% (2021 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 27.0% (2015 年) から 1.6% (2021 年) と低下しており、国産鶏肉でも 2015 年の耐性率が 46.8% であったのを最高に 2021 年は 27.8% と低下した。しかし輸入鶏肉由来株と比較すると耐性率は高い傾向である。

プラスミド性コリスチン耐性遺伝子保有状況を表 4 に示した。国産由来のうち 3 株 (1.5%) から *mcr* 遺伝子が検出された。遺伝子型は *mcr-1* が 3 株 (レバー由来 2 株およびささみ由来 1 株) であった。食品数では 118 検体のうち 3 検体 (2.5%) が陽性であった。

4. 2021 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

2021 年にヒトから分離されたサルモネラは 54 株で 22 の血清型に、食品由来株は 71 株で 15 の血清型に分類された (表 5)。ヒト由来株で多く分離された血清型は 04 群 Schwarzengrund 17 株 (31.5%), 07 群 Thompson 5 株 (9.3%), 04 群 Sainptaul, 08 群 Manhattan, 09 群 Enteritidis が各 4 株 (7.4%) 等であった。一方、食品分離株は 04 群 Schwarzengrund が 45 株 (63.4%) と最も多く分離され、次いで 07 群 Infantis 6 株 (8.5%), 04 群 Agona 4 株 (5.6%) 等であった。

ヒト由来株のうち 1 薬剤以上に耐性を示した株は 32 株 (59.3%)、食品由来株では 59 株 (81.7%) と食品由来株の方が耐性率は高かった。

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 8 に示した。ヒト由来株は KM, SM, TC, NA の 4 薬剤に、食品由来株は KM, SM, TC, ST, CP, NA の 6 薬剤に耐性が認められた。KM, SM, TC, NA はヒト由来および食品由来株の両方で耐性が

認められ、耐性率はほぼ同様の傾向であった。

供試したサルモネラ株中、CTX 耐性株はヒト由来株で 1 株、食品由来株で 6 株検出された。ヒト由来株の血清型は 021 群 Minnesota, 食品由来株は 04 群 Heidelberg, 021 群 Minnesota および 04 群 (運動性なし) が各 2 株であった。

CTX 耐性株のうち 6 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、AmpC 産生は 3 株 (全て食品由来)、ESBL/AmpC 産生が 2 株 (ヒトおよび食品由来)、ESBL 産生が 1 株 (食品由来) であった。

D. 考察

2021 年に東京都内で発生した食中毒事例は 81 事例であった。例年の発生数より減少したのは、新型コロナウイルス感染症が蔓延した影響によるものと考えられた。細菌性食中毒ではカンピロバクターを原因とした事例が最も多く、19 事例 (23.5%) でありカンピロバクターは最も重要な食中毒起因菌である。

2020 年に都内病院で分離された散発患者由来 *C. jejuni* 86 株のうちフルオロキノロンに耐性を示したのは 27 株 (31.4%) であった。2019 年分離株の 56.1% と比較すると耐性率は減少しており、過去 10 年間の中でも最も低い耐性率であった。

一方、*C. coli* 7 株のフルオロキノロン耐性は 4 株 (57.1%) で 2019 年の 68.8% と比較するとやや減少していたが、過去 10 年間と比較するとほぼ横ばい傾向であった。

治療の第一選択薬である EM 耐性率は *C. jejuni* が 0%、*C. coli* が 28.6% であり、例年同様に *C. coli* の方が耐性率は高かった。しかし *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。

2019 年分離の *C. jejuni* 株を対象として 5 薬剤 (NA, CPF, 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。NA に対する MIC 値は、多くの株で 128 μ g/mL 以上の耐性を示していた。LVFX は $\geq 4 \mu$ g/mL を耐性と設定し耐性率を求めた結果、*C. jejuni* の耐性率は 57.6%、*C. coli* では 68.8% であった。

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 50.4% で、2015 年 (46.1%)、2016

年(37.6%),2017年(36.5%),2018年(41.3%),2019年(39.2%),2020年(42.3%)と比較すると、耐性率はやや高い傾向であった。耐性率が高い薬剤はNA(32.3%),ABPC(30.6%),TC(21.8%),SMおよびST合剤(17.3%)で、過去の耐性率と比較すると例年はABPCの耐性率が最も高い傾向であるが、2021年分離株ではNAの耐性率が高かった。更にフルオロキノロン系薬剤に対する耐性率も2020年の6.4%と比較して2021年は14.1%と例年の2倍程度高い傾向であった。2021年分離株のキノロン系薬剤に対する薬剤耐性率が高い理由は不明である。この状況は2021年分離株のみの傾向であるのか、今後の動向を注視していく必要がある。CTX耐性率は4.8%であり、例年と同様の傾向であった。

2021年分離株のうち、プラスミド性コリスチン耐性遺伝子(*mcr-1*~から*mcr-5*)陽性株は検出されなかった。

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27.8%であるのに対し輸入肉由来株では1.6%と低い耐性率であった。一方、GM耐性率は国産肉由来株3.9%に対して輸入鶏肉由来株では8.2%と高かった。輸入肉由来株のGM耐性株は、2018年19.4%,2019年13.2%,2020年21.0%,2021年8.2%と2021年は耐性率が著しく低下した。これら耐性率の傾向を注視していく必要があると考えられた。

国産鶏肉由来株のCTX耐性率は2012年が10.4%であったが2021年は2.4%であり、2019年以降1~2%台の低い耐性率で推移している。一方輸入肉由来株の耐性率は6.6%で、2020年の3.5%からは増加していたが2018年以降は2.8~6.6%で推移している。

2021年に分離されたヒト由来サルモネラは54株、食品由来株は71株で、2020年と同様の分離数であった。これは2019年以前と比較するとヒト由来株は約1/3に、食品由来株では約半数程度である。新型コロナウイルス感染症が蔓延したことから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ものと考えられた。

ヒト由来株は22血清型、食品由来は15血清型に分類された。ヒトおよび食品由来株に共通して多く分離されている血清型は04群Schwarzengrundでヒト由来株では17株

(31.5%)、食品由来株では45株(63.4%)を占めていた。04群Schwarzengrundの耐性率はヒト由来株が76.5%、食品由来株では84.4%と食品由来株の方が高かった。またCPおよびST合剤耐性株は食品由来株のみで認められた。KM,SM,TCに対する耐性率は共通して高く、耐性率も同じような傾向を示していることから、食品(主に鶏肉および鶏内臓肉)がヒトへの感染に大きく影響を与えている可能性が示唆された。

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59.3%、食品由来株では83.1%と、食品由来株で耐性率が高かった。この傾向は例年と同様である。

CTX耐性株の分離数は、ヒト由来株が1株、食品由来株は6株であった。食品由来株6株のうち4株はブラジル産鶏肉由来であった。

フルオロキノロン耐性は食品由来株で1株のみであった。

2021年は、2020年と同様に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。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

2020年に分離された散発患者由来*C. jejuni*86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27株(31.4%)であった。2019年分離株と比較すると耐性率は大きく減少しており、過去10年間の中では最も低かった。一方、*C. coli*7株のフルオロキノロンおよびNA耐性は4株(57.1%)であった。EM耐性株は*C. jejuni*では検出されなかったが、*C. coli*では2株(28.6%)認められた。*C. jejuni*のEM耐性率は低く推移しているが、*C. coli*では*C. jejuni*よりも高い傾向で推移している。

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50.4%で耐性率はやや高い傾向であった。例年はABPCの耐性率が最も高い傾向であったが、2021年分離株ではNAの耐性率が高かった。更にフルオロキノロン系薬剤に対する耐性率も2020年の6.4%と比較して2021年は14.1%と高い傾向であった。今後の動向に注視していく必要がある。CTX耐性率は4.8%であり、例年と同様の傾向であった。2021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検出されなかった。

2021年に搬入された国産鶏肉118検体中、大腸菌が検出されたのは109検体(92.4%)。輸入鶏肉では36検体中31検体(86.1%)であった。国産由来株で耐性率が高かった薬剤はABPC, KM, SM, TC, ST合剤, CP, FOM, NA, CPFX, NFLX, OFLXの11薬剤であった。一方、輸入由来株の方が高かった薬剤はCTX, CFXおよびGMの3薬剤のみであった。この耐性傾向は昨年と同様である。国産由来株のCTX耐性率は2019年以降3%程度で推移している。プラスミド性コリスチン耐性遺伝子保有は国産由来の3食品3株から検出された。遺伝子型は全て*mcr-1*であった。

2021年に分離されたヒト由来サルモネラは54株(22血清型)、食品由来株は71株(15血清型)であった。ヒトおよび食品由来株に共通して多く分離されている血清型は04群Schwarzengrundであった。薬剤耐性率は食品由来株の方が高かったが、KM, SM, TCに対する耐性率は共通して高く、耐性率も同じような傾向を示していることから、食品(主に鶏肉および

鶏内臓肉)がヒトへの感染に大きく影響を与えている可能性が示唆された。

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。

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* の薬剤耐性菌出現状況（東京都）

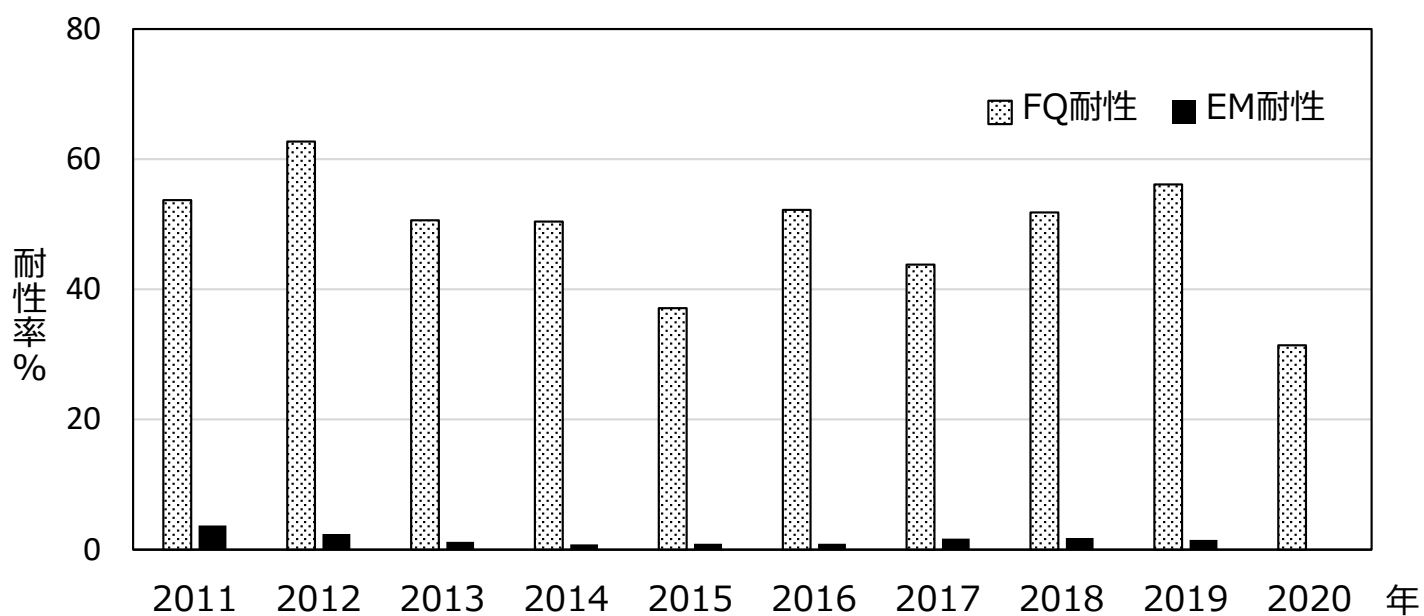


図2. 散発患者由来*C. coli* の薬剤耐性菌出現状況（東京都）

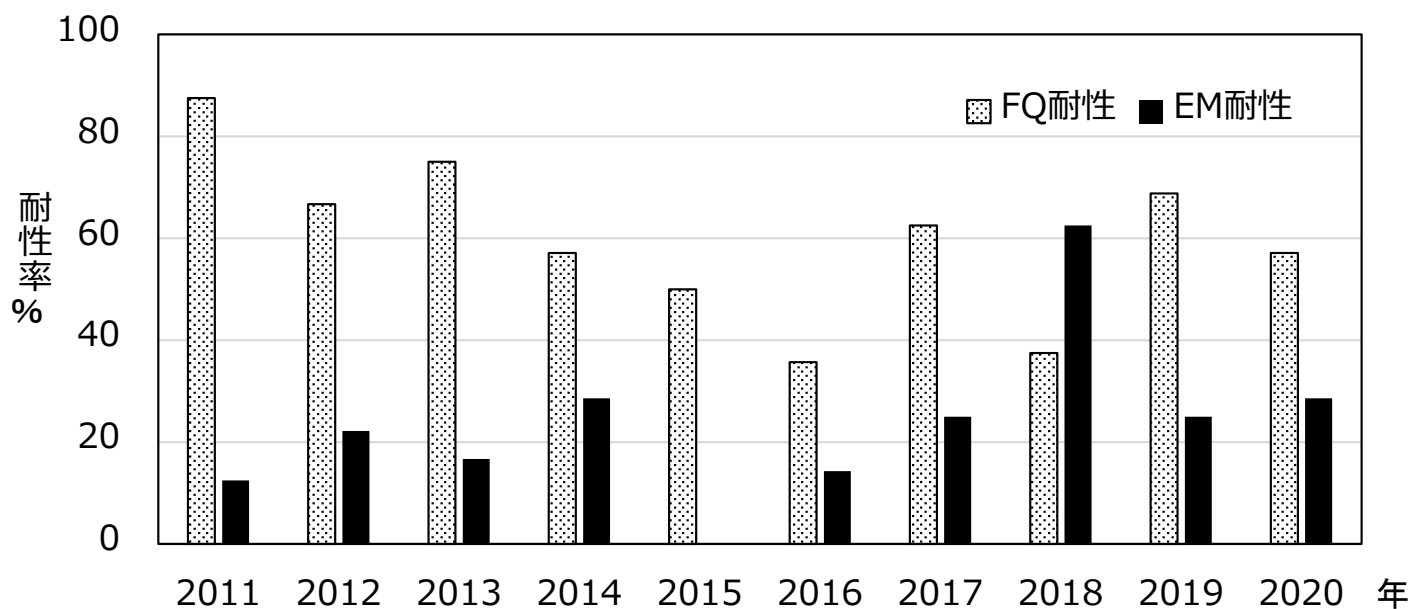


図3. 散発患者由来*C. jejuni* のMIC値 (2019年, 東京都)

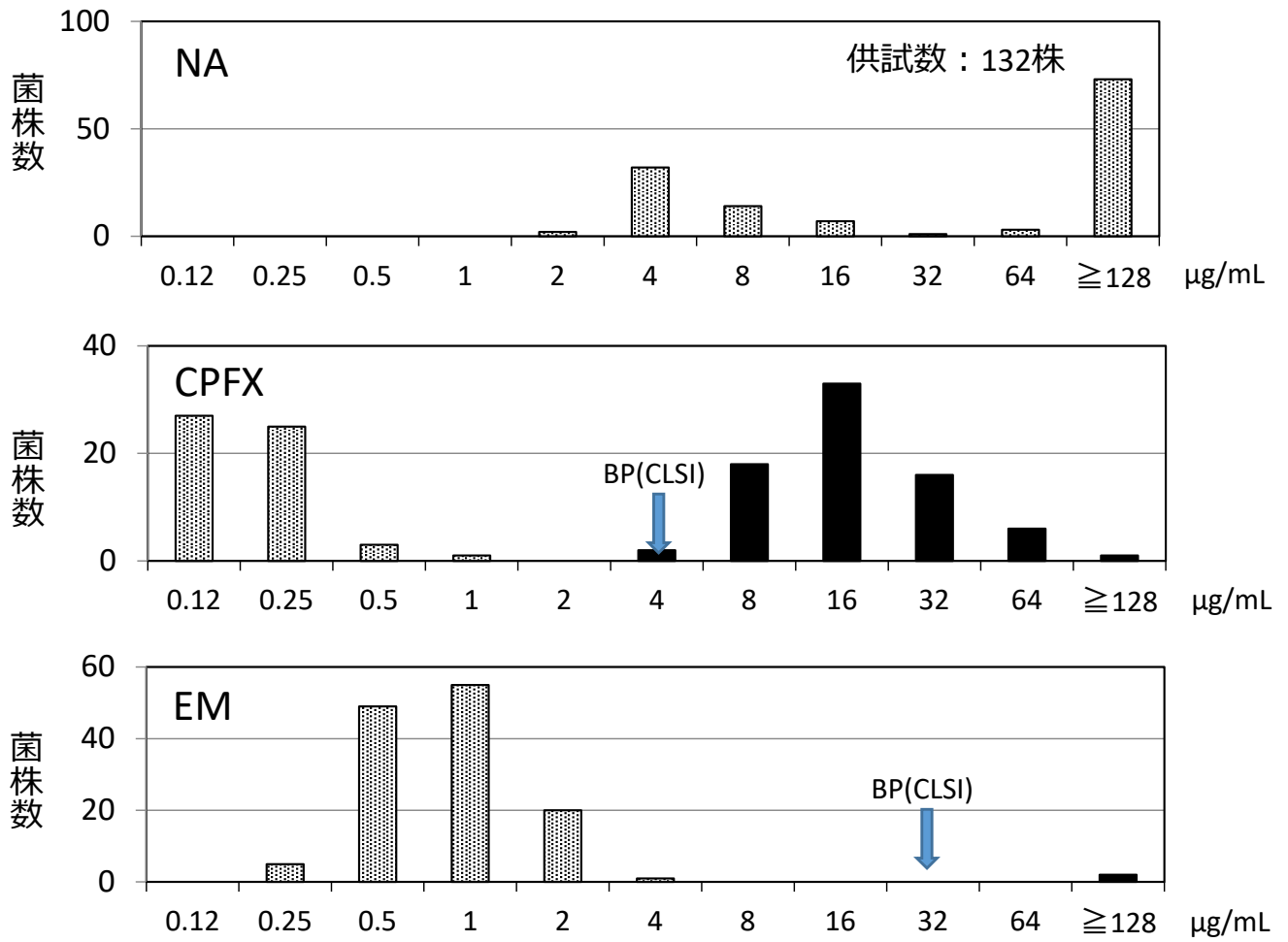


図4. 散発患者由来*C. coli* のMIC値 (2019年, 東京都)

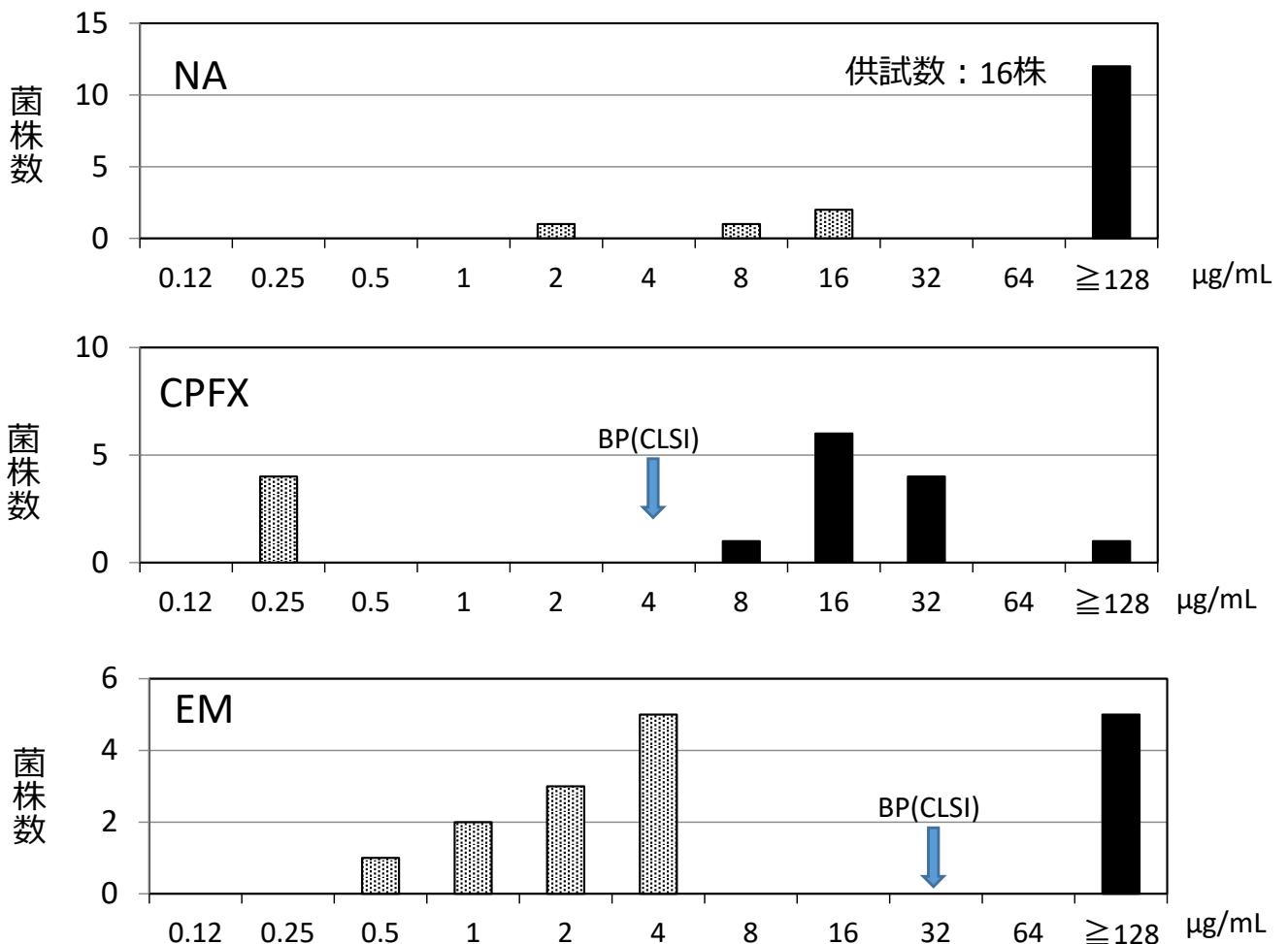


図5. 散発患者由来*C. jejuni* / *coli*のABPCに対するMIC値

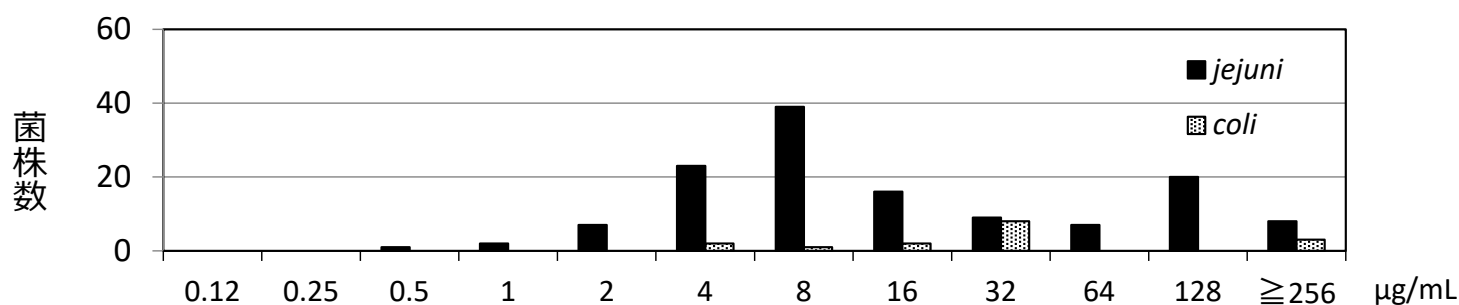


図6. 健康者由来大腸菌の薬剤別耐性菌出現状況（2020年2021年，東京都）

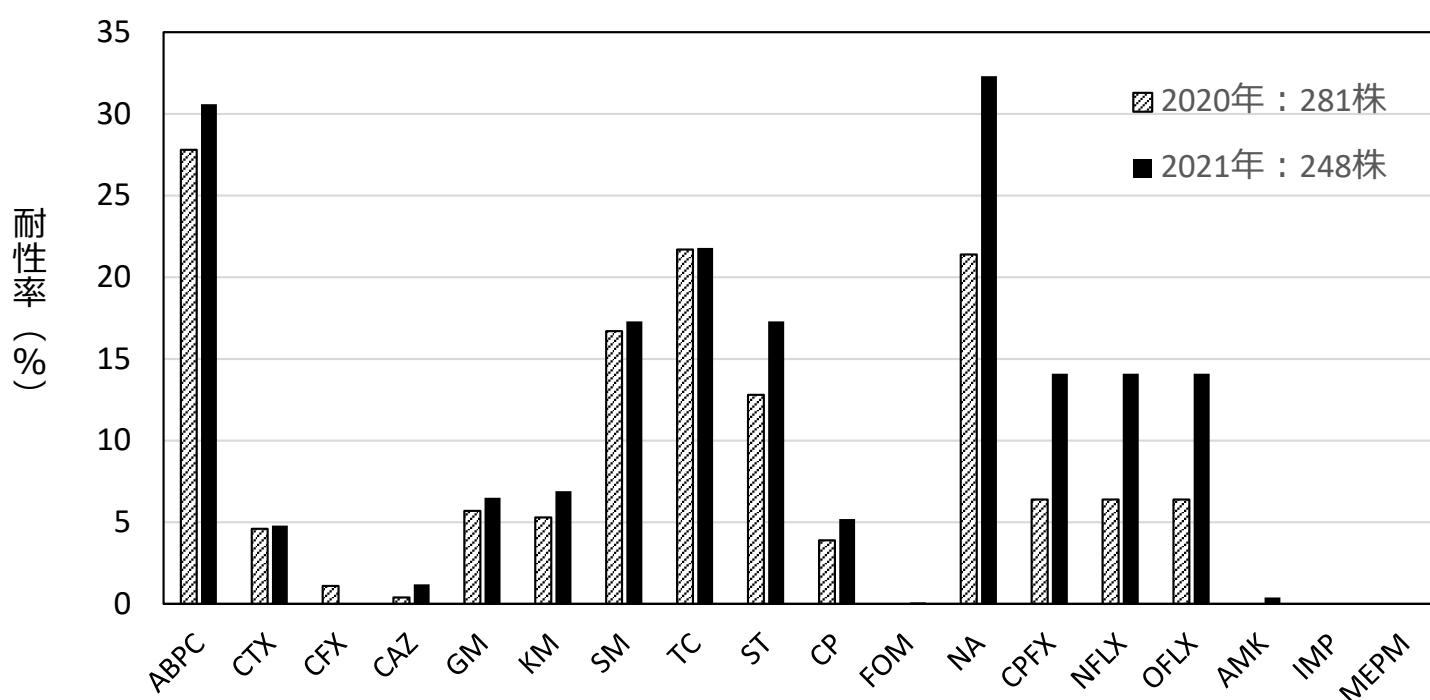


表1. 健康者糞便由来大腸菌のESBL/AmpC産生菌検出状況

| 年 | 供試数 | セフェム系耐性数 | % | ESBL | AmpC |
|-------|-----|----------|-----|------|------|
| 2021年 | 248 | 12 | 4.8 | 12* | 0 |

* CTX-M-1グループ：6株，CTX-M-9グループ：5株
CTX-M-1+CTX-M-9：1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（2021年）

| 検体 | 検体数 | 大腸菌陽性 | % | 供試集落数 |
|------|-----|-------|------|-------|
| 国産鶏肉 | 118 | 109 | 92.4 | 205 |
| 輸入鶏肉 | 36 | 31 | 86.1 | 61 |

図7. 市販鶏肉由来大腸菌の薬剤別耐性菌検出状況（2021年，東京都）

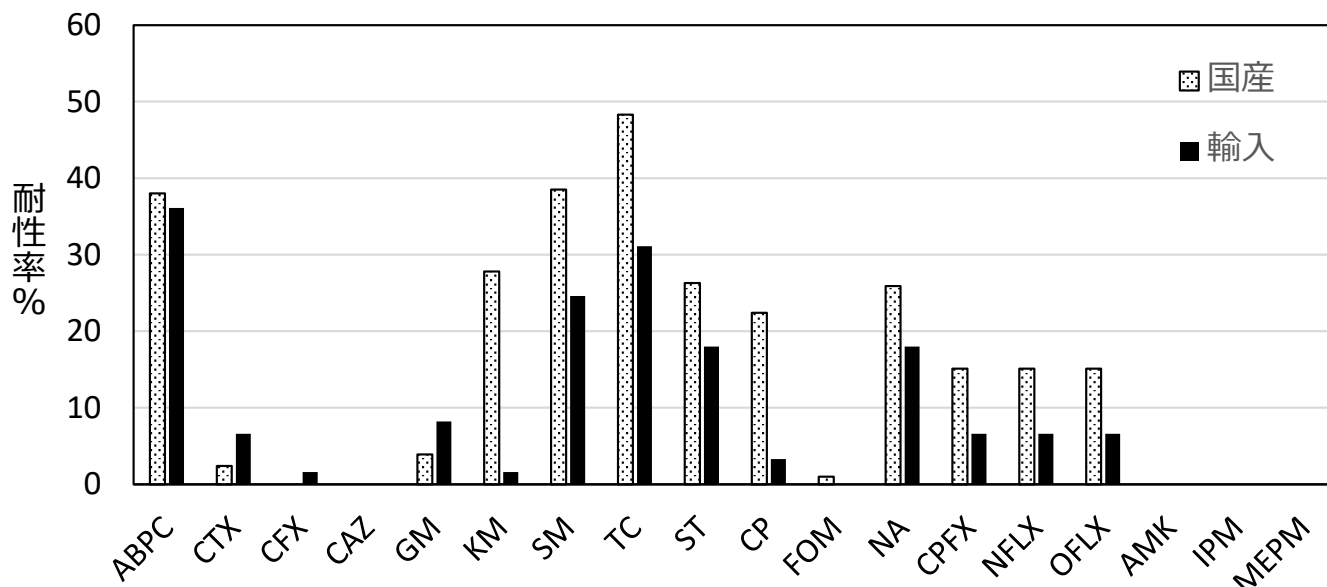


表3. 市販鶏肉由来大腸菌のCTXおよびKM耐性率の年次変化

| 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 |
| | 2021 | 2.4 | 27.8 |
| 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 |
| | 2021 | 6.6 | 1.6 |

表4. 市販鶏肉由来大腸菌のプラスミド性コリスチン耐性遺伝子保有状況（2021年）

| 由来 | 菌株数 | | | 食品数 | | |
|----|-----|-----|-------|-----|-----|-------|
| | 供試数 | 陽性数 | (%) | 供試数 | 陽性数 | (%) |
| 国産 | 205 | 3* | (1.5) | 118 | 3 | (2.5) |
| 輸入 | 61 | 0 | | 36 | 0 | |

* *mcr-1* : 3株（レバー2，ささみ1）

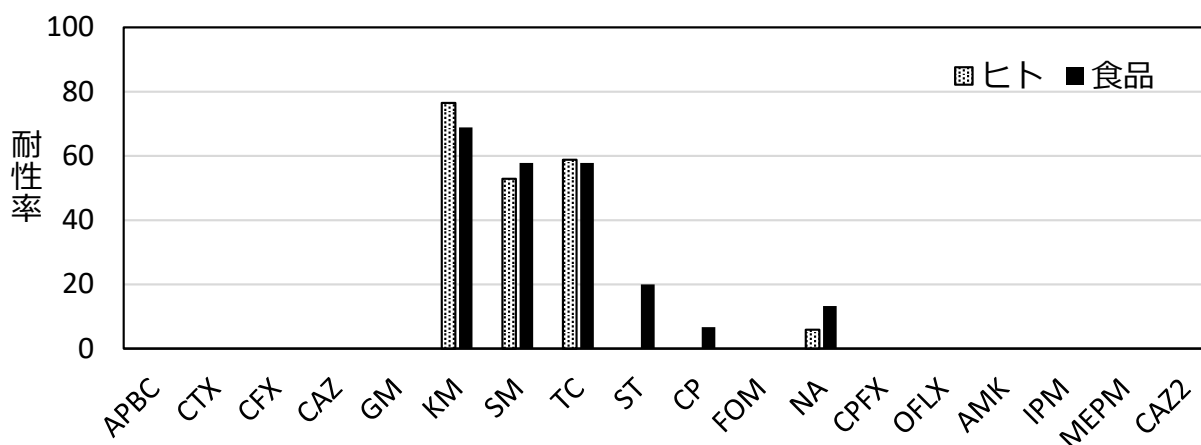
表5. ヒトおよび食品由来サルモネラの上位血清型（2022年，東京都）

| 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 | 17 | 31.5 | O4 | Schwarzengrund | 45 | 63.4 |
| O7 | Thompson | 5 | 9.3 | O7 | Infantis | 6 | 8.5 |
| O4 | Saintpaul | 4 | 7.4 | O4 | Agona | 4 | 5.6 |
| O8 | Manhattan | 4 | 7.4 | O4 | Heidelberg | 3 | |
| O9 | Enteritidis | 4 | 7.4 | O21 | Minnesota | 2 | |
| O4 | Chester | 2 | | O4 | 運動性 (-) | 2 | |
| O4 | Typhimurium | 2 | | O4 | Bredeney | 1 | |
| O7 | Infantis | 2 | | O4 | i : - | 1 | |
| O4 | Agpna | 1 | | O7 | r : 1, ? | 1 | |
| O4 | Brandenberg | 1 | | O8 | Corvallis | 1 | |
| O4 | i : - | 1 | | O8 | Dusseldorf | 1 | |
| O7 | Rissen | 1 | | O8 | Manhattan | 1 | |
| O8 | Duesseldorf | 1 | | O35 | Alachua | 1 | |
| O8 | Hadar | 1 | | O8 | Bovismorbificans | 1 | |
| O9 | eh : - | 1 | | O3,10 | Anatum | 1 | |
| O9 | Panama | 1 | | | | | |
| O16 | Hvittingfoss | 1 | | | | | |
| O21 | Minnesota | 1 | | | | | |
| O28 | Pomona | 1 | | | | | |
| O3,10 | Give | 1 | | | | | |
| O3,10 | London | 1 | | | | | |
| O3,10 | Weltevreden | 1 | | | | | |

ヒト由来株：54株 22血清型
 （集団事例 は代表1株を計上）

食品由来株（外国産鶏肉由来株を含む）：71株
 15血清型

図8. S. Schwarzengrundの薬剤感受性試験成績（2021年）



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3年度 分担研究報告書

ワンヘルスに基づく食品由来薬剤耐性菌のサーベイランス体制の強化ための研究（21KA1004）
分担課題：食肉由来薬剤耐性菌の調査と耐性機序の研究

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

本分担研究では1)食品に関連する薬剤耐性菌情報の収集・解析体制の強化、及び2)動物性食品の薬剤耐性菌の動向調査・薬剤耐性機序に関する研究をそれぞれ行った。

1)食品に関連する薬剤耐性菌情報の収集・解析体制の強化については、厚生労働省食品安全局から複数カ所の自治体（食肉衛生検査所・食肉処理場）、および2カ所の検疫所に対してそれぞれ国産鶏肉と輸入鶏肉検体の収集を依頼した。年度内に合計200検体（国産鶏肉126検体、輸入鶏肉74検体）を収集し、順次解析を開始した。また耐性菌バンク構築のために、これまでの調査研究において国内外の食肉検体から分離された薬剤耐性腸内細菌科細菌56株および薬剤耐性腸球菌64株の合計120株を国立感染症薬剤耐性研究センターへ送付した。

2)動物性食品の薬剤耐性菌の動向調査・薬剤耐性機序に関する研究では、2021年2月から3月にかけて収集（2020年度収集）した国内産鶏肉50検体（群馬20検体、鹿児島30検体）、および輸入鶏肉97検体（ブラジル62検体、米国15検体、タイ12検体、ニュージーランド6検体、スペイン2検体）について、ESBL産生腸内細菌科細菌、AmpC産生腸内細菌科細菌、コリスチン耐性腸内細菌科細菌、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）、バンコマイシン耐性腸球菌（VRE）、リネゾリド耐性腸球菌、バシトラシン耐性腸球菌の分離（検出）と薬剤感受性試験、耐性機序・染色体遺伝子型別を実施した。2021年収集株ではESBL産生/AmpC産生腸内細菌科細菌が国内産鶏肉47検体（94%）から、輸入鶏肉検体26検体（27%）からそれぞれ検出された。ESBLの耐性型はCTX-Mが主であり、群馬県産株からはCTX-M9が多かった。*fonA*陽性（染色体性ESBL）*S. fonticola*が輸入鶏肉5検体（5%）（ブラジル3検体、タイ1検体、ニュージーランド1検体）から検出された。AmpCの耐性型はCITが主であった。一方、CREやコリスチン耐性株は検出されなかった。薬剤耐性腸球菌に関しては、VanN型VRE株が国産鶏肉4検体（8%）（群馬1検体、鹿児島3検体）から検出された。リネゾリド耐性腸球菌（*optrA*陽性株）が国内産鶏肉11検体（22%）（群馬8検体、鹿児島3検体）から検出された。バシトラシン耐性腸球菌（*bcr*陽性株）が国産鶏肉検体、及び米国産及びスペイン産を除く他の輸入鶏肉検体から検出された（分離頻度；群馬県産80%、鹿児島県産77%、ブラジル産24%、ニュージーランド産50%）。

A. 研究目的

1)食品に関連する薬剤耐性菌情報の収集・解析体制の強化

サーベイランスを効率的に実施するためにサーベイランスを実施するフィールド、対象とする耐性菌を食肉衛生検査所・検疫所由来検体として、食肉検体を収集し、食肉由来株の調査研究を行う。また国立感染症薬剤耐性研究センターでの耐性

菌バンク構築のために、本調査で分離された食肉由来耐性株については、代表的な耐性株を選び、研究センターへ送付することとした。

2)動物性食品の薬剤耐性菌の動向調査・薬剤耐性機序に関する研究

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。

一方、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、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 との関係性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。更に家畜に使用されている抗菌薬バシトラシンについてもその耐性菌への影響を調査する目的で、食肉由来バシトラシン耐性腸球菌の検出を行った。

B. 研究方法

食肉検体 (表 1) : 2021 年 2 月から 3 月 (2020 年度収集検体) にかけて、国内産食肉として国内 2 ヶ所の食肉検査所から鶏肉合計 50 検体 (鹿児島 30 検体、群馬 20 検体) を収集した。また同時期に海外食肉は各年度に検疫所で取り扱う輸入鶏肉合計 97 検体 (ブラジル産 62 検体、米国産 15 検体、タイ産 12 検体、ニュージーランド産 6 検体、スペイン産 2 検体) を収集した (表 1)。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 :

①ESBL 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 1mg/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 2mg/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°C、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カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) の検出

上記 1) の ESBL 産生菌及び AmpC 産生菌の検出と同様に食肉検体を 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 (イミペネム 1mg/L またはメロペネム 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、それらの各種薬剤感受性試験及び菌種同定を行った。

③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 1mg/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* 検出用のプライマー 8 セットを用いたコロニー-PCR によって各耐性遺伝子の検出を行った。

④VRE 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°C、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 シークエンス解析 (Big Dye primer 法)、PFGE 解析、MLST 解析を行った。

⑤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°C、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*, *poxtA*, *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 シークエンス解析 (Big Dye primer 法)、PFGE 解析、MLST 解析を行った。

⑥バシトラシン耐性遺伝子の検出

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 ; バシトラシン (BC)

腸球菌の分離 ; BC 耐性菌検出のための方法として検体のガーゼのふき取りサンプル、ミンチ肉片を、薬剤非添加 Enterococcosel Broth で 48 時間増菌後、菌液 0.2 ml を BC 10 U/mL 加 Enterococcosel Broth 2ml で 48 時間選択増菌した。この菌液 0.1ml を BC 10 U/mL 加 Enterococcosel agar に塗布し 48 時間培養、得られたコロニーを BC 10 U/mL 加 Brain Heart Infusion agar 上で単集落分離を行うことにより耐性株を選択した。高度バシトラシン耐性遺伝子の確認には、*bcrRABC* 遺伝子群の検出を行った。必要に応じて DNA シークエンス解析 (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) 食品に関連する薬剤耐性菌情報の収集・解析体制の強化

(a) 今年度も厚生労働省食品安全局から複数カ所の自治体 (食肉衛生検査所・食肉処理場) 及び 2 カ所の検疫所 (神戸と横浜) に対してそれぞれ国内産鶏肉と輸入鶏肉検体の収集を依頼した。2022 年 2 月から 3 月にかけて、各機関から検体が送付され、最終的に今年度中に国産鶏肉 126 検体 (鹿児島県産 30 検体、山口県産 36 検体、兵庫県産 40 検体、群馬県産 20 検体)、及び輸入鶏肉 74 検体 (ブラジル産 59 検体、タイ産 11 検体、米国産 4 検体) の合計 200 検体を収集した (表 1)。これらの鶏肉検体について順次、解析を開始した (2022 年度に解析を継続中)。

(b) 耐性菌バンク構築及び詳細な全ゲノム解析のために、これまでの調査研究において国内外の食肉検体から分離された薬剤耐性腸内細菌科細菌 56 株および薬剤耐性腸球菌 64 株の合計 120 株を国立感染症薬剤耐性研究センターへ送付した。

2) 動物性食品の薬剤耐性菌の動向調査・薬剤耐性機序に関する研究

2021 年 2 月から 3 月にかけて収集した国内産鶏肉 50 検体 (群馬 20 検体、鹿児島 30 検体)、および輸入鶏肉 97 検体 (ブラジル 62 検体、米国 15 検体、タイ 12 検体、ニュージーランド 6 検体、スペイン 2 検体) について、ESBL 産生腸内細菌科細菌、AmpC 産生腸内細菌科細菌、コリスチン耐性腸内細菌科細菌、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE)、バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE)、リネゾリド耐性腸球菌、バシトラシン耐性腸球菌の分離 (検出) と薬剤感受性試験、耐性機序・染色体遺伝子型別を実施した (表 1)。

①ESBL 産生菌は 65 検体陽性 (44.2%)、AmpC 産生菌は 14 検体陽性 (9.5%) であり、それらの分離頻度は、昨年度及び一昨年度とやや高いか同程度であった (昨年度は ESBL 産生菌 32.5%、AmpC 産生菌 9.6%、一昨年度は ESBL 産生菌 24.2%、AmpC 産生菌 5.8% の検出率) (表 2、表 6)。

ESBL 産生菌は国産鶏肉から高い頻度で検出され (国内産 86.0%、輸入 22.7%)、これまで同様の傾向であったが (昨年度は国内産 39.4%、輸入 28.8%、一昨年度は国内産 36.0%、輸入 11.1%)、今年度は特に著しかった (表 3、表 7)。一方、AmpC 産生菌の検出率は国内産が 20.0%、輸入食肉が 4.1% と一昨年度と同様に国内産鶏肉の方が高かった (昨年度は国内産が 4.2%、輸入食肉が 12.1%、

一昨年度は国内産 11.0%、輸入食肉が 0%) (表 3、表 7)。

耐性菌の産地別の分離頻度は異なっており、特に輸入鶏肉では差があり、ブラジル産やスペイン産の ESBL 産生株の検出頻度は高かった (それぞれ 29%、50%)。耐性菌の遺伝子型の解析から、ESBL 産生菌は国産肉 (43 検体陽性) では CTX-M 型 (93%) と SHV 型 (14%) が多く、輸入肉 (22 検体陽性) では CTX-M 型 (59%) と FONA 型 (23%) が多かった (表 4、表 8)。CTX-M 型遺伝子として国内産では M9 型グループ (37%)、M1 型グループ (28%)、M2 型グループ (28%) が分離された。特に群馬産鶏肉から臨床分離株に多い CTX-M-9Gp 産生株が多く分離された (ただし後述のように耐性の伝達性は無かった)。輸入食肉では CTX-M1 型 (27%) が最も多く、続いて CTX-M8/25 型 (23%) が分離された。AmpC 型遺伝子としては国内外共に主に CIT 型 (CMY-2) が検出された (表 4、表 8)。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 5 検体から検出された (表 8)。

ESBL 産生および AmpC 産生の輸入鶏肉由来 34 株 (26 検体から分離) および国内産鶏肉由来 65 株 (50 検体から分離) 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、輸入鶏肉由来株では耐性株を得られなかったが、国内産鶏肉由来 26 株 (40%) 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 (表 5、表 9)。これらの伝達株は AmpC 産生菌が 13 株、CTX-M 型 ESBL 産生菌が 13 株であり、全て鹿児島県産鶏肉検体由来株であった。国内産鶏肉由来耐性伝達株のプラスミドのレプリコン型を解析したところでは IncK 型 16 株、IncFIB 型 4 株、IncI1 型 1 株、Frep 型 (FIA/FIB 以外の IncF) 5 株であった (表 5)。尚、昨年度の国内産鶏肉由来耐性伝達株のプラスミドのレプリコン型は 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 61 株、国外 34 株、合計 95 株) の菌種としては *Escherichia coli* が最多であり (86 株 90.5%)、国産鶏肉由来株は全て *E. coli* であった (表 5)。一方、国外産 (輸入) からは *E. coli* の他に *Serratia fonticola* が 6 株、(通常 37°C では発育しない) 低温性環境菌の *Rahnella* spp. が 3 株分離された (表 9)。2017 年、2018、2019 年の本調査において、マイナー 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、米国産、タイ産の各鶏肉から検出されている (図 1、図 2、表 10)。今年度もブラジル産 3 検体、タイ産 1 検体、ニュージーランド産 1 検体から *fonA* 遺伝子

を保持する *Serratia fonticola* が分離された (表 11)。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 6 株を含む食肉由来の株が保有する *fonA* 遺伝子は由来は異なるものの互いに近縁であることが明らかとなった (図 3)。

②今年度の収集検体からはカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) は検出されなかった。

3) コリスチン耐性大腸菌の検出

一昨年度は *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。

4) VRE の検出 (表 2、表 3)

今年度の食肉検体からは VanA 型及び VanB 型などの高度耐性 VRE 株は検出されなかった。しかし、低度 VCM 耐性腸球菌株 (VCM の MIC 値; 3-8 mg/L) を国産鶏肉 50 検体のうち 8 検体から検出した。そのうち鹿児島県産 3 検体及び群馬県産 1 検体からの分離株は VanN 型 VRE で全て *E. faecium* 株であった。今回、鹿児島県産鶏肉 3 検体から分離した VanN 型 VRE 株は以前に宮崎県や群馬県で検出された ST669 (2 検体)、及びこれまでは宮崎県でのみ検出されていた ST862 (1 検体) であった (表 2、表 3)。また群馬県産鶏肉 1 検体から分離した VanN 型 VRE 株は ST669 であった。他の低度耐性 VRE 株については耐性型不明であった。

5) 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 11 検体 (群馬県産 8 検体、鹿児島県産 3 検体) と輸入鶏肉 7 検体 (ブラジル産 7 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)。国内産の鶏肉検体から分離された LZD 低度耐性株 (群馬県 8 検体 16 株、鹿児島県 3 検体 6 株) は全て *optrA* 陽性 *fexA* 陽性 *E. faecalis* 株であった。PFGE 解析結果から今回国内で分離された耐性株は産地ごとに互いに類縁であり、また鹿児島県の分離株は 2015 年度に群馬県産鶏肉からの耐性株と同一由来であることが明らかとなった。起源が同一の *E. faecalis* (*optrA+*, *fexA+*) 株が国内の養鶏環境中に拡散している可能性が示された (図 2)。一方、ブラジル産鶏肉 7 検体 10 株の LZD 低度耐性株は全て *E. faecalis* 株であったが、耐性遺伝子は不明であった。

6) バシトラシン (BC) 耐性腸球菌の検出

以前に我々の調査研究において、国内外の食肉、特に鶏肉検体から高度バシトラシン耐性腸球菌 (BC の MIC 値; 64 U/mL 以上) が高頻度で分離され、その多くが *bcrRABC* 耐性遺伝子を保有するこ

とを明らかにした。現在もバシトラシンは家畜に使用されており、その後の耐性株の動向を知るために、今年度は食肉検体から BC 耐性腸球菌の検出を追加して行った。その結果、国内外の鶏肉検体から *bcr* 遺伝子陽性高度 BC 耐性腸球菌が高頻度で検出された。それらの分離頻度は群馬県産 80%、鹿児島県産 77%、ブラジル産 24%、ニュージーランド産 50%であった。特に国内産鶏肉検体の検出頻度は輸入鶏肉検体のそれよりも高いことが判明した。国産鶏肉由来株の多くは *E. faecium* 株、一方、輸入鶏肉由来株の多くは *E. faecalis* 株であった。

D. 考察

ESBL/AmpC 産生株の調査においては、以前の検出方法を改善 (Ampicillin を添加した液体培地で前培養・増菌処理を行なう工程を追加) した以後、耐性菌の検出率は良好であると考えられる。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。

昨年度の調査結果とは異なり、今年度は ESBL 産生菌が国内産からより多く分離され (86%)、特に群馬県産鶏肉の全数検体から検出された。一方で、AmpC 産生菌の分離頻度は昨年同様に比較的低かった (国外 20%、国内 4%)。これまでの調査ではブラジル産の鶏肉検体からは ESBL 産生菌を中心に比較的多くの耐性菌が分離される傾向を認めている。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。昨年同様に今年度も国内産鶏肉検体は 2 つの地域 (鹿児島と群馬) からの収集のみであったが、ESBL 産生菌は群馬県産鶏肉検体の全てから分離されたが、AmpC 産生菌は群馬県産鶏肉からは全く分離されず、逆に鹿児島県産鶏肉の約三分の一の検体から分離された。

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* がブラジル産以外、タイ産及びニュージーランド産鶏肉からも検出された。過去 3 年間の調査において、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継続的に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改めて示された。

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、これまでの調査で国内産鶏肉検体 (宮崎県産及び群馬県産) から VanN 型 VRE (*E. faecium*) がしばしば検出されている。昨年度は VanN 型 VRE の検出はなかったが、今年度の調査では鹿児島県産鶏肉 3 検体と群馬県産鶏肉 1 検体から検出された。鹿児島県産鶏肉からの VanN 型 VRE 株の検出は初めてであった。PFGE 解析及び MLST 解析から、群馬県産鶏肉からの分離株はこれまで群馬県産鶏肉から分離されている ST669 型株であった。一方、鹿児島県産 3 検体から分離された株のうち 2 つの検体由来株は群馬や宮崎で分離された ST669 型株であったが、他の 1 つの検体由来株は宮崎で分離された ST862 株であった。ST862 株はフランスから報告された臨床分離株 ST240 株と近縁であり、関連性が示唆されている。全国的に 2 系統の VanN 型 VRE 株 (ST669 型及び ST862 型) が養鶏環境中に拡散していることが確認された。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、昨年度同様一部の輸入鶏肉 (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。

一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、*optrA* 陽性 *fexA* 陽性 LZD 低度耐性腸球菌 (*E. faecalis*) が国内 2 カ所からの鶏肉検体から分離された。国内群馬県産及び鹿児島県産の検体のそれぞれ 40%、10% からそれぞれ同一の *optrA* 陽性 *fexA* 陽性 LZD 低度耐性腸球菌 (*E. faecalis*) 株が検出され、PFGE 解析から、これらは互いに近縁株であることが示された。(表 16、図 2)。さらに、過去の調査研究で分離された *optrA* 陽性 *fexA* 陽性 LZD 低度耐性腸球菌 (*E. faecalis*) 株と PFGE プロファイルが

類似しており、関連性が示された。昨年度までの結果からは、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が、全国的な養鶏環境中での耐性菌の拡散が強く示唆された。食肉由来 LZD 耐性株、特に *optrA* 陽性 *flexA* 陽性 LZD 低度耐性腸球菌 (*E. faecalis*) 株について今後も継続的な全国調査による動向把握が必要と考える。今年度はバシトラシン耐性腸球菌について調査を行ったが、国内外の鶏肉検体から *bcr* 遺伝子群保有高度バシトラシン耐性腸球菌が高頻度で検出され、バシトラシン使用の影響が伺えた。菌種として国内産鶏肉からは主に *E. faecium* が、一方、輸入鶏肉からは主に *E. faecalis* が検出されたが、検体の保存及び輸送流通形態の違い（冷凍保存又は生肉）の影響がその要因と推察される。

E. 結論

食肉由来多剤耐性菌として、2021 年に収集した国内外の鶏肉検体の約 8 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 産生菌として複数カ国からの輸入鶏肉検体から *Serratia fonticola* が検出された。食肉検体からはカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) 及びコリスチン耐性大腸菌は検出されなかった。異なる産地の国産鶏肉から VanN 型 VRE (*E. faecium*) が検出された。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。バシトラシン耐性腸球菌が国内外の鶏肉検体から高頻度で分離された。

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) Kurushima J, Tomita H. Inactivation of GalU Leads to a Cell Wall-Associated Polysaccharide Defect That Reduces the Susceptibility of *Enterococcus faecalis* to Bacteriolytic Agents. *Appl Environ Microbiol.* 87(7):e02875-20. (2021).

- 2) Hirakawa H, Takita A, Uchida M, Kaneko Y, Kakishima Y, Tanimoto K, Kamitani W, Tomita H. Adsorption of Phenazines Produced by *Pseudomonas aeruginosa* Using AST-120 Decreases Pyocyanin-Associated Cytotoxicity. *Antibiotics (Basel).* 10(4):434. (2021).
- 3) Hirakawa H, Suzue K, Takita A, Kamitani W, Tomita H. Roles of OmpX, an Outer Membrane Protein, on Virulence and Flagellar Expression in Uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun.* 89(6):e00721-20. (2021).
- 4) Hirakawa H, Suzue K, Takita A, Tomita H. Roles of OmpA in Type III Secretion System-Mediated Virulence of Enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Pathogens.* 10(11):1496. (2021).
- 5) Hirakawa H, Bordi C, Tomita H. Gram-Negative Pathogenesis. *Front Microbiol.* 12:813062. (2021).
- 6) Hashimoto Y, Hisatsune J, Suzuki M, Kurushima J, Nomura T, Hirakawa H, Kojima N, Ono Y, Hasegawa Y, Tanimoto K, Sugai M, Tomita H. Elucidation of host diversity of the VanD-carrying genomic islands in enterococci and anaerobes. *JAC Antimicrob Resist.* 4(1):dlab189. (2022).
- 7) Hirakawa H, Suzue K, Tomita H. Roles of the Tol/Pal System in Bacterial Pathogenesis and Its Application to Antibacterial Therapy. *Vaccines (Basel).* 10(3):422. (2022).

2. 学会発表
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

表1. 調査検体数(毎年2～3月採取)

国内鶏肉(拭き取りスワブ)

| | 鹿児島 | 宮崎 | 山口 | 兵庫 | 群馬 | 合計 |
|---------|-----|----|----|----|----|-----|
| 2019年 | 30 | 30 | - | - | 40 | 100 |
| 2020年 | 30 | 0 | - | - | 41 | 71 |
| 2021年* | 30 | 0 | - | - | 20 | 50 |
| 2022年** | 30 | - | 36 | 40 | 20 | 126 |

輸入鶏肉(ミンチ肉)

| | ブラジル | タイ | 米国 | デンマーク | ニュージーランド | トルコ | カナダ | スペイン | ポーランド | 合計 |
|---------|------|----|----|-------|----------|-----|-----|------|-------|-----|
| 2019年 | 57 | 21 | 10 | 2 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 76 |
| 2020年 | 103 | 12 | 13 | 0 | 0 | 2 | 1 | 0 | 0 | 132 |
| 2021年* | 62 | 12 | 15 | 0 | 6 | 0 | 0 | 2 | 0 | 97 |
| 2022年** | 59 | 11 | 4 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 74 |

*2020年度(2021年2月～3月)収集、2021年度解析(本結果報告書)

**2021年度(2022年2月～3月)収集、2022年度解析(現在解析中、来年度結果報告予定)

表2. 国産鶏肉：ESBL/AmpC陽性検体数

| 地域(検体数) | 耐性菌陽性検体数 |
|---------|--------------|
| 鹿児島(30) | 27 (90.0 %) |
| 群馬 (20) | 20 (100.0 %) |
| 合計 (50) | 47 (94.0 %) |

表3. 国産鶏肉：陽性検体数

| 鹿児島(30) | 耐性菌陽性検体数 |
|---------|--------------|
| ESBL | 23 (76.7 %) |
| AmpC | 10 (33.3 %) |
| 群馬(20) | 耐性菌陽性検体数 |
| ESBL | 20 (100.0 %) |
| AmpC | 0 |
| 合計(50) | 耐性菌陽性検体数 |
| ESBL | 43 (86.0 %) |
| AmpC | 10 (20.0 %) |

表4. 国産鶏肉：ESBL/AmpC型別検体数

| ESBL (43) | 鹿児島 | 群馬 | 合計 |
|-----------|----------------------|---------------|-------------|
| CTX-M-1Gp | 6 (CTX-M-15&55) * | 6 (CTX-M-55) | 12 (27.9 %) |
| CTX-M-2Gp | 12 (CTX-M-2) | 0 | 12 (27.9 %) |
| CTX-M-9Gp | 0 | 16 (CTX-M-14) | 16 (37.2 %) |
| TEM | 4 | 0 | 4 (9.3 %) |
| SHV | 6 (SHV-12) | 0 | 6 (14.0 %) |

* CTX-M-15 : 3検体 CTX-M-55 : 3検体

| AmpC (10) | 鹿児島 | 群馬 | 合計 |
|-------------|-----|----|------------|
| CIT (CMY-2) | 9 | 0 | 9 (90.0 %) |
| FOX | 1 | 0 | 1 (10.0 %) |

表5. 国産鶏肉: ESBL/AmpC産生菌種と耐性伝達性

| 菌種 | 株数 |
|----------------|------------|
| <i>E. coli</i> | 65 (100 %) |

- 寒天平板上での接合伝達 @37C, 6 hrs
 - Replica mating レプリカにて選択平板に転写
 - Spot mating 菌体をかき取って選択平板に塗布
 - CAZ^r、CTX^rの伝達を観察する
 - 受容菌は大腸菌K-12 Rif^r株
- 65株 (50検体) 中26株 (40.0%) で伝達
 - 26株はすべて鹿児島株
- Inc typing (26株)
 - IncK: 16, IncFIB: 4, IncI1: 1, Frep (FIA, B以外のIncF) 5
 - AmpC: 13, CTX-M: 13

表6. 輸入鶏肉: ESBL/AmpC陽性検体数

| 耐性遺伝子 | 耐性菌陽性検体数 |
|--------------|-------------|
| ESBL* | 22 (22.7 %) |
| AmpC | 4 (4.1 %) |
| ESBL or AmpC | 26 (26.8 %) |

* FONAをESBLとして集計

表7. 輸入鶏肉: ESBL/AmpC陽性検体数

| ブラジル (62) | | スペイン (2) | |
|-----------|-------------|--------------|------------|
| | 陽性検体数 | | 陽性検体数 |
| ESBL | 18 (29.0 %) | ESBL | 1 (50.0 %) |
| AmpC | 1 (1.6 %) | AmpC | 0 |
| アメリカ (15) | | ニュージーランド (6) | |
| | 陽性検体数 | | 陽性検体数 |
| ESBL | 1 (6.7 %) | ESBL | 1 (16.7 %) |
| AmpC | 3 (20.0 %) | AmpC | 0 |
| タイ (12) | | | |
| | 陽性検体数 | | |
| ESBL | 1 (8.3 %) | | |
| AmpC | 0 | | |

表8. 輸入鶏肉：ESBL型/AmpC型別検体数

| ESBL (22) | 検体数 | CTX-M | 検体数 |
|-----------|-------------------|------------------|-----|
| CTX-M | 13 (59.1 %) | CTX-M-Gp1 (55) | 6 |
| TEM | 1 (4.5 %) | CTX-M-Gp2 (2) | 2 |
| SHV | 2 (9.1 %) (SHV-2) | CTX-M-Gp8/25 (8) | 5 |
| FONA | 5 (22.7 %) | | |
| RAHN-1 | 3 (13.6 %) | | |

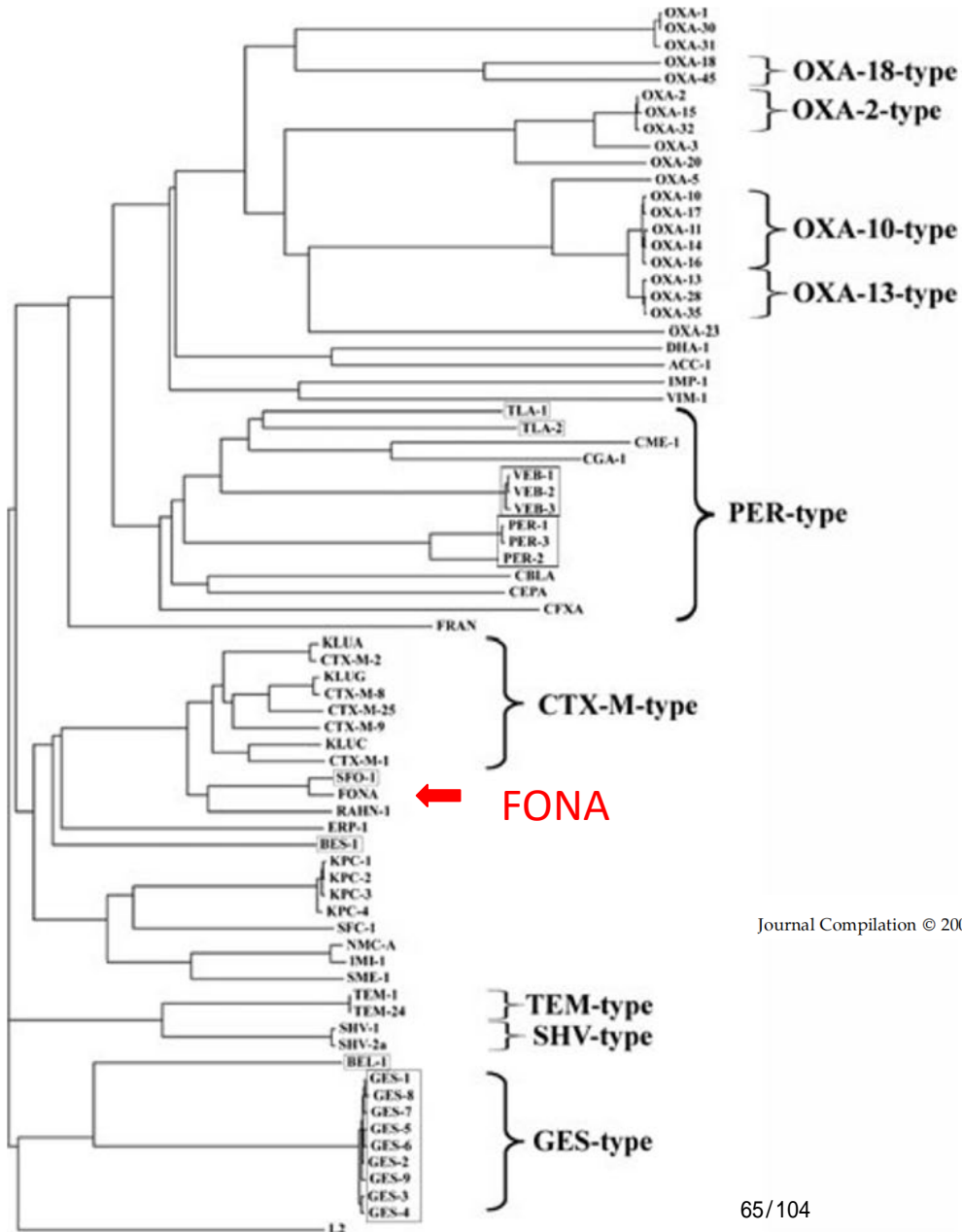
| AmpC (4) | 検体数 |
|-------------|-------------|
| CIT (CMY-2) | 4 (100.0 %) |

表9. 輸入鶏肉: ESBL/AmpC産生菌種と伝達性

| 菌種(34株) | 株数 |
|-------------------------------|-------------|
| <i>E. coli</i> | 25 (73.3 %) |
| <i>Serratia fonticola</i> | 6 (17.6 %) |
| <i>Rahnella spp.</i> (低温性環境菌) | 3 (8.8 %) |

- 寒天平板上での接合伝達 @37°C, 6 hrs
 - Replica mating レプリカにて選択平板に転写
 - Spot mating 菌体をかき取って選択平板に塗布
 - CAZ^r、CTX^rの伝達を観察する
 - 受容菌は大腸菌K-12 Rif^r株
- 伝達した株がなかった

図1. FONAは*S. fonticola*の染色体性ESBL



Minor extended-spectrum β -lactamases

T. Naas, L. Poirel and P. Nordmann

Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital de Bicêtre, Assistance Publique/Hôpitaux de Paris, Faculté de Médecine Paris-Sud, Université Paris XI, 94275 K.-Bicêtre, France

© 2008 The Authors

Journal Compilation © 2008 European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, CMI, 14 (Suppl. 1), 42-52

Fig. 1. Phylogeny of some chromosomal- and plasmid-encoded extended-spectrum β -lactamases (ESBLs). Plasmid-encoded minor class A ESBLs are boxed and OXA ESBLs are indicated. The dendrogram was constructed using CLUSTALW aligned protein sequences.

表10-1. 鶏肉由来*fonA*保有ESBL産生*S. fonticola*株①

β-lactam耐性以外に目立った耐性は持っていない(環境菌だから)

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

表10-2. 鶏肉由来*fonA*保有ESBL産生*S. fonticola*株②

| 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2. FONAを含むESBLの系統樹(アミノ酸配列)

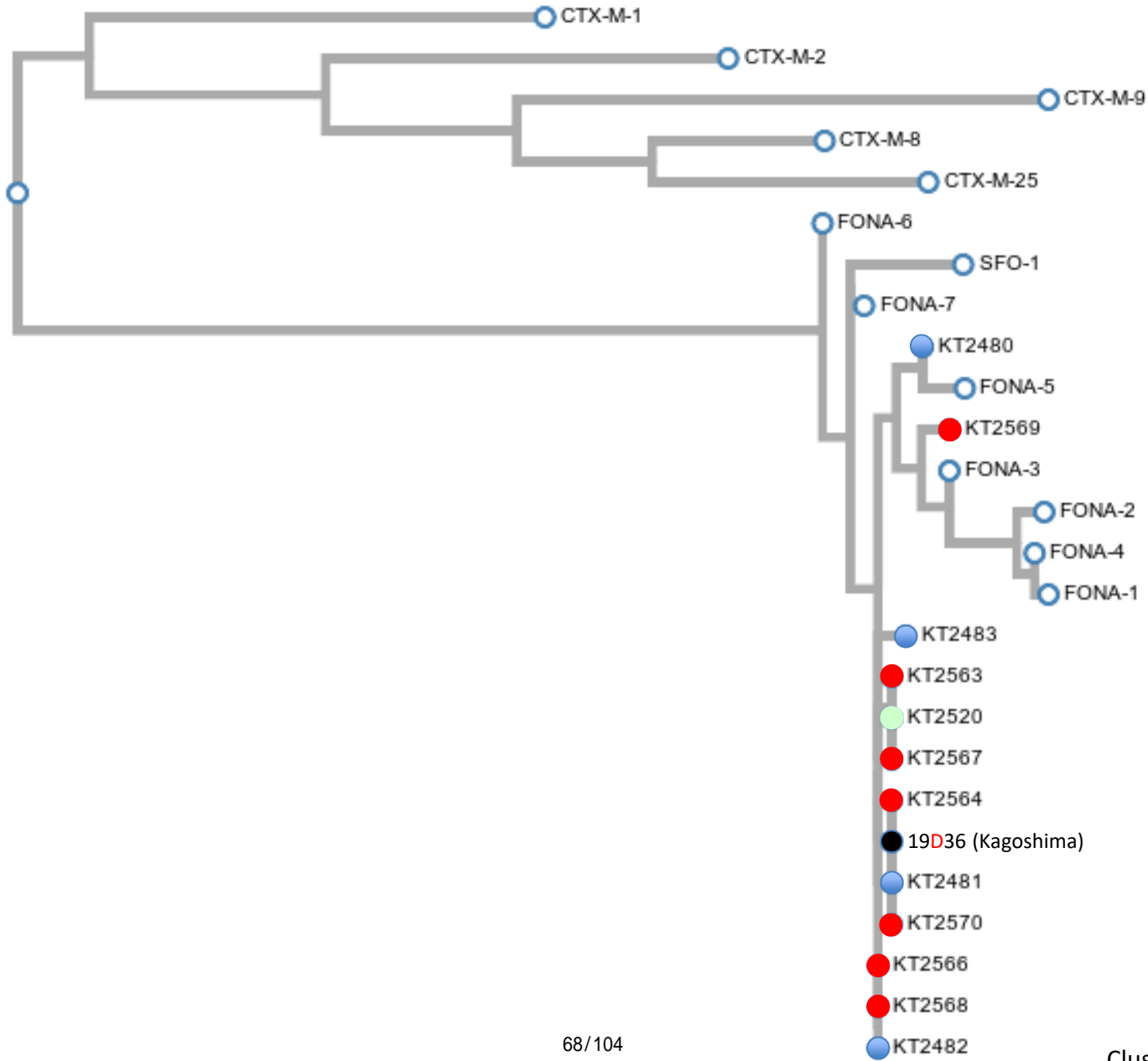


表11. 2021年2～3月(2020年度)収集鶏肉検体から分離された
*S. fonticola*株

| No. | 輸出国 | 菌種 | CAZ | CAZ+CVA | CTX | CTX+CVA | CFX | CFX+BA | TC | CPFX | MEPM | IPM | GM | AMK | CMZ |
|--------|----------|---------------------|-----|---------|------|---------|-----|--------|----|------|------|------|----|-----|-----|
| 20F38 | ブラジル | <i>S. fonticola</i> | 2 | 1 | >128 | 1 | 8 | 8 | ≦4 | ≦1 | ≦0.5 | ≦0.5 | ≦4 | ≦8 | 8 |
| 20F45 | ブラジル | <i>S. fonticola</i> | 8 | 8 | >128 | 4 | 32 | 8 | ≦4 | ≦1 | ≦0.5 | ≦0.5 | ≦4 | ≦8 | 32 |
| 20F46 | ブラジル | <i>S. fonticola</i> | 8 | 2 | 128 | 2 | 16 | 8 | ≦4 | ≦1 | ≦0.5 | ≦0.5 | ≦4 | ≦8 | 16 |
| 20F52* | タイ | <i>S. fonticola</i> | 16 | 8 | >128 | 4 | 32 | 8 | ≦4 | ≦1 | ≦0.5 | ≦0.5 | ≦4 | ≦8 | 32 |
| 20F72* | タイ | <i>S. fonticola</i> | 1 | 1 | 8 | 0.5 | 32 | 16 | ≦4 | 16 | ≦0.5 | ≦0.5 | ≦4 | ≦8 | 32 |
| 20F57 | ニュージーランド | <i>S. fonticola</i> | 32 | 4 | >128 | 4 | 64 | 32 | ≦4 | ≦1 | ≦0.5 | ≦0.5 | ≦4 | ≦8 | 64 |

*タイ産鶏肉の同一検体から異なるMIC値を持つ2株が分離されたために解析を行った

図3. FONAの系統樹(アミノ酸配列)

2018年～2021年2-3月収集の鶏肉検体由来fonA保有*S. fonticola*株

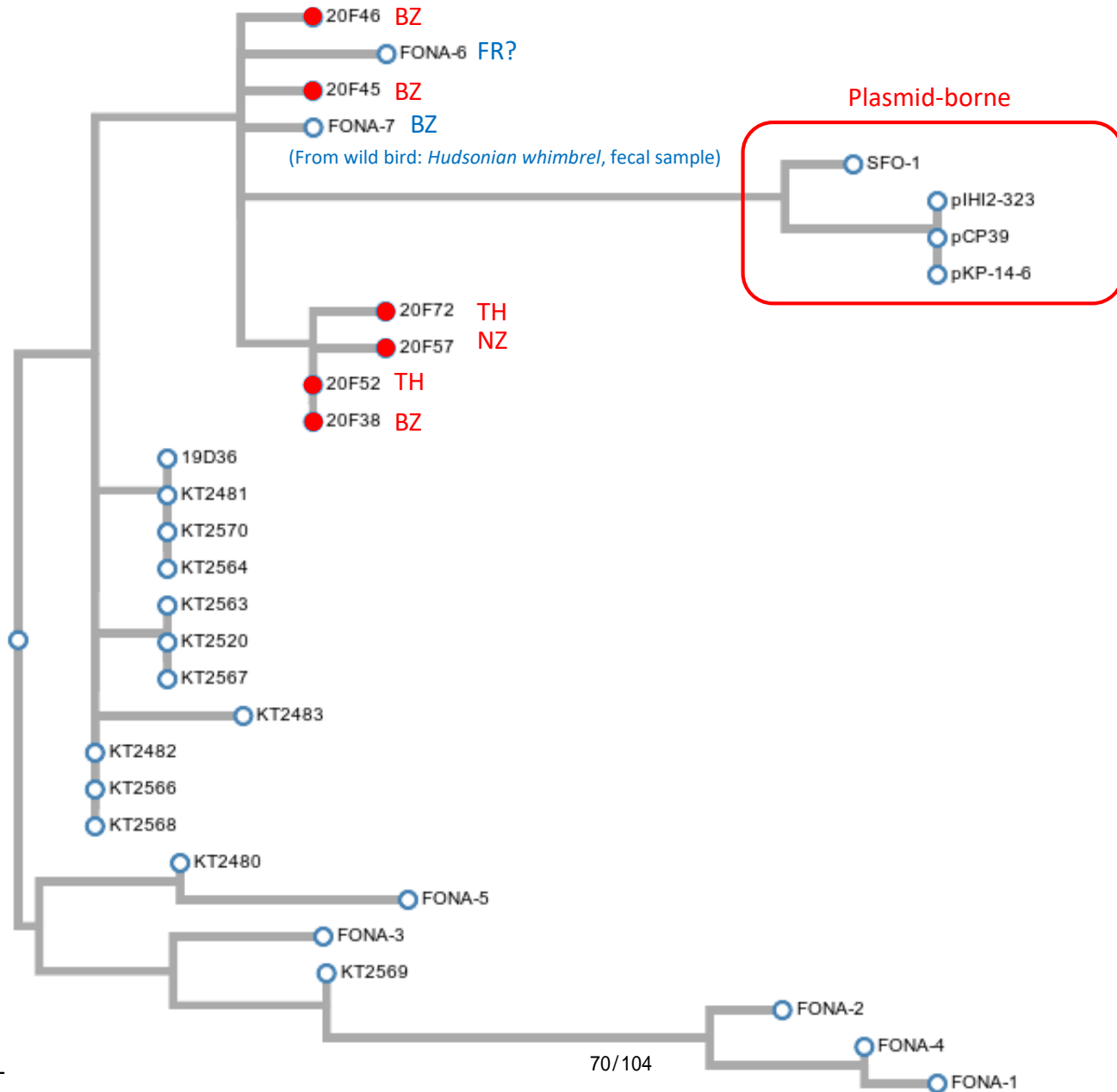


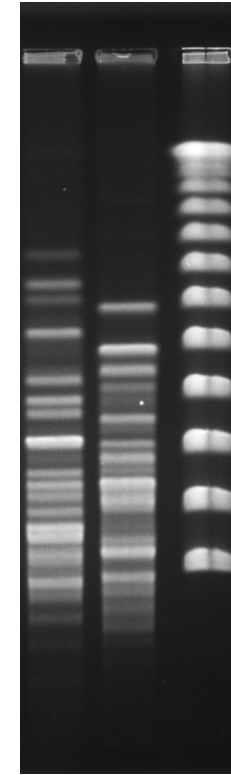
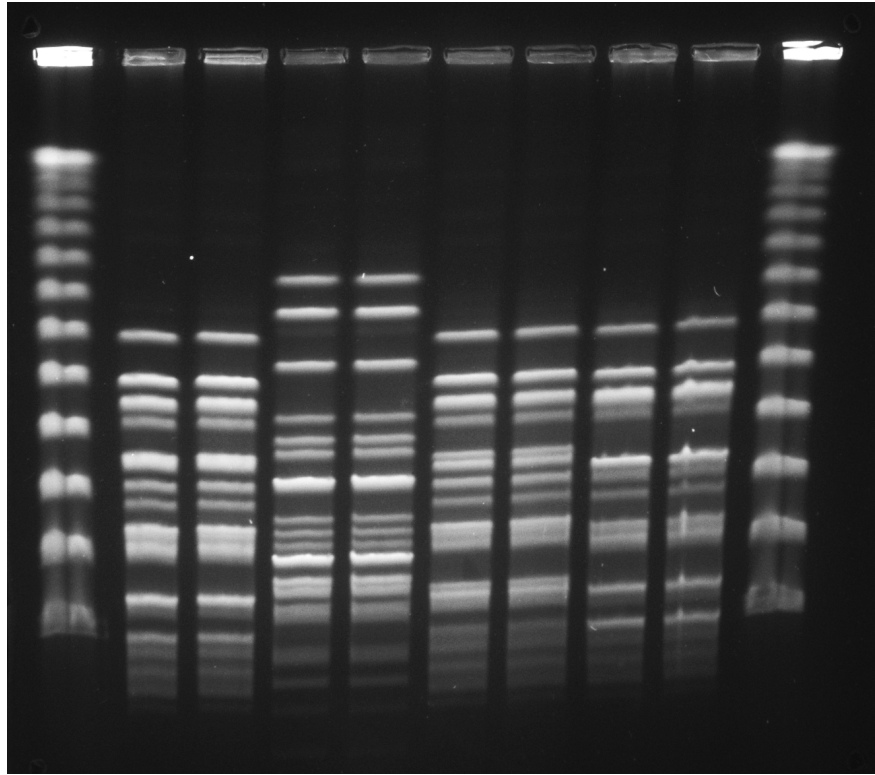
表12. 国産鶏肉由来VCM低度耐性腸球菌株

50検体中8検体から15株を検出 (VanC型以外)

| No. | 衛生検査所検体No. | 検体由来農場 | 検査所又は検査所 | 県 | V Pari | PCR | VRE | multi | PCR | DDL | multi | PCR | faecium | DDL | PCR | E-TEST | | 採取年月日 | 送付年月日 | 受取年月日 | 処理年月日 |
|-----|------------|---------|----------------|------|-----------|------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----|------|----------|----------|-----------|-----------|-------|-------|
| | | | | | | | | | | | | | | | | VCM | TEIC | | | | |
| 16 | 群馬-16 | D | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | faecium ? | ? | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | 3 | 0.75 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 | | |
| 16 | 群馬-16 | D | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | faecium ? | ? | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | | | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 | | |
| 17 | 群馬-17 | D | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | faecium ? | vanN | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | 6 | 1.5 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 | | |
| 17 | 群馬-17 | D | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | faecium ? | vanN | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | | | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 | | |
| 21 | 鹿児島-1 | A | 鹿児島県串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島県 | faecium ? | ? | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | 3 | 0.5 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月10日 | 令和3年3月11日 | | |
| 21 | 鹿児島-1 | A | 鹿児島県串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島県 | faecium ? | ? | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | | | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月10日 | 令和3年3月11日 | | |
| 26 | 鹿児島-11 | A-1 | 鹿児島県大口食肉衛生検査所 | 鹿児島県 | faecium ? | vanN | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | 8 | 0.25 | 令和3年3月4日 | 令和3年3月4日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 | | |
| 26 | 鹿児島-11 | A-1 | 鹿児島県大口食肉衛生検査所 | 鹿児島県 | faecium ? | vanN | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | | | 令和3年3月4日 | 令和3年3月4日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 | | |
| 27 | 鹿児島-12 | A-1 | 鹿児島県大口食肉衛生検査所 | 鹿児島県 | faecium ? | vanN | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | 6 | 0.25 | 令和3年3月4日 | 令和3年3月4日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 | | |
| 27 | 鹿児島-12 | A-1 | 鹿児島県大口食肉衛生検査所 | 鹿児島県 | faecium ? | vanN | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | | | 令和3年3月4日 | 令和3年3月4日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 | | |
| 29 | 鹿児島-14 | A-1 | 鹿児島県大口食肉衛生検査所 | 鹿児島県 | faecium ? | ? | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | 4 | 1.5 | 令和3年3月4日 | 令和3年3月4日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 | | |
| 29 | 鹿児島-14 | A-1 | 鹿児島県大口食肉衛生検査所 | 鹿児島県 | faecium ? | ? | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | | | 令和3年3月4日 | 令和3年3月4日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 | | |
| 39 | 鹿児島-24 | B-16-11 | 鹿児島県鹿屋食肉衛生検査所 | 鹿児島県 | faecium ? | vanN | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | 6 | 1.5 | 令和3年3月2日 | 令和3年3月2日 | 令和3年3月4日 | 令和3年3月11日 | | |
| 39 | 鹿児島-24 | B-16-11 | 鹿児島県鹿屋食肉衛生検査所 | 鹿児島県 | faecium ? | vanN | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | | | 令和3年3月2日 | 令和3年3月2日 | 令和3年3月4日 | 令和3年3月11日 | | |
| 41 | 鹿児島-6 | B | 鹿児島県串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島県 | faecium ? | ? | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | E. faecium | 3 | 0.5 | 令和3年3月9日 | 令和3年3月9日 | 令和3年3月11日 | 令和3年3月15日 | | |

VCM低度耐性株のうち4検体8株がVanN型VRE(*E. faecium*)

図4. VanN型VRE (*E. faecium*) 4検体8株のPFGE解析



過去に分離された
食肉由来VanN型
VRE株 (*E. faecium*)

1 2 3 4 5 6 7 8

今回、2021年収集4検体から分離したVanN型VRE (*E. faecium*) 8株

AA-22 (VanN)
AA-80 (VanN)

| PFGE No. | No. | 衛生検査所検体No. | 検体由来農場 | 検査所又は検査所 | 県 | V Pari PCR | VRE multi PCR | DDL multi PCR | <i>faecium</i> DDL PCR | E-TEST | | 採取年月日 | 送付年月日 | 受取年月日 | 処理年月日 |
|----------|-----|------------|---------|---------------|------|------------------|------------------------|-------------------|------------------------|--------|------|----------|----------|----------|-----------|
| | | | | | | | | | | VCM | TEIC | | | | |
| 1 | 17 | 群馬-17 | D | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>faecium</i> ? | vanN | <i>E. faecium</i> | <i>E. faecium</i> | 6 | 1.5 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 2 | 17 | 群馬-17 | D | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>faecium</i> ? | vanN | <i>E. faecium</i> | <i>E. faecium</i> | | | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 3 | 26 | 鹿児島-11 | A-1 | 鹿児島県大口市衛生検査所 | 鹿児島県 | <i>faecium</i> ? | vanN | <i>E. faecium</i> | <i>E. faecium</i> | 8 | 0.25 | 令和3年3月4日 | 令和3年3月4日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 4 | 26 | 鹿児島-11 | A-1 | 鹿児島県大口市衛生検査所 | 鹿児島県 | <i>faecium</i> ? | vanN | <i>E. faecium</i> | <i>E. faecium</i> | | | 令和3年3月4日 | 令和3年3月4日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 5 | 27 | 鹿児島-12 | A-1 | 鹿児島県大口市衛生検査所 | 鹿児島県 | <i>faecium</i> ? | vanN | <i>E. faecium</i> | <i>E. faecium</i> | 6 | 0.25 | 令和3年3月4日 | 令和3年3月4日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 6 | 27 | 鹿児島-12 | A-1 | 鹿児島県大口市衛生検査所 | 鹿児島県 | <i>faecium</i> ? | vanN | <i>E. faecium</i> | <i>E. faecium</i> | | | 令和3年3月4日 | 令和3年3月4日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 7 | 39 | 鹿児島-24 | B-16-11 | 鹿児島県鹿屋食肉衛生検査所 | 鹿児島県 | <i>faecium</i> ? | vanN | <i>E. faecium</i> | <i>E. faecium</i> | 6 | 1.5 | 令和3年3月2日 | 令和3年3月2日 | 令和3年3月4日 | 令和3年3月11日 |
| 8 | 39 | 鹿児島-24 | B-16-11 | 鹿児島県鹿屋食肉衛生検査所 | 鹿児島県 | <i>faecium</i> ? | vanN ^{72/104} | <i>E. faecium</i> | <i>E. faecium</i> | | | 令和3年3月2日 | 令和3年3月2日 | 令和3年3月4日 | 令和3年3月11日 |

表13. VanN型VRE(*E. faecium*)4検体4株と過去の株とのMLST比較

| PFGE Lane No. | strain | allelic profile | | | | | | | ST |
|---------------|-----------|-----------------|------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|-----|
| | | <i>atpA</i> | <i>ddl</i> | <i>gdh</i> | <i>purK</i> | <i>gyd</i> | <i>pstS</i> | <i>adk</i> | |
| 1 | 17.1 | 9 | 8 | 14 | 58 | 6 | 27 | 6 | 669 |
| 3 | 26.1 | 72 | 13 | 9 | 33 | 10 | 19 | 6 | 862 |
| 5 | 27.1 | 9 | 8 | 14 | 58 | 6 | 27 | 6 | 669 |
| 7 | 39.1 | 9 | 8 | 14 | 58 | 6 | 27 | 6 | 669 |
| | AA-22* | 72 | 13 | 9 | 33 | 10 | 19 | 6 | 862 |
| | AA-80** | 9 | 8 | 14 | 58 | 6 | 27 | 6 | 669 |
| | UCN 71*** | 25 | 13 | 9 | 33 | 10 | 19 | 6 | 240 |

*AA-22(*E. faecium*): 2009年度宮崎県産鶏肉から分離された株(ST862)

**AA-80(*E. faecium*): 2011年度宮崎県産鶏肉から分離された株(ST669)

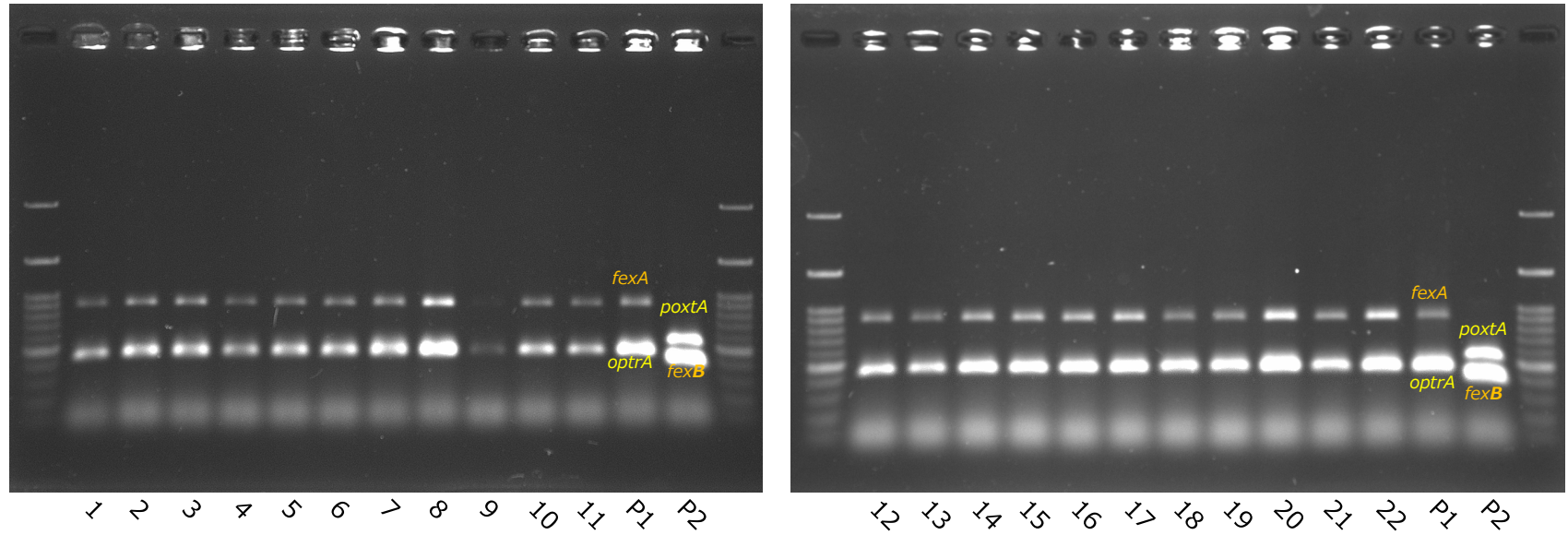
***UCN71(*E. faecium*): 2008年にフランスで患者から分離され2011年に報告された株(ST240)

| | | | |
|---------|-----|---|-----|
| atpA-25 | 1 | TCATTATCCTTGGCGATTTTCGAGTCCATTTCGTGAAGGAGATAAAGTAAAACGAACAGGTAAGATCATGGAAGTTCCAGTTGGAGAGGCCCTTGATTGGTCGGGTAGTCAAT | 110 |
| atpA-72 | 1 | TCATTATCCTTGGCGATTTTCGAGTCCATTTCGTGAAGGAGATAAAGTAAAACGAACAGGTAAGATCATGGAAGTTCCAGTTGGAGAGGCCCTTGATTGGTCGGGTAGTCAAT | 110 |
| atpA-25 | 111 | CCGCTAGGTCAACCAATCGACGGACTAGGTGAAATCGTTACTGACAAAGCTCGTCCAGTAGAAGCGATGGCACCAGGCGTTATGCAACGTAAATCTGTTAACGAACCAAT | 220 |
| atpA-72 | 111 | CCGCTAGGTCAACCAATCGACGGACTAGGTGAAATCGTTACTGACAAAGCTCGTCCAGTAGAAGCGATGGCACCAGGCGTTATGCAACGTAAATCTGTTAACGAACCAAT | 220 |
| atpA-25 | 221 | GCAAAACAGGGCTAAAAGCGATCGACGCCCTTGTGCCAATCGGACGCGGACAACGTGAATTAGTCATCGGTGACCGTAAAACAGGGAAAACCTCTATTGCGATCGATACGA | 330 |
| atpA-72 | 221 | GCAAAACAGGGCTAAAAGCGATCGACGCCCTTGTGCCAATCGGACGCGGACAACGTGAATTAGTCATCGGTGACCGTAAAACAGGGAAAACCTCTATTGCGATCGATACGA | 330 |
| atpA-25 | 331 | TCATCAACCAAAAAGGCCAAGATATGATCTGTATCTATGTAGCAATCGGACAAAAGATTCTACAGTTCGTACACAAGTTGAAACATTGAAAAATATGGCGCAATGGAT | 440 |
| atpA-72 | 331 | TCATCAACCAAAAAGGCCAAGATATGATCTGTATCTATGTAGCAATCGGACAAAAGATTCTACAGTTCGTACACAAGTTGAAACATTGAAAAATATGGCGCAATGGAT | 440 |
| atpA-25 | 441 | TACACAATCGTTGTGAATGCCGGTGCCTCTCAACCAAGCCATTGCTTTATATCGCACCATATGCTGGTACTGCAATGGGTGAAGAATTCAATGTACAATGGTAAACATGT | 550 |
| atpA-72 | 441 | TACACAATCGTTGTGAATGCCGGTGCCTCTCAACCAAGCCATTGCTTTATATCGCACCATATGCTGGTACTGCAATGGGTGAAGAATTCAATGTACAATGGTAAACATGT | 550 |
| atpA-25 | 551 | ATTGAT | 556 |
| atpA-72 | 551 | ATTGAT | 556 |

表14. 過去に国内(宮崎、群馬)鶏肉検体から分離された
VanN型VRE(*E. faecium*)株のMLST解析結果

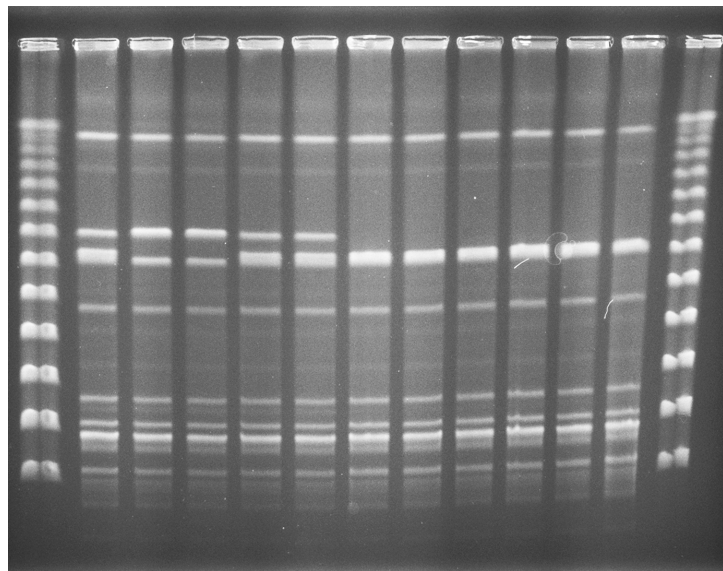
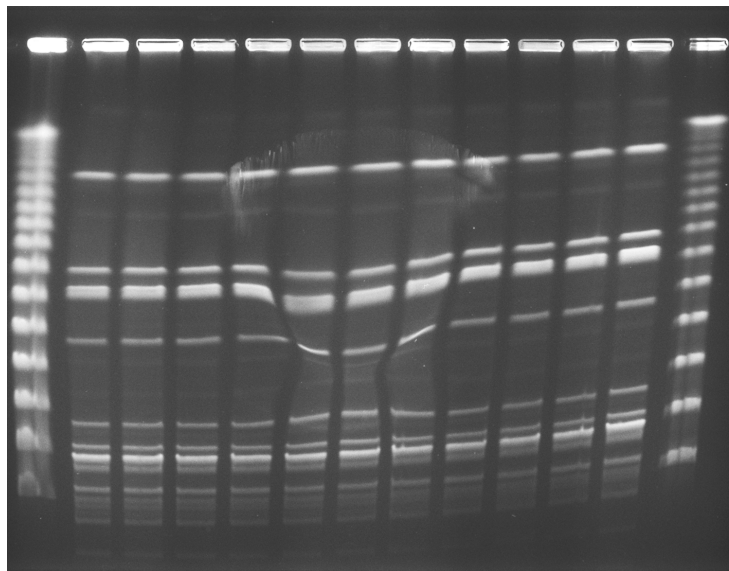
| Year | Location | Strain | Allelic profile | | | | | | | ST |
|------|----------|--------|-----------------|-------------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|-----|
| | | | <i>atpA</i> | <i>ddl</i> | <i>gdh</i> | <i>purK</i> | <i>gyd</i> | <i>pstS</i> | <i>adk</i> | |
| 2008 | France | UCN-71 | 25 | 13 | 9 | 33 | 10 | 19 | 6 | 240 |
| 2009 | 宮崎 | AA-22 | 72 | 13 | 9 | 33 | 10 | 19 | 6 | 862 |
| 2011 | 宮崎 | AA-80 | 9 | 8 | 14 | 58 | 6 | 27 | 6 | 669 |
| 2014 | 宮崎 | AA-412 | 9 | 8 | 14 | 58 | 6 | 27 | 6 | 669 |
| 2014 | 群馬 | AA-413 | 9 | 8 | 14 | 58 | 6 | 27 | 6 | 669 |
| 2015 | 群馬 | AA-425 | 9 | 8 | 14 | 58 | 6 | 27 | 6 | 669 |
| 2015 | 群馬 | AA-423 | 9 | 8 | 14 | 58 | 6 | 27 | 6 | 669 |
| 2016 | 群馬 | 105.1 | 9 | 8 | 14 | 58 | 6 | 27 | 6 | 669 |
| 2017 | 群馬 | 92.1 | 9 | 8 | 14 | 58 | 6 | 27 | 6 | 669 |
| 2017 | 群馬 | 97.1 | 9 | 8 | 14 | 58 | 6 | 27 | 6 | 669 |
| 2017 | 群馬 | 101.1 | 9 | 8 | 14 | 58 | 6 | 27 | 6 | 669 |
| 2019 | 宮崎 | 2.1 | 9 | 8 | 14 | 58 | 6 | 27 | 6 | 669 |
| 2019 | 宮崎 | 7.1 | 9 | 8 | 14 | 58 | 6 | 27 | 6 | 669 |
| 2019 | 宮崎 | 12.1 | 72 | 13 | 9 | 33 | 10 | 19 | 6 | 862 |
| 2019 | 宮崎 | 21.1 | 9 | 748 ⁰⁴ | 14 | 58 | 6 | 27 | 6 | 669 |

図5. 国産鶏肉検体由来 *oprA*⁺*fexA*⁺LZD耐性腸球菌 (*E. faecalis*) 株



| PCR No. | No. | 群大No. | 衛生検査所検体No. | 検体由来農場 | 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 |
|---------|------|-------|------------|--------|----------------|------|----------|----------|-----------|-----------|
| 1 | 1-1 | 1 | 群馬-1 | A | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 2 | 1-2 | 1 | 群馬-1 | A | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 3 | 2-1 | 6 | 群馬-6 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 4 | 2-2 | 6 | 群馬-6 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 5 | 3-1 | 7 | 群馬-7 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 6 | 3-2 | 7 | 群馬-7 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 7 | 4-1 | 8 | 群馬-8 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 8 | 4-2 | 8 | 群馬-8 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 9 | 5-1 | 9 | 群馬-9 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 10 | 5-2 | 9 | 群馬-9 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 11 | 6-1 | 10 | 群馬-10 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 12 | 6-2 | 10 | 群馬-10 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 13 | 7-1 | 12 | 群馬-12 | C | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 14 | 7-2 | 12 | 群馬-12 | C | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 15 | 8-1 | 13 | 群馬-13 | C | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 16 | 8-2 | 13 | 群馬-13 | C | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 17 | 9-1 | 21 | 鹿児島-1 | A | 鹿児島県串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月10日 | 令和3年3月11日 |
| 18 | 9-2 | 21 | 鹿児島-1 | A | 鹿児島県串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月10日 | 令和3年3月11日 |
| 19 | 10-1 | 25 | 鹿児島-5 | A | 鹿児島県串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月10日 | 令和3年3月11日 |
| 20 | 10-2 | 25 | 鹿児島-5 | A | 鹿児島県串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月10日 | 令和3年3月11日 |
| 21 | 11-1 | 43 | 鹿児島-8 | B | 鹿児島県串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島県 | 令和3年3月9日 | 令和3年3月9日 | 令和3年3月11日 | 令和3年3月15日 |
| 22 | 11-2 | 43 | 鹿児島-8 | B | 鹿児島県串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島県 | 令和3年3月9日 | 令和3年3月9日 | 令和3年3月11日 | 令和3年3月15日 |

図6. 国産鶏肉由来 *oprA⁺fexA⁺*LZD耐性腸球菌(*E. faecalis*)株のPFGE解析



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11

12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22

| PCR No. | No. | 群大No. | 衛生検査所検体No. | 検体由来農場 | 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 |
|---------|------|-------|------------|--------|---------------|------|----------|----------|-----------|-----------|
| 1 | 1-1 | 1 | 群馬-1 | A | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 2 | 1-2 | 1 | 群馬-1 | A | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 3 | 2-1 | 6 | 群馬-6 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 4 | 2-2 | 6 | 群馬-6 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 5 | 3-1 | 7 | 群馬-7 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 6 | 3-2 | 7 | 群馬-7 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 7 | 4-1 | 8 | 群馬-8 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 8 | 4-2 | 8 | 群馬-8 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 9 | 5-1 | 9 | 群馬-9 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 10 | 5-2 | 9 | 群馬-9 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 11 | 6-1 | 10 | 群馬-10 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 12 | 6-2 | 10 | 群馬-10 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 13 | 7-1 | 12 | 群馬-12 | C | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 14 | 7-2 | 12 | 群馬-12 | C | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 15 | 8-1 | 13 | 群馬-13 | C | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 16 | 8-2 | 13 | 群馬-13 | C | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月11日 |
| 17 | 9-1 | 21 | 鹿児島-1 | A | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月10日 | 令和3年3月11日 |
| 18 | 9-2 | 21 | 鹿児島-1 | A | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月10日 | 令和3年3月11日 |
| 19 | 10-1 | 25 | 鹿児島-5 | A | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月10日 | 令和3年3月11日 |
| 20 | 10-2 | 25 | 鹿児島-5 | A | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月8日 | 令和3年3月10日 | 令和3年3月11日 |
| 21 | 11-1 | 43 | 鹿児島-8 | B | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | 令和3年3月9日 | 令和3年3月9日 | 令和3年3月11日 | 令和3年3月15日 |
| 22 | 11-2 | 43 | 鹿児島-8 | B | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | 令和3年3月9日 | 令和3年3月9日 | 令和3年3月11日 | 令和3年3月15日 |

図7-1. 過去の国内産鶏肉検体由来 *oprA*⁺ *fexA*⁺ LZD耐性腸球菌 (*E. faecalis*) 株とのPFGE比較①

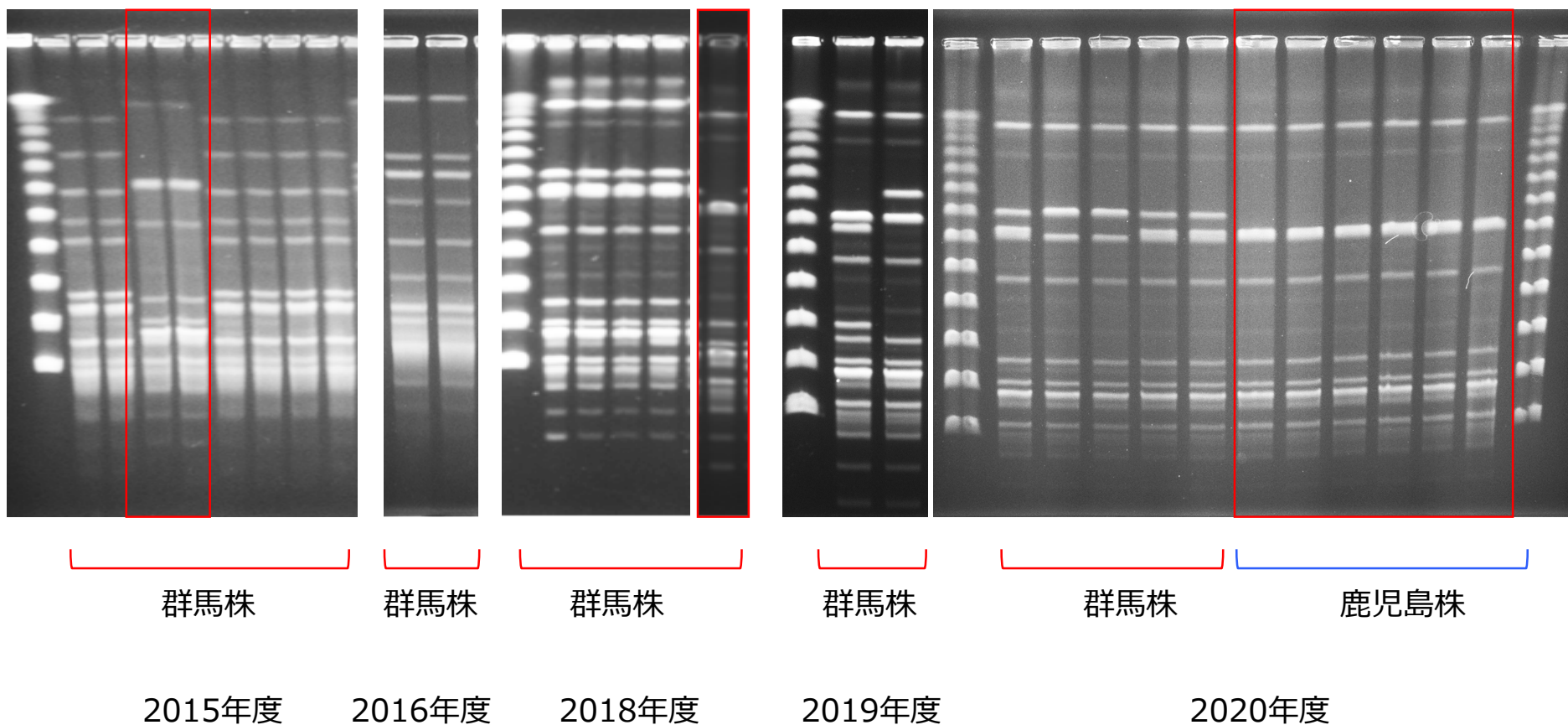


図7-2. 過去の国内産鶏肉検体由来 *oprA*⁺*fexA*⁺ LZD耐性腸球菌(*E. faecalis*)株とのPFGE比較②

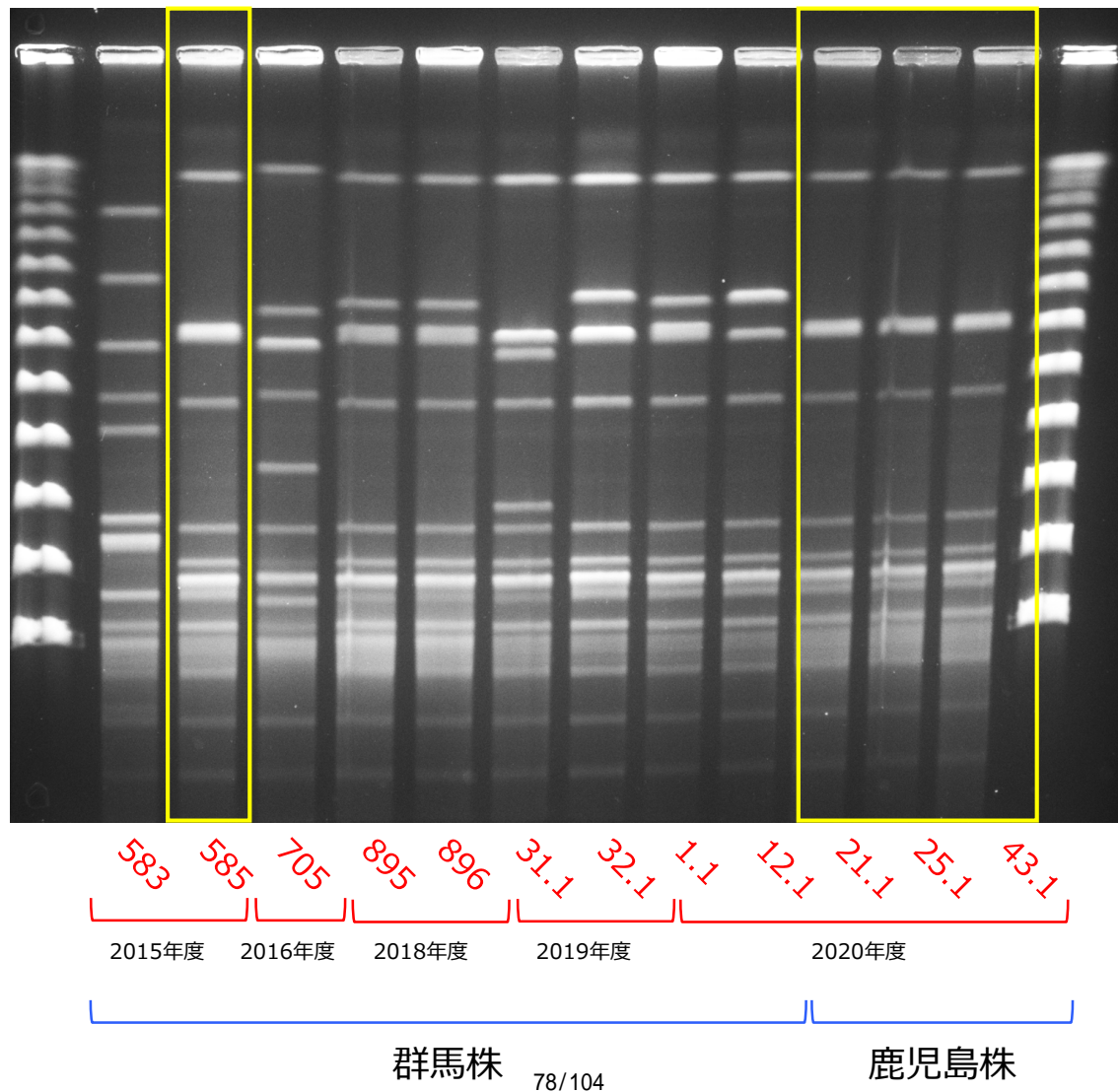
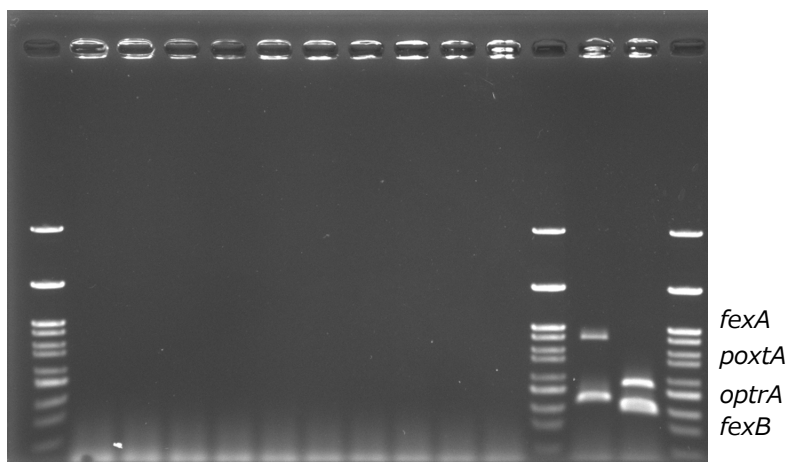


表15. 輸入鶏肉検体由来LZD耐性腸球菌 (*E. faecalis*) 株

97検体から7検体10株のLZDに1.5 mg/L (BHI培地)を検出

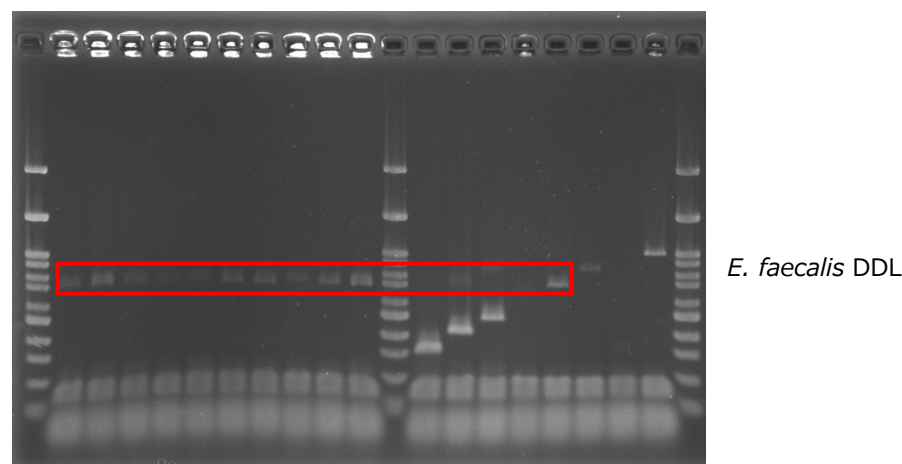
| No. | 検疫所検体No. | | 検疫所又は検査所 | 国又は県 | 採取年月日 | 送付年月日 | 受取年月日 | 処理年月日 |
|-----|----------|---|----------|------|------------|----------|----------|-----------|
| 57 | 66385310 | 1 | 神戸検疫所 | ブラジル | 令和2年6月16日 | 令和3年3月2日 | 令和3年3月3日 | 令和3年5月20日 |
| 85 | 66394655 | 1 | 神戸検疫所 | ブラジル | 令和2年9月24日 | 令和3年3月2日 | 令和3年3月3日 | 令和3年5月31日 |
| 101 | 66398277 | 2 | 神戸検疫所 | ブラジル | 令和2年10月28日 | 令和3年3月2日 | 令和3年3月3日 | 令和3年5月31日 |
| 124 | 31352731 | 1 | 横浜検疫所 | ブラジル | 令和2年9月4日 | 令和3年3月3日 | 令和3年3月4日 | 令和3年6月24日 |
| 124 | 31352731 | 2 | 横浜検疫所 | ブラジル | 令和2年9月4日 | 令和3年3月3日 | 令和3年3月4日 | 令和3年6月24日 |
| 129 | 31355121 | 1 | 横浜検疫所 | ブラジル | 令和2年10月5日 | 令和3年3月3日 | 令和3年3月4日 | 令和3年6月24日 |
| 129 | 31355121 | 2 | 横浜検疫所 | ブラジル | 令和2年10月5日 | 令和3年3月3日 | 令和3年3月4日 | 令和3年6月24日 |
| 138 | 31358047 | 2 | 横浜検疫所 | ブラジル | 令和2年11月2日 | 令和3年3月3日 | 令和3年3月4日 | 令和3年6月24日 |
| 140 | 31359615 | 1 | 横浜検疫所 | ブラジル | 令和2年11月19日 | 令和3年3月3日 | 令和3年3月4日 | 令和3年6月24日 |
| 140 | 31359615 | 2 | 横浜検疫所 | ブラジル | 令和2年11月19日 | 令和3年3月3日 | 令和3年3月4日 | 令和3年6月24日 |

LZDr multiplex PCR



57.1 85.1 101.2 124.1 124.2 129.1 129.2 138.1 140.1 140.2

DDL multiplex PCR



79/104

57.1 85.1 101.2 124.1 124.2 129.1 129.2 138.1 140.1 140.2

表16-1. バシトラシンBC耐性腸球菌株の検出①

群馬県

20検体中16検体(80%)

| No. | G No. | 検疫所検体No. | 衛生検査所検体No. | 検体由来農場 | 検疫所又は検査所 | 国又は県 | 菌種 | <i>bcrR</i> old | <i>bcrD</i> old | <i>bcrA</i> new | <i>bcrB</i> new | <i>bcrD</i> new | <i>bcrR</i> new |
|-----|-------|----------|------------|--------|----------|------|---------------|-----------------|-------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 1 | 1 | 1 | | | 群馬-1 | A | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 2 | 1 | 2 | | | 群馬-1 | A | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 3 | 3 | 1 | | | 群馬-3 | A | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 4 | 3 | 2 | | | 群馬-3 | A | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 5 | 4 | 1 | | | 群馬-4 | A | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 6 | 4 | 2 | | | 群馬-4 | A | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 7 | 5 | 1 | | | 群馬-5 | A | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 8 | 5 | 2 | | | 群馬-5 | A | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 9 | 6 | 1 | | | 群馬-6 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 10 | 6 | 2 | | | 群馬-6 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 11 | 8 | 1 | | | 群馬-8 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 12 | 8 | 2 | | | 群馬-8 | B | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 13 | 11 | 1 | | | 群馬-1 1 | C | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 14 | 11 | 2 | | | 群馬-1 1 | C | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 15 | 12 | 1 | | | 群馬-1 2 | C | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 16 | 12 | 2 | | | 群馬-1 2 | C | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 17 | 13 | 1 | | | 群馬-1 3 | C | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 18 | 13 | 2 | | | 群馬-1 3 | C | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 19 | 14 | 1 | | | 群馬-1 4 | C | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 20 | 14 | 2 | | | 群馬-1 4 | C | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 21 | 15 | 1 | | | 群馬-1 5 | C | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 22 | 15 | 2 | | | 群馬-1 5 | C | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 23 | 16 | 1 | | | 群馬-1 6 | D | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 24 | 16 | 2 | | | 群馬-1 6 | D | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 25 | 17 | 1 | | | 群馬-1 7 | D | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 26 | 17 | 2 | | | 群馬-1 7 | D | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 27 | 18 | 1 | | | 群馬-1 8 | D | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 28 | 18 | 2 | | | 群馬-1 8 | D | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 29 | 19 | 1 | | | 群馬-1 9 | D | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 30 | 19 | 2 | | | 群馬-1 9 | D | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 31 | 20 | 1 | | | 群馬-2 0 | D | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 32 | 20 | 2 | | | 群馬-2 0 | D | 群馬県食肉衛生検査所 | 群馬県 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 33 | 21 | 1 | | | 鹿児島-1 | A | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 34 | 21 | 2 | | | 鹿児島-1 | A | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 35 | 22 | 1 | | | 鹿児島-2 | A | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 36 | 22 | 2 | | | 鹿児島-2 | A | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 37 | 23 | 1 | | | 鹿児島-3 | A | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 38 | 23 | 2 | | | 鹿児島-3 | A | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 39 | 24 | 1 | | | 鹿児島-4 | A | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |
| 40 | 24 | 2 | | | 鹿児島-4 | A | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | + | ? |

表16-2. バシトラシンBC耐性腸球菌株の検出②

鹿児島県

30検体中23検体(77%)

| No. | No. | 検疫所検体No. | 衛生検査所検体No. | 検体由来農場 | 検疫所又は検査所 | 国又は県 | 菌種 | bcrR old | bcrD old | bcrA new | bcrB new | bcrD new | bcrR new |
|-----|-----|----------|------------|--------|----------|---------------|----------------|--------------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 41 | 25 | 1 | | 鹿児島-5 | A | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 42 | 25 | 2 | | 鹿児島-5 | A | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 43 | 26 | 1 | | 鹿児島-11 | A-1 | 鹿児島大口食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 44 | 26 | 2 | | 鹿児島-11 | A-1 | 鹿児島大口食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 45 | 27 | 1 | | 鹿児島-12 | A-1 | 鹿児島大口食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 46 | 27 | 2 | | 鹿児島-12 | A-1 | 鹿児島大口食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 47 | 28 | 1 | | 鹿児島-13 | A-1 | 鹿児島大口食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 48 | 28 | 2 | | 鹿児島-13 | A-1 | 鹿児島大口食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 49 | 29 | 1 | | 鹿児島-14 | A-1 | 鹿児島大口食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 50 | 29 | 2 | | 鹿児島-14 | A-1 | 鹿児島大口食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 51 | 30 | 1 | | 鹿児島-15 | A-1 | 鹿児島大口食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 52 | 30 | 2 | | 鹿児島-15 | A-1 | 鹿児島大口食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 53 | 31 | 1 | | 鹿児島-16 | B-2 | 鹿児島大口食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 54 | 31 | 2 | | 鹿児島-16 | B-2 | 鹿児島大口食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 55 | 34 | 1 | | 鹿児島-19 | B-2 | 鹿児島大口食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 56 | 34 | 2 | | 鹿児島-19 | B-2 | 鹿児島大口食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 57 | 35 | 1 | | 鹿児島-20 | B-2 | 鹿児島大口食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 58 | 35 | 2 | | 鹿児島-20 | B-2 | 鹿児島大口食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 59 | 39 | 1 | | 鹿児島-24 | B-16-11 | 鹿児島鹿屋食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 60 | 39 | 2 | | 鹿児島-24 | B-16-11 | 鹿児島鹿屋食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 61 | 41 | 1 | | 鹿児島-6 | B | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 62 | 41 | 2 | | 鹿児島-6 | B | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 63 | 42 | 1 | | 鹿児島-7 | B | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 64 | 42 | 2 | | 鹿児島-7 | B | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecalis</i> | + | + | | | + |
| 65 | 43 | 1 | | 鹿児島-8 | B | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 66 | 43 | 2 | | 鹿児島-8 | B | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 67 | 44 | 1 | | 鹿児島-9 | B | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 68 | 44 | 2 | | 鹿児島-9 | B | 鹿児島串木野食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 69 | 46 | 1 | | 鹿児島-26 | B-12-9 | 鹿児島鹿屋食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 70 | 46 | 2 | | 鹿児島-26 | B-12-9 | 鹿児島鹿屋食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 71 | 47 | 1 | | 鹿児島-27 | B-12-9 | 鹿児島鹿屋食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 72 | 47 | 2 | | 鹿児島-27 | B-12-9 | 鹿児島鹿屋食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 73 | 48 | 1 | | 鹿児島-28 | B-12-9 | 鹿児島鹿屋食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 74 | 48 | 2 | | 鹿児島-28 | B-12-9 | 鹿児島鹿屋食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | | | | + |
| 75 | 49 | 1 | | 鹿児島-29 | B-12-9 | 鹿児島鹿屋食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 76 | 49 | 2 | | 鹿児島-29 | B-12-9 | 鹿児島鹿屋食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 77 | 50 | 1 | | 鹿児島-30 | B-12-9 | 鹿児島鹿屋食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 78 | 50 | 2 | | 鹿児島-30 | B-12-9 | 鹿児島鹿屋食肉衛生検査所 | 鹿児島 | <i>E. faecium</i> | + | | | | + |
| 79 | 57 | 1 | 66385310 | | | 神戸検疫所 | ブラジル | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + |
| 80 | 57 | 2 | 66385310 | | | 神戸検疫所 | 81/104 ブラジル | <i>vanC1</i> | + | + | | | + |

表16-3. バシトラシンBC耐性腸球菌株の検出③

ブラジル

62検体中15検体(24%)

タイ

12検体中 3検体(25%)

ニュージーランド

6検体中3検体(50%)

| No. | No. | 検疫所検体No. | 衛生検査所検体No. | 検体由来農場 | 検疫所又は検査所 | 国又は県 | 菌種 | bcrR old | bcrD old | bcrA new | bcrB new | bcrD new | bcrR new |
|-----|-----|----------|------------|--------|----------|----------------|-------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| 81 | 66 | 1 | 66387964 | | 神戸検疫所 | ニュージーランド | <i>E. faecalis</i> | + | + | | | + | |
| 82 | 66 | 2 | 66387964 | | 神戸検疫所 | ニュージーランド | <i>E. faecalis</i> | + | + | | | + | |
| 83 | 77 | 1 | 66392168 | | 神戸検疫所 | ブラジル | <i>E. faecium</i> | + | | | | + | |
| 84 | 77 | 2 | 66392168 | | 神戸検疫所 | ブラジル | <i>E. faecium</i> | + | | | | + | |
| 85 | 78 | 1 | 66392172 | | 神戸検疫所 | ブラジル | <i>E. faecalis</i> | + | + | | | + | |
| 86 | 78 | 2 | 66392172 | | 神戸検疫所 | ブラジル | <i>E. faecalis</i> | + | + | | | + | |
| 87 | 81 | 1 | 66393206 | | 神戸検疫所 | ブラジル | <i>E. faecalis</i> | + | + | | | + | |
| 88 | 81 | 2 | 66393206 | | 神戸検疫所 | ブラジル | <i>E. faecalis</i> | + | + | | | + | |
| 89 | 83 | 1 | 66394501 | | 神戸検疫所 | ブラジル | <i>E. faecalis</i> | + | + | | | + | |
| 90 | 83 | 2 | 66394501 | | 神戸検疫所 | ブラジル | <i>E. faecalis</i> | | + | | | + | |
| 91 | 88 | 1 | 66395162 | | 神戸検疫所 | タイ | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + | |
| 92 | 88 | 2 | 66395162 | | 神戸検疫所 | タイ | <i>E. faecalis</i> | + | + | + | + | + | + |
| 93 | 89 | 1 | 66395557 | | 神戸検疫所 | ブラジル | <i>E. faecalis</i> | + | + | | | + | |
| 94 | 89 | 2 | 66395557 | | 神戸検疫所 | ブラジル | <i>E. faecalis</i> | + | + | | | + | |
| 95 | 97 | 1 | 66397416 | | 神戸検疫所 | ブラジル | vanC1 | + | + | | | + | |
| 96 | 97 | 2 | 66397416 | | 神戸検疫所 | ブラジル | vanC1 | + | + | | | + | |
| 97 | 106 | 1 | 66400507 | | 神戸検疫所 | タイ | <i>E. faecium</i> | + | | | | + | |
| 98 | 106 | 2 | 66400507 | | 神戸検疫所 | タイ | <i>E. faecium</i> | + | | | | + | |
| 99 | 111 | 1 | 66401752 | | 神戸検疫所 | ブラジル | <i>E. faecium</i> | + | | | | + | |
| 100 | 111 | 2 | 66401752 | | 神戸検疫所 | ブラジル | <i>E. faecium</i> | + | | | | + | |
| 101 | 112 | 1 | 66401771 | | 神戸検疫所 | タイ | <i>E. faecium</i> | + | | | | + | |
| 102 | 112 | 2 | 66401771 | | 神戸検疫所 | タイ | <i>E. faecium</i> | + | | | | + | |
| 103 | 124 | 1 | 31352731 | | 横浜検疫所 | ブラジル | <i>E. faecalis</i> | + | + | | | + | |
| 104 | 124 | 2 | 31352731 | | 横浜検疫所 | ブラジル | <i>E. faecalis</i> | + | + | | | + | |
| 105 | 125 | 1 | 31353476 | | 横浜検疫所 | ブラジル | <i>E. casselifravus</i> | + | + | | | + | |
| 106 | 125 | 2 | 31353476 | | 横浜検疫所 | ブラジル | vanC2 | + | + | | | + | |
| 107 | 130 | 1 | 31355484 | | 横浜検疫所 | ブラジル | <i>E. faecium</i> | + | | | | + | |
| 108 | 130 | 2 | 31355484 | | 横浜検疫所 | ブラジル | <i>E. faecium</i> | + | | | | + | |
| 109 | 140 | 1 | 31359615 | | 横浜検疫所 | ブラジル | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + | |
| 110 | 140 | 2 | 31359615 | | 横浜検疫所 | ブラジル | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + | |
| 111 | 141 | 1 | 31359807 | | 横浜検疫所 | ブラジル | <i>E. faecalis</i> | + | + | | | + | |
| 112 | 141 | 2 | 31359807 | | 横浜検疫所 | ブラジル | <i>E. faecalis</i> | + | + | | | + | |
| 113 | 143 | 1 | 31360449 | | 横浜検疫所 | ニュージーランド | <i>E. faecalis</i> | + | + | + | + | + | + |
| 114 | 143 | 2 | 31360449 | | 横浜検疫所 | ニュージーランド | <i>E. faecalis</i> | + | + | | | + | |
| 115 | 144 | 1 | 31360450 | | 横浜検疫所 | ニュージーランド | <i>E. faecalis</i> | + | + | | | + | |
| 116 | 144 | 2 | 31360450 | | 横浜検疫所 | ニュージーランド | <i>E. faecalis</i> | + | + | | | + | |
| 117 | 146 | 1 | 31360563 | | 横浜検疫所 | ブラジル | <i>E. faecalis</i> | + | + | | | + | |
| 118 | 146 | 2 | 31360563 | | 横浜検疫所 | ブラジル | <i>E. faecalis</i> | + | + | | | + | |
| 119 | 147 | 1 | 31360785 | | 横浜検疫所 | 82/104 ブラジル | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + | |
| 120 | 147 | 2 | 31360785 | | 横浜検疫所 | ブラジル | <i>E. faecium</i> | + | + | | | + | |

研究課題名：ワンヘルスに基づく食品由来薬剤耐性菌のサーベイランス体制の強化ための研究

分担課題名：Food Chain における薬剤耐性菌の実態調査及び分布要因の解析

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）

佐々木貴正（国立医薬品食品衛生研究所）

岩田 康一（名古屋市食肉衛生検査所）

大野 眞史（岐阜市食肉衛生検査所）

研究要旨

フードチェーンにおける薬剤耐性菌の制御は人の健康に影響する重要な課題で、その実態把握は対策を構築する上で不可欠な情報である。以前より鶏肉における ESBL 産生菌の汚染は注目されてきたが、国内の関東以北で生産された豚に家畜関連黄色ブドウ球菌（LA-MRSA）が分布することが明らかにされ、豚肉における LA-MRSA の汚染が懸念されるようになった。本研究では、鶏肉の ESBL 産生大腸菌の汚染に季節変動が認められるのか、関東以西で生産される豚における LA-MRSA の汚染実態を把握することを目的に検討した。東海地方で生産された豚から LA-MRSA を含む MRSA が分離され、また、国産豚肉が LA-MRSA に汚染されていることを明らかにした。今後、調査範囲を広げて実態を明らかにしていく。また、鶏肉における ESBL 産生大腸菌の汚染に季節変動があるかを継続的に調査して明らかにしていく予定である。その他、国産肥育牛におけるカンピロバクター汚染実態と食肉由来コリスチン自然耐性菌における第3世代セファロスポリン耐性についてβ-ラクタマーゼ遺伝子を同定した。

A. 研究目的

食品を介して人へ伝播する薬剤耐性菌の対策は、フードチェーンにおける汚染実態に基づき構築すべき喫緊の課題である。畜産現場における抗菌薬治療は、細菌感染症を制御し、安全な畜産物を安定供給するための必要な資材であるが、畜産物における薬剤耐性菌汚染が増大する危険性がある。食肉処理施設へ出荷される家畜に対し抗菌性物質の使用禁止期間（休薬期間）が設定されているため、抗菌薬による選択圧は低下していると考えられている。また、食肉処理施設において家畜の腸管内の細菌による汚染が一定の頻度で生じるが、腸管内細菌数に対す

る薬剤耐性菌比率が低ければ耐性菌による汚染確率は低下する。

これまでの研究により、肉用鶏生産農場において第三世代セファロスポリン耐性大腸菌が分離されるものの、その存在比率は低い（1%未満）ことを明らかにした（Suzuki et al., 2019）。また、肉用鶏の飼育期間中に薬剤耐性プラスミドが菌種間伝播することやプラスミドの残存に抗菌薬の使用の影響を受けることを明らかにしてきた（Yossapol et al, 2020）。しかし、別の研究テーマで食鳥処理場の汚水を検査する過程で、ESBL 産生大腸菌の割合が大きく変動する可能性が示唆された。そこで、市販肉における ESBL

産生大腸菌の汚染菌量の季節変動性について調査する。

2018～2020年に本事業で実施した研究で、東北地方と関東の食肉処理場で得た豚のサンプルの10%から家畜関連黄色ブドウ球菌(Livestock-associated MRSA, LA-MRSA)が分離されることを明らかにした。また、枝肉へのMRSAの伝播頻度は低いが(Sasaki et al, 2020)、東京都の調査では国産豚肉の2%、輸入豚肉の18%からMRSAが分離されている(下島ら, 2020)。このような状況から、中部から九州にかけての食肉処理場で出荷豚におけるMRSAの分布と国産豚肉を対象とした全国規模のMRSA汚染実態調査が必要である。なお、これまで人のLA-MRSA国内感染事例は報告されていないものの、これまでの調査により国産豚のMRSA感染状況は海外と同様であると推定される。

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と国産食肉における薬剤耐性菌の実態を明らかにし、疫学的に解析することで対策を構築することを目的とする。2021年度から3年間でFood-chainにおける薬剤耐性菌の汚染対策を構築するため、1年目に肉用鶏及び豚における薬剤耐性菌の汚染実態調査を段階的に開始した。

B. 研究方法

(1) 市販肉におけるESBL産生大腸菌の汚染菌量の季節変動性

岐阜市内のスーパーマーケット4店舗で、月1回、輸入・国産・銘柄の鶏肉(ムネまたはモモ)を購入し、サンプルとした。薬剤(CTX 1 μ g/ml)添加ECC培地を用いてCTX耐性大腸菌数をMPN法により推定した。

(2) 国内の出荷豚におけるLA-MRSAの実態調査

2021年度は、中部地方49農場からの出荷豚245頭を調査対象として、前年度までの研究班

で検討した食肉処理施設における最適なMRSA調査プロトコルを用いた実態調査を行った。検査材料はと畜場の協力の元、耳裏(耳介の中でなく、後ろ)のスワブを滅菌綿棒またはシードスワブNo.1(栄研化学)または滅菌綿棒を用いて採取した。シードスワブの先端を切って、その先端を6.5%塩化ナトリウム加ミュラーヒントン培地(関東化学)9mLに入れて、37°Cで1日間培養した。1白金耳分の培養液をポアメディアMRSA II培地(栄研化学)に塗抹し、37°Cで48時間培養した。MRSAと思われる集落を最大2個釣菌し、PCR法で黄色ブドウ球菌の同定と*mecA*の保有を確認した。

(3) 市販豚肉におけるLA-MRSAの汚染実態調査

国内5地域(北海道・東北、関東、中部、関西、九州)のスーパーマーケットで豚肉を購入し、LA-MRSAの汚染実態調査を行った。豚肉25gをビニール袋に入れ、6.5%塩化ナトリウム加ミュラーヒントン培地(関東化学)225mLを加えて、37°Cで1日間培養した。1白金耳分の培養液をポアメディアMRSA II培地(栄研化学)に塗抹し、37°Cで48時間培養した。MRSAと思われる集落を最大2個釣菌し、PCR法で黄色ブドウ球菌の同定と*mecA*の保有を確認した。

(4) 国産肥育牛のカンピロバクター感染状況と薬剤耐性

と畜検査に合格した国産肥育牛のカンピロバクター感染状況及び分離株の薬剤耐性状況について調査を実施した。2021年3月～8月の間に1と畜場でと畜処理された国産肥育牛の164頭(15道県に所在する34農場から出荷された黒毛和種130頭、交雑種33頭及びその他和牛1頭)から直腸スワブを採取し、mCCDAを用いた直接培養法によりカンピロバクターの有無を調査した。また、各陽性個体の1菌種1株について、MLST解析により遺伝子型を同定するとともに

薬剤感受性試験（8剤：NA、CPFX、SM、EM、TC、ABPC、GM、CP）を実施した。さらに、CPFX耐性が認められた遺伝子型については、*gyrA* 遺伝子（各遺伝子型1株）の変異の有無を調査した。

（5）国産食肉から分離したコリスチン自然耐性株における第3世代セファロスポリン耐性
国産食肉310検体（鶏肉103検体、豚肉103検体、牛肉104検体）からコリスチン添加（0.1 μ g/mL）DHL寒天培地で分離されたコリスチン自然耐性菌種の396株のうち、第3世代セファロスポリン（セフォタキシムまたはセフトジジム）耐性を示した37株を対象に β ラクタマーゼ遺伝子をDallenneらのマルチプレックスPCRとTanimotoらのFONA PCRを用いてPCR法で検索した。

（倫理面への配慮）
特になし

C. 研究結果

（1）市販鶏肉におけるESBL産生大腸菌の汚染菌量の季節変動性

2021年9～12月において鶏肉からESBL産生菌は、37検体中18検体（48.6%）から分離された。国産14検体中11検体（78.6%）、銘柄12検体中5検体（41.7%）、輸入11検体中2検体（18.2%）の順であった。MPNで推定した菌数は、9月では0.3～2.6、10月では0.3～0.9、11月では0.3～6.0、12月では0.3～3.5であった（表1）。

（2）国内の出荷豚におけるLA-MRSAの実態調査

MRSAは49農場中7農場（14.2%）、245頭中19頭（7.8%）から分離された。PCRでCC398であったものは1農場由来の4株で、その他は異なるST型と考えられた（表2）。

薬剤感受性は、すべての株がMIPIC・CFXに耐性を示した他、CLDM耐性（89.5%）、TC耐性

（84.2%）、EM耐性（78.9%）、CP耐性（26.3%）、LVFX（5.3%）の順で耐性を示した。VCM、TEIC、LZDに耐性を示す株は認められなかった。PCR法でCC398であった4株は全てTC、CLDM及びCPに耐性を示した。

（3）市販豚肉におけるLA-MRSAの汚染実態調査

MRSAは209検体中9検体（4.4%）から分離され、低率ではあるが国産豚肉に分布することが示された。分離されたMRSAは全てCC398で、すべて国産肉であった。東海地区で購入した豚肉の陽性率は2.7%（4/150）、関東では9.3%（5/54）であった。

薬剤感受性は、すべての株がMIPIC、CFX及びTCに耐性を示した他、EM、CLDM、CP耐性（3薬剤ともに66.7%）、LVFX（44.4%）、GM（22.2%）の順で耐性を示した。VCM、TEIC、LZDに耐性を示す株は認められなかった。

（4）国産肥育牛のカンピロバクター感染状況と薬剤耐性

カンピロバクターは94頭（57%）から分離された。これら感染牛は29農場（85%）から出荷されていた。*C. jejuni* 68株は、22の遺伝子型に分類され、ST806（12株）、ST21（9株）、ST459（8株）の順で、ST806は8道県に所在する10農場から出荷されていた。*C. jejuni* では、TC耐性の割合が最も高く（75%）、次いでCPFX耐性（65%）であった。上位3遺伝子型の79%（23/29）はTCとCPFXの両方に耐性であった。CPFX耐性は16の遺伝子型で認められ、いずれもGyrAにアミノ酸変異（Thr86Ile）が認められた。*C. coli* 26株は2つの遺伝子型（ST1068:23株、ST827:3株）に分類され、ST1068は7県に所在する9農場から分離された。*C. coli* ではCPFX耐性の割合が最も高く（88%）、次いでTC（77%）であった。2つの遺伝子型ともにCPFX耐性が認められ、*C. jejuni* と同様のアミ

ノ酸変異 (Thr86Ile) が認められた。また、調査牛の 90%は、と畜場への出荷までに少なくとも 2 農場で飼育されていた。

(5) 国産食肉から分離したコリスチン自然耐性株における第 3 世代セファロスポリン耐性

コリスチン自然耐性菌 396 株中 37 株 (9.3%) が第 3 世代セファロスポリンに耐性を示した。第 3 世代セファロスポリン耐性 *Serratia fonticola* : 10 株中 10 株が *bla_{fonA}* を保有し、国産の鶏肉、豚肉、および牛肉で検出された。第 3 世代セファロスポリン耐性 *Hafnia alvei* 15 株中 11 株から *bla_{ACC}* が検出された。第 3 世代セファロスポリン耐性を示した *Morganella morganii* は *bla_{DHA}* (鶏肉 (1/1)) を保有していた。

D. 考察

2021 年度から 3 年間で Food-chain における薬剤耐性菌の汚染対策を構築するため、1 年目に肉用鶏及び豚における薬剤耐性菌の汚染実態調査を段階的に開始した。

(1) 国産食肉における ESBL 産生大腸菌の汚染菌量の季節変動性

2021 年の 4 か月間に鶏肉から分離された ESBL 産生菌は、国産で最も高く (78.6%)、輸入では低率 (18.2%) であった。また、MPN で推定した菌数はばらつき、一定傾向は認められていないが、年間を通じて調査することで季節変動の有無について明らかにしていきたい。

(2) 国内の出荷豚における LA-MRSA の実態調査

出荷豚における MRSA は食肉汚染の原因となるため、継続的な調査が必要となる。今回の東海地区で実施した調査では 14.2%の農場、出荷豚の 7.8%から MRSA 分離され、これまで報告した東北地区や関東に比べて低率であった。ST398 の全株がテトラサイクリン (TC) 耐性を示し、全ての株が多剤耐性株であった。今後、遺伝子レベルの解析を進めながら豚に分布する MRSA の遺伝子型、

耐性遺伝子型とヒトに由来する MRSA との関連についても検討していく予定である。

(3) 国産豚肉における LA-MRSA の汚染実態調査

低率ではあるが市販豚肉に分布する MRSA が全て ST398 であったため、前述の出荷豚に分布する MRSA の多様性と一致していない。また、東海地区で購入した豚肉の陽性率 (2.7%)、関東 (9.3%) に比べて低く、関東で購入したものはすべて国産であったことが影響した可能性も考えられる。今後、調査対象地域を増やししながら、国内の豚肉における MRSA 汚染の実態を明らかにしていく。

(4) 国産肥育牛のカンピロバクター感染状況と薬剤耐性

今回の調査で、国産肥育牛に多様な遺伝子型 (MLST 型) のカンピロバクターが分布することを明らかにした。一部の ST 型は、異なる地域の農場で認められ、広域に分布していることが示された。所在する農場は 94 頭 (57%) から分離された。今回、調査対象の牛の大部分 (90%) は、と畜場への出荷までに少なくとも 2 農場で飼育されていたことから、感染牛の農場間移動及び農場における TC 系やフルオロキノロン系抗菌薬の使用等により、耐性株が選択・拡散されていると考えられた。

(5) 国産食肉から分離したコリスチン自然耐性株における第 3 世代セファロスポリン耐性

コリスチン自然耐性を示す菌種を対象に、第 3 世代セファロスポリン耐性を調査した結果、約 10%で認められ、 β ラクターマーゼ遺伝子の保有が確認された。特に、Tanimoto らが輸入鶏肉で報告した *bla_{fonA}* は、国産の鶏肉、豚肉、および牛肉に由来する第 3 世代セファロスポリン耐性 *Serratia fonticola* で認められた。これまで、国内の家畜でマイナーな ESBL 遺伝子の調査がほとんど行われていないが、幅広い菌種を対象にして実態を明らか

にする必要がある。

E. 結論

薬剤耐性菌による食品汚染は、生産段階に分布する薬剤耐性菌に起因するため、Food Chainにおける汚染実態の把握を進めながら、問題点を明らかにしていく必要がある。

F. 健康危険情報

(分担研究報告書には記入せずに、総括研究報告書にまとめて記入)

G. 研究発表

1. 論文発表

- ① 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.
- ② Matsui K, Nakazawa C, Thiri Maung Maung Khin S, Iwabuchi E, Asai T, Ishihara K. Molecular characteristics and antimicrobial resistance of *Salmonella enterica* serovar Schwarzengrund from chicken meat in Japan. *Antibiotics.* 10(11):1336, 2021.
- ③ Odoi JO, Takayanagi S, Yossapol M, Sugiyama M, Asai T. Third-generation cephalosporin resistance in intrinsic colistin-resistant *Enterobacterales* isolated from retail meat. *Antibiotics.* 10(12):1437, 2021.
- ④ Sasaki Y, Kakizawa H, Baba Y, Ito T, Haremaki Y, Yonemichi M, Ikeda T, Kuroda M, Ohya K, Hara-Kudo Y, Asai T, Asakura H. Antimicrobial resistance in *Salmonella* isolated from food workers and chicken products in Japan. *Antibiotics.* 10(12):1541, 2021.

2. 学会発表

・学会発表、説明会等 合計 〇件 :

1) 学会発表 合計 3 件

1. 佐々木貴正、浅井鉄夫、朝倉宏. 国産肥育牛のカンピロバクター感染状況と薬剤耐性 (第 14 回日本カンピロバクター研究会総会 (2021 年 9 月 24 日、WEB 開催、国産肥育牛のカンピロバクター感染率と薬剤耐性状況について報告した。)

2. 浅井鉄夫 家畜や愛玩動物に分布する薬剤耐性菌 (第 91 回日本感染症学会西日本地方会学術集会、第 64 回日本感染症学会中日本地方会学術集会、第 69 回日本化学療法学会西日本支部総会 合同学会、令和 3 年 11 月 6 日、岐阜、家畜と愛玩動物における薬剤耐性菌の現状について概説した。)

3. 浅井鉄夫 動物分野における薬剤耐性菌の対策と課題 (第 14 回日本医師会・日本獣医師会による連携シンポジウム、令和 3 年 11 月 30 日、WEB 開催、ワンヘルスアプローチで取り組む薬剤耐性菌対策として、AMR 対策アクションプランの成果と課題について獣医学領域から概説した。)

2) 市民向け説明会 合計 0 件

なし

3) 業界関係者向け説明会

1. 浅井鉄夫 次期アクションプランの動物分野の数値目標について (「AMR 対策の数値目標を検討するラウンドテーブル」、令和 3 年 6 月 30 日、WEB 開催、AMR アライアンス・ジャパン、AMR 対策アクションプランの成果と課題について獣医学領域から概説した。)

2. 浅井鉄夫 動物分野における抗菌薬使用—現状と今後の課題 (「将来への投資~AMR から世界を救うために求められる投資家の役割~」令和 3 年 9 月 8 日、WEB 開催、AMR アライアンス・ジャパン、家畜における薬剤耐性菌と抗菌薬使用の現状について概説した。)

4) 行政関係者向け説明会

1. 浅井鉄夫 動物分野における抗菌薬の適正使用について (「次期 AMR アクションプラン策

定作業部会」における有識者ヒアリング、令和3年11月14日、WEB開催、不明、PwCコンサルティング合同会社、動物分野の抗菌剤の慎重使用に関する現状と課題を概説した。）

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 鶏肉におけるCTX耐性大腸菌の汚染状況

| | 陽性/検査 (%) | | | 平均菌量 (/g) | | |
|---------|--------------|-------------|-------------|-----------|-----|-----|
| | 国産 | 輸入 | 銘柄 | 国産 | 輸入 | 銘柄 |
| 2021/9 | 2/2 | 1/3 | 2/4 | 1.0 | 0.3 | 2.6 |
| 2021/10 | 3/4 | 0/3 | 2/4 | 0.5 | 0.3 | 0.9 |
| 2021/11 | 3/4 | 0/2 | 1/4 | 6.0 | 0.3 | 0.5 |
| 2021/12 | 3/4 | 1/3 | 0/4 | 3.5 | 0.5 | 0.3 |
| 計 | 11/14 (78.6) | 2/11 (22.2) | 5/12 (41.7) | | | |

表2 と畜場出荷豚における耳裏からのMRSAの分離

| と畜場 | 農家数/頭数 | 陽性農家数/頭数 | 陽性% (農家/頭数) |
|-----|--------|----------|----------------|
| A | 40/200 | 7/19 | 17.5/9.5 |
| B | 9/45 | 0/0 | 0/0 |
| 計 | 49/245 | 7/19 | 14.2/7.8 |

表3 と畜場および市販肉から分離したMRSAの薬剤感受性

| 薬剤 | と畜場(n=19) | | 食肉由来(n=9) | |
|-------|------------|----------|---------------------|---------|
| | MIC範囲 | 耐性株数(%) | MIC範囲 | 耐性株数(%) |
| CEZ | 2-32 | | 1-32 | |
| FMOX | 1-8 | | 2-64< | |
| CMZ | 4-16 | | 4-64< | |
| IPM | ≦0.25 | | ≦0.25-1 | |
| MINO | ≦0.12-4 | | 2-4 | 0 |
| TC | ≦0.5-64< | 16(84.2) | 32-64< | 9(100) |
| VCM | 0.5-1 | | 0.5-1 | 0 |
| TEIC | ≦0.25 | | ≦0.25 | 0 |
| LZD | 1 | | 1-2 | 0 |
| ABK | 1-2 | | 1-8< | |
| TZD | ≦0.12-0.25 | | ≦0.12-0.25 | 0 |
| DAP | 0.25-5 | | 0.25-0.5 | 0 |
| RFP | ≦1 | | ≦1 | 0 |
| MPIPC | >4 | 19(100) | 4-4< | 9(100) |
| MUP | ≦0.06 | | ≦0.06 | |
| EM | 1-128< | 15(78.9) | 0.5-128< | 6(66.7) |
| CLDM | 0.25-128< | 17(89.5) | 0.12-128< | 6(66.7) |
| GM | 0.5-2 | | 0.5-128< | 2(22.2) |
| LVFX | 0.12-8 | 1(5.26) | 0.12-8< | 4(44.4) |
| ST | ≦4.75/0.25 | | ≦4.75/0.25- 19/1 | 0 |
| FOM | ≦0.25-2 | | ≦0.25-16 | |
| CFX | 8-8< | 19(100) | 8-8< | 9(100) |
| CP | 4-64 | 5(26.3) | 4-128 | 6(66.7) |

CLSI ブレイクポイントあり

表4 MRSAの薬剤耐性パターン

| 耐性パターン | 株数 | |
|---------------------------------|-----|------|
| | と畜場 | 食肉由来 |
| TC,MPIPC,EM,CLDM,GM,LVFX,CFX,CP | 0 | 1* |
| TC,MPIPC,EM,CLDM,LVFX,CFX,CP | 0 | 2* |
| TC,MPIPC,EM,CLDM,GM,CFX,CP | 0 | 1* |
| TC,MPIPC,EM,CLDM,LVFX,CFX | 0 | 1* |
| TC,MPIPC,EM,CLDM,CFX,CP | 1 | 0 |
| TC,MPIPC,EM,CLDM.CFX | 11 | 1* |
| TC,MPIPC,CLDM,CFX,CP | 4* | 0 |
| TC,MPIPC,CFX,CP | 0 | 2* |
| MPIPC,EM,CLDM,CFX | 1 | 0 |
| MPIPC,EM,LVFX,CFX | 1 | 0 |
| TC,MPIPC,CFX | 0 | 1* |
| MPIPC,EM,CFX | 1 | 0 |

*:CC398

表5 市販豚肉からのMRSAの分離

| 購入地 | | 検体数 | 陽性数 | % |
|-----|-----|-----|-----|------|
| 東海 | 愛知 | 71 | 2 | 2.8 |
| | 岐阜 | 79 | 2 | 2.5 |
| 関東 | 千葉 | 25 | 1 | 4.0 |
| | 神奈川 | 16 | 4 | 25.0 |
| | 埼玉 | 13 | 0 | 0 |
| 関西 | 京都 | 5 | 0 | 0 |
| 合計 | | 209 | 9 | 4.4 |

表6 国内産と輸入豚肉からのMRSAの分離

| 購入地 | | 検体数 | 陽性数 | % |
|-----|----|-----|-----|-----|
| 東海 | 国産 | 103 | 4 | 3.9 |
| | 輸入 | 47 | 0 | 0 |
| | 小計 | 150 | 4 | 2.7 |
| 関東 | 国産 | 54 | 5 | 9.3 |
| | 輸入 | 0 | 0 | 0 |
| | 小計 | 54 | 5 | 9.3 |
| 関西 | 国産 | 3 | 0 | 0 |
| | 輸入 | 2 | 0 | 0 |
| | 小計 | 5 | 0 | 0 |
| 国産計 | | 160 | 9 | 5.6 |
| 輸入計 | | 49 | 0 | 0 |

表7 肉用牛から分離されたカンピロバクター株のMLST型と薬剤耐性パターン

| 菌種 | CC | 株数 | ST (株数) |
|------------------|-----|----|--|
| <i>C. jejuni</i> | 21 | 30 | 21 (9), 806 (12), 982 (3), 50, 487, 596, 656, 4526, 11029 (各1) |
| | 22 | 4 | 1739 (2), 9078 (2) |
| | 42 | 10 | 459 (8), 42, 6532 (各1) |
| | 45 | 1 | 9681 (1) |
| | 61 | 14 | 61 (7), 1244 (3), 10369 (4) |
| | 257 | 1 | 929 (1) |
| | 403 | 2 | 933 (2) |
| | 未分類 | 6 | 922 (5), 3502 (1) |
| <i>C. coli</i> | 828 | 26 | 827 (3), 1068 (23) |

| 薬剤耐性パターン | <i>C. jejuni</i> | | | | | | | 未分類 | <i>C. coli</i> |
|------------------------|------------------|----|----|----|----|-----|-----|-----|----------------|
| | 21 | 22 | 42 | 45 | 61 | 257 | 403 | | |
| ABPC, SM, TC, NA, CPFX | 1 | | 1 | | | | | | |
| ABPC, TC, NA, CPFX | 5 | | | | | | | 1 | 13 |
| TC, SM, NA, CPFX | 1 | | | | | | | | |
| TC, CP, NA, CPFX | | | | | | | | | 3 |
| ABPC, NA, CPFX | 1 | | | | | | | | 1 |
| TC, NA, CPFX | 12 | 4 | 7 | | | 1 | | 4 | 3 |
| ABPC, TC | 3 | | | | 1 | | | | |
| NA, CPFX | 3 | | | 1 | 2 | | | | 3 |
| SM, TC | 1 | | | | | | | | |
| ABPC | 1 | | | | | | | | |
| TC | 2 | | | | 7 | | 2 | | 1 |
| 感受性 | | | 2 | | 4 | | | 1 | 2 |

C. jejuni CC21と*C. coli* CC828で多様な耐性型

表8 市販肉から分離されたコリスチン自然耐性株における第三世代セファロスポリン耐性

| 菌種 | 鶏肉 (n=103) | 豚肉 (n=103) | 牛肉 (n=104) | 計 |
|--------------------------------|------------|------------|------------|-------|
| <i>Serratia liquefaciens</i> | 2/63* | 3/64 | 2/67 | 7/194 |
| <i>Serratia marcescens</i> | 2/11 | 0/6 | 0/8 | 2/25 |
| <i>Serratia fonticola</i> | 5/11 | 2/4 | 3/5 | 10/20 |
| <i>Serratia plymuthica</i> | 0/1 | 0/1 | | 0/2 |
| <i>Hafnia alvei</i> | 1/17 | 8/40 | 6/32 | 15/89 |
| <i>Proteus penneri</i> | 2/11 | 0/2 | 0/1 | 2/14 |
| <i>Proteus mirabilis</i> | 0/6 | 0/1 | | 0/7 |
| <i>Proteus vulgaris</i> | 0/1 | 0/1 | | 0/2 |
| <i>Proteus hauseri</i> | 0/4 | 0/3 | | 0/7 |
| <i>Cedecea davisae</i> | 0/11 | 0/1 | 0/2 | 0/14 |
| <i>Morganella morganii</i> | 1/7 | 0/2 | 0/1 | 1/10 |
| <i>Providencia rustigianii</i> | 0/12 | | | 0/12 |

*第3世代セファロスポリン耐性/分離陽性

βラクタマーゼ遺伝子の検出:

DallenneらのマルチプレックスPCRとTanimotoらのFONA PCRを用いた

- *Serratia fonticola*: bla_{fona} 10/10(内訳 鶏肉 (5/5), 豚肉 (2/4), 牛肉(3/3))
- *Hafnia alvei*: bla_{ACC} 11/15 (内訳 鶏肉 (1/1), 豚肉 (7/9), 牛肉(3/6))
- *Morganella morganii*: bla_{DHA} 1/1 (内訳 鶏肉 (1/1))

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：ワンヘルスに基づく食品由来薬剤耐性菌のサーベイランス体制強化のための研究（21KA1004）

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

研究要旨

患者、家畜、および食品等に由来する薬剤耐性菌の遺伝的関連性は、それらの拡散制御対策を策定する上で重要な情報である。我々のグループでは、2021年11月から2022年1月にかけて全国の患者由来および国内の30の養豚場で飼育された豚に由来するメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)をそれぞれ51株および80株を分離・収集した。また、同時期に国内26養鶏場から出荷され、食鳥処理場で加工・包装されて市販鶏肉のうち、11の養鶏場の鶏肉から第三世代セファロスポリン系薬耐性大腸菌32株および肺炎桿菌1株を分離した。これらについて、薬剤感受性検査を行った。今後、国立感染症研究所薬剤耐性研究センターにおいてドラフト全ゲノム解読を行い、分子疫学的に菌株間の関連性、および薬剤耐性遺伝子等の解析を予定している。

A. 研究目的

ヒトおよび豚耳からはMRSAを、鶏肉からは第三世代セファロスポリン系薬耐性株を分離・収集し、分離頻度、薬剤感受性および全ゲノム解析結果に基づいて、ヒト由来耐性株との遺伝的関連性を明らかにする。

B. 研究方法

大きく以下の2つの方法により本研究を実施した。なお、菌株の分離時期は2021年11月から2022年1月である。

[1] 本邦の養豚場で飼育されたブタのと畜場において1農場につき5頭分の耳介を採取して検体とした。30の養豚場から150頭の耳介を収集した。6.5% NaClを添加したMueller-Hinton broth(ベクトン・ディッキンソン)で増菌培養後、MRSA分離培地II(栄研化学)によ

りMRSAを選択的に培養した。また、患者に由来するMRSAは株式会社エスアールエルから分与を受けた。

[2] 国内の26の養鶏場から出荷され、食鳥処理場で加工・包装された市販鶏肉合わせて246検体(養鶏場の重複あり)を第三世代セファロスポリン系薬耐性株の分離に供試した。鳥皮部を緩衝ペプトン水を用いて増菌培養後、100μLをC3G®培地(CHROMagar)に塗布し、培養した。発育が確認された大腸菌あるいは肺炎桿菌様コロニーを純培養し、以降の検討に供した。

薬剤感受性検査は、MRSA用および第三世代セファロスポリン系薬耐性株用にそれぞれ特注したフローズプレート(栄研化学)による微量液体希釈法により行った。

(倫理面への配慮)

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

C. 研究結果

30 農場中 21 農場 (70%) で飼育されたブタの耳介から MRSA が分離された。全 150 検体のうち、80 検体から MRSA が分離され、分離検体数は 1~5 検体とばらつきがあった。耐性率が高かった抗菌薬は順に、クリンダマイシンが 76 株 (95.0%)、テトラサイクリンが 70 株 (87.5%)、エリスロマイシンが 47 株 (58.8%) だった。バンコマイシン、テイコプラニン、およびリネゾリドに耐性を示す菌株は確認されなかった。アルベカシンおよびダプトマイシンに低感受性を示す菌株がそれぞれ 11 株および 1 株確認されたため、薬剤感受性検査の再検ならびに薬剤耐性メカニズムの解析を予定している。なお、外来患者の皮膚由来 MRSA は 51 株収集された。ブタ由来 MRSA とは対称的に、クリンダマイシン耐性は 7 株 (13.7%)、テトラサイクリン耐性は 7 株 (13.7%) と低く、一方でエリスロマイシン耐性は 40 株 (78.4%) とブタ由来株よりも高かった。

26 の養鶏場で飼育され食鳥処理場で加工・包装された鶏肉のうち、11 の養鶏場で第三世代セファロsporin系薬耐性株が分離された。異なる日にちに購入した鶏肉につき 1 株を代表株とすると、第三世代セファロsporin系薬耐性大腸菌は 32 株分離され、その内訳は基質特異性拡張型 β -lactamase (ESBL) 産生株が 23 株、AmpC 産生株が 9 株だった。カルバペネム系薬に耐性を示す株は分離されなかったが、メロペネムの MIC 値が 0.25 mg/L の ESBL 産生株 1 株と同 0.5 mg/L の AmpC 産生株 1 株が認められた。第三世代セファロsporin系薬耐性肺炎桿菌は 1 株で典型的な ESBL 産生菌の薬剤感受性パターンを示した。ESBL 産生大腸菌 23 株のうち 22 株が

カナマイシン、15 株がテトラサイクリンにそれぞれ耐性を示した (AmpC 産生大腸菌についてはそれらの感受性検査は実施していない)。

D. 考察

7 割の養豚場のブタから MRSA が分離されたことは、これまでの調査結果と比較しても高頻度であった。これまでの調査はスワブ検体を材料とする場合が多く、本研究では増菌培養を行ったため、高感度であった可能性がある。また、と畜場でのクロスコンタミネーションは否定できないことから、検出頻度の結果は解釈に注意が必要である。豚由来 MRSA はクリンダマイシンおよびテトラサイクリンに耐性を示す菌株が多く検出され、家畜関連 MRSA (LA-MRSA) の割合が高いと考えられた。また、ヒト由来 MRSA のうち 13.7%で同薬剤に耐性であったことから、それらの菌株間の関連性の解明が重要になる。

ESBL 産生大腸菌においてカナマイシンおよびテトラサイクリンの耐性率が高かったことは、種鶏場および孵化場において感染症予防目的で投与されているそれらの抗菌薬によって ESBL 産生大腸菌が選択されている可能性が示唆される。今後、ESBL をコードする遺伝子のみならず、カナマイシンあるいはテトラサイクリン耐性遺伝子を媒介する可動性遺伝因子に着目して解析を進める必要がある。

E. 結論

7 割の養豚場のブタから MRSA が分離された。今後、ヒト分離株との関連性を分子疫学的に検討する必要がある。第三世代セファロsporin系薬耐性大腸菌は、当該抗菌薬以外による選択圧がそれらの分離頻度を上昇させている可能性がある。

F. 健康危険情報

(分担研究報告書には記入せずに、総括
研究報告書にまとめて記入)

G. 研究発表

1. 論文発表

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

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
分担研究報告書

「ワンヘルスに基づく食品由来薬剤耐性菌のサーベイランス体制強化のための研究」

分担課題名：動物（家畜）由来細菌の薬剤耐性モニタリング：JVARMとの連携

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。本研究では当該データの連携を実施するため、動物由来薬剤耐性菌モニタリング (JVARM) のと畜場及び食鳥処理場由来（平成 30 年度）サルモネラ及びカンピロバクター、と畜場由来メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) 等について次世代シーケンサーによってドラフトゲノム配列を取得し、血清型別、遺伝子型別や薬剤耐性遺伝子等の検出を行った。その結果、サルモネラについては血清型は Schwarzengrund が、ST (Sequence Type) は ST241 が最も優勢であった。また、カンピロバクターについては、*Campylobacter jejuni* では ST42 及び ST918 が、*Campylobacter coli* では ST1055 が最も優勢であった。MRSA については ST398 が最も優勢であった。

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、令和元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 μ g/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、大腸菌から *mcr-1* 遺伝子及び *mcr-3* 遺伝子は検出されたが低率（各年、動物種毎に、いずれも 5%以下）であった。また平成 29 年度から平成 30 年度に分離された、と畜場及び食鳥処理場由来大腸菌が保有している *mcr* 遺伝子が乗ったプラスミドの塩基配列を、ショートリードとロングリードを組み合わせたハイブリッドアセンブルによって取得して解析を行ったところ、サイズが約 60kb で耐性遺伝子としては *mcr-1* のみを保有しているプラスミド型が IncI2 であるプラスミドが最も優勢であった。

A. 研究目的

家畜に由来する薬剤耐性菌が畜産食品を介して人に伝播し、人の健康に危害を与える可能性について評価するため、国内では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。

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、動物由来薬剤耐性菌モニタリング (JVARM) において収集した株のゲノムデータを、国立感染症研究所に提供するとともに、各種解析を行った。

JVARM で収集されたサルモネラ、カンピロバクター及び MRSA については、次世代シーケンサーによってトラフとゲノム配列を取得し、血清型別や遺伝子学的型別を行うとともに、薬剤耐性遺伝子の検出を行った。

また、ヒト用医薬品として注射剤が承認され、医療上重要な抗菌性物質として再認識されているコリスチンについては、伝達性耐性遺伝子 *mcr* 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。

さらに、動物由来株における *mcr* 遺伝子を保有したプラスミドの特徴を把握することを目的として、ショートリードとロングリードを組み合わせたハイブリッドアセンブルによってプラスミドの全長配列を取得して解析を行った。

B. 研究方法

(1)JVARM 由来株のゲノムデータの取得及びそれを用いた解析

と畜場及び食鳥処理場由来サルモネラ 117 株及びカンピロバクター92 株 (平成 30 年度)、と畜場由来 MRSA29 株 (令和 2 年度) について、次世代シーケンサーによってドラフトゲノム配列を取得し、その配列を用いて血清型別や遺伝子学的型別を行うとともに、薬剤耐性遺伝子の検出を行った。

(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

令和元年度に分離された、コリスチンの MIC が $2 \mu\text{g/mL}$ 以上のと畜場及び食鳥処理場由来大腸菌 4 株及び食鳥処理場由来サルモネラ属菌 59 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* を鈴木らのマルチプレックス PCR 法によ

て検出した。

(3) *mcr* 遺伝子を保有したプラスミドの解析

平成 29 年度から平成 30 年度に分離された、と畜場及び食鳥処理場由来大腸菌 15 株が保有している *mcr* 遺伝子が乗ったプラスミドについて、MiSeq によって取得したショートリードの塩基配列と、MinION を用いて取得したシロングリードの塩基配列をを組み合わせたハイブリッドアセンブルによって環状の塩基配列を得た。その塩基配列について、耐性遺伝子の検出及びプラスミドの Inc 型別を行った。

C. 研究結果

(1) JVARM 由来株のゲノムデータの取得及びそれを用いた解析

サルモネラについて、血清型は Schwarzengrund (65.0%) が一番多く、次いで Infantis (24.7%) が多かった (図 1)。ST は ST241 (51.3%) が最も多く、次いで ST32 (16.2%) が多かった (図 2)。耐性遺伝子は、アミノグリコシド耐性遺伝子である *aac(6)-Iaa* をすべての株が保有していた。その他、60%以上の株が保有していた耐性遺伝子としてはアミノグリコシド耐性遺伝子である *aadA1* (76.9%) 及び *aph(3')-Ia* (66.7%)、テトラサイクリン耐性遺伝子である *tet(A)* (77.8%)、サルファ剤耐性遺伝子である *sul1* (75.2%)、トリメトプリム耐性遺伝子である *dfpA14* (63.3%) が認められた (図 3)。

カンピロバクターについては、*C. jejuni* の ST 型は ST42 及び ST918 (それぞれ 10.6%) が最も多く、次いで ST21 及び ST440 (それぞれ 7.6%) が多かった (図 4)。*C. coli* では ST1055 (19.2%) が最も多く、次いで ST854 及び ST1125 (それぞれ 7.7%) が多かった (図 5)。耐性遺伝子は、*C. jejuni* では β -ラクタマーゼ遺伝子である *bla_{OXA-61}* (66.7%) が最も多く、次いでテトラサイクリン耐性遺伝子である *tet(O)* (33.3%) が多かった (図 6)。

フルオロキノロン耐性と関連のある *gyrA* 遺伝子の変異は、25.8%の株が保有していた。*C. coli* では、*tet(O)* (88.5%) が一番多く、次いで *bla_{OXA-61}* (80.8%) が多かった (図 7)。*gyrA* の変異を保有している株は認められなかった。*C. jejuni* 及び *C. coli* とともに、マクロライド耐性に関

連する遺伝子は保有していなかった。

MRSA については、ST398 (86.2%) が最も多く、次いで ST5 及び ST8 (それぞれ 6.9%) であった (図 8)。*spa* 型は、t034 (69.0%) が最も多く、次いで t002 (6.9%) が多かった (図 9)。耐性遺伝子は、すべての株がメチシリン耐性遺伝子である *mecA* 及び β -ラクタマーゼ遺伝子である *bla_Z* を保有し、その他 60%以上の株が保有していた耐性遺伝子としては、アミノグリコシド耐性遺伝子である *ant(9)-Ia* (65.5%)、テトラサイクリン耐性遺伝子である *tet(M)* (89.7%) が認められた (図 10)。また、全体の 72.4%の株が、亜鉛耐性遺伝子である *czrC* を保有していた。

(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 (図 11)

大腸菌について、*mcr-1* 及び *mcr-3* 遺伝子のみ検出された。*mcr-1* は牛及び豚由来株から検出され、牛由来株では 1 株 (0.3% : 割合は、各年の各動物種由来株全株に対するもの)、豚由来株では 3 株 (3.8%) 検出された。また、*mcr-3* 遺伝子は豚由来株 1 株 (1.3%) から検出された。サルモネラについて、*mcr* 遺伝子はいずれの畜種においても検出されなかった。

(3) *mcr* 遺伝子を保有したプラスミドの解析 (表)

15 株中 14 株は *mcr-1.1* を保有しており、10 株は耐性遺伝子として *mcr-1.1* のみが乗っているプラスミドサイズ約 60kb の Inc 型が IncI2 のプラスミドを保有していた。*mcr-5.1* は 1 株のみが保有しており、プラスミドサイズが約 70kb の IncFII のプラスミド上に、アミノグリコシド耐性遺伝子である *aph(3')-Ia* 及び β -ラクタマーゼ遺伝子である *bla_{TEM-1B}* と一緒に乗っていた。

D. 考察

サルモネラ及びカンピロバクターは食中毒の原因菌として公衆衛生上重要な細菌であり、JVARM においてと畜場及び食鳥処理場より収集している菌株について、次世代シーケンサーによってドラフトゲノム配列を取得し、血清型別、遺伝子型別、耐性遺伝子の検出等を行った。サルモネラについて、S.

Schwarzengrund 及び *S. Infantis* の占める割合が高く、これはこれまでの傾向と同じであり、食品由来株とは類似しているが、人由来株とは異なっていた。薬剤耐性遺伝子としては、アミノグリコシド耐性遺伝子を全株が保有しており、近年における食鳥処理場由来サルモネラにおける高率なアミノグリコシドの耐性率を裏付けていた。カンピロバクターについては、*C. jejuni* の ST 型は多様性が認められたが、最も多い ST 型の一つである ST918 は、海外で人でのアウトブレイクの起原因菌となっていることが報告されている型であった。フルオロキノロン耐性について、*C. jejuni* ではフルオロキノロン耐性と関連のある *gyrA* の変異が 25.8%の株に認められ、実際の耐性率と類似した値であった。*C. coli* では *gyrA* の変異が認められた株はなかったが、実際の耐性率 (約 60%) との乖離が認められ、この原因については今後検討が必要と考えられた。マクロライド耐性遺伝子は検出されなかったが、*C. coli* ではマクロライド耐性が 20%程度認められており、これについても耐性機構の検討が必要と考えられた。

MRSA については、ST398 で *spa* 型が t034 の株が一番多く、これは家畜関連 MRSA (LA-MRSA) として報告されている一般的な型であった。保有している耐性遺伝子もアミノグリコシド耐性遺伝子やテトラサイクリン耐性遺伝子、亜鉛耐性遺伝子等、従来のもので変わらなかった。国内において家畜関連 MRSA が人に感染した事例はほとんどないと考えられるが、海外では豚から人への直接接触による感染事例も報告されており、豚における MRSA の保有状況は引き続きモニタリングしていく必要があると考えられた。

プラスミド性コリスチン耐性遺伝子の動向を把握するため、と畜場及び食鳥処理場由来大腸菌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、大腸菌で *mcr-1* 及び *mcr-3* 遺伝子が検出されたが保有率は低率であり、経年的な上昇傾向は認められなかった。*mcr* 遺伝子を保有するプラスミドの性状解析を行ったところ、耐性遺伝子として *mcr-1.1* のみが乗っているプラスミドサイズ約 60kb の Inc 型が IncI2 のプラスミドが優勢なことが判明し、このプラスミドが株から株へ伝達さ

れていることが示唆された。

E. 結論

公衆衛生上重要なサルモネラ、カンピロバクター及びMRSAについて、JVARMにおいて収集した株から得た全ゲノムデータを用いて解析することにより、血清型や遺伝子型、保有する薬剤耐性遺伝子等を網羅的に把握することができ、人由来株や食品由来株とのデータ連携の実施に資することが可能と考えられた。

と畜場及び食鳥処理場由来大腸菌におけるプラスミド性コリスチン耐性遺伝子の検出の結果、*mcr-1*及び*mcr-3*遺伝子は検出されたが検出率は低率であった。*mcr-1*遺伝子については、性状の類似したプラスミドが株から株に伝達されている可能性が示唆された。

F. 健康危害情報

なし

G. 研究発表

1.論文発表

(1)Manao Ozawa, Yukari Furuya, Ryoko Akama, Saki Harada, Mari Matsuda, Hitoshi Abo, Takahiro Shirakawa, Michiko Kawanishi, Eiji Yoshida, Minako Furuno, Hisae Fukuhara, Kazufumi Kasuya, Yoko Shimazaki. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from pigs in Japan (投稿中)

2.学会発表

(1) 小澤真名緒、原田咲、阿保均、古谷ゆかり、赤間亮子、白川崇大、松田真理、川西路子、嶋崎洋子。「健康家畜由来大腸菌におけるコリスチン耐性遺伝子の保有状況について」第164回日本獣医学会学術集会(2021年9月、オンライン開催)

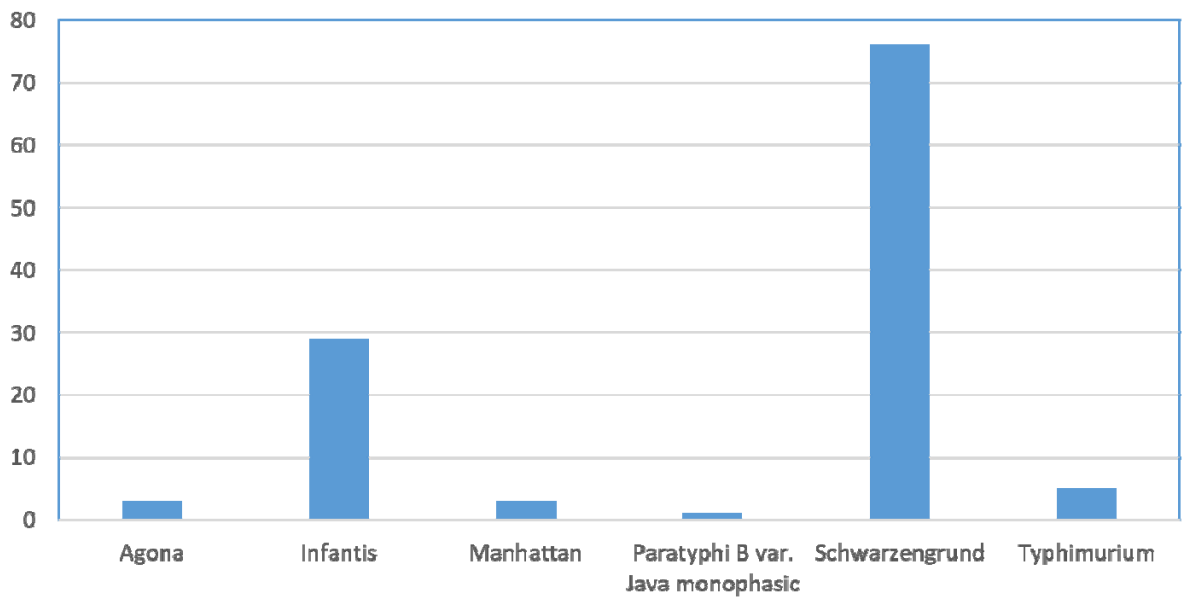
3.業界関係者向け説明会

なし

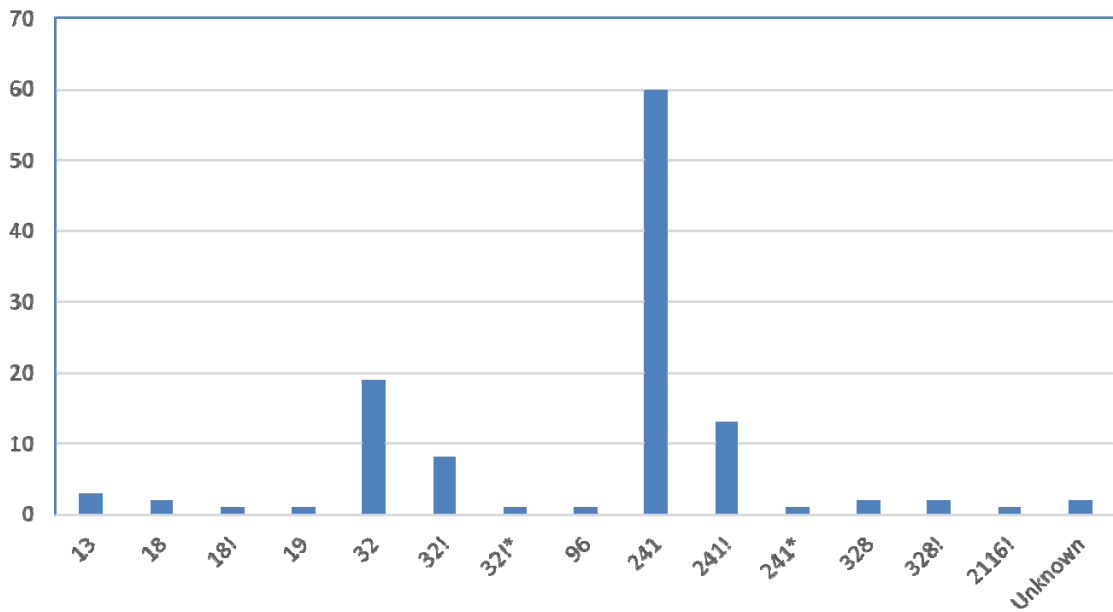
H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

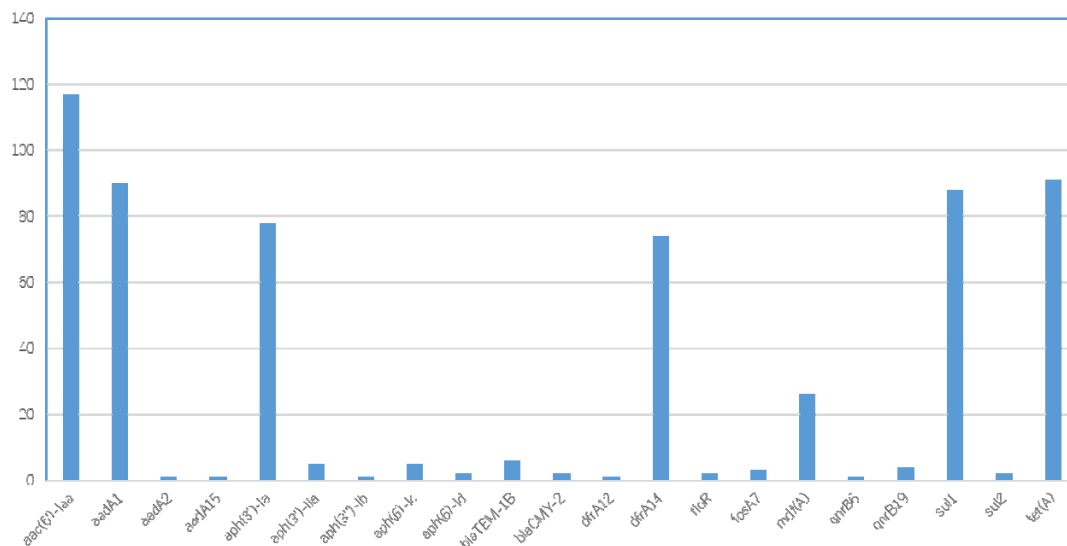
(n) 図1 サルモネラの血清型 (n=117)



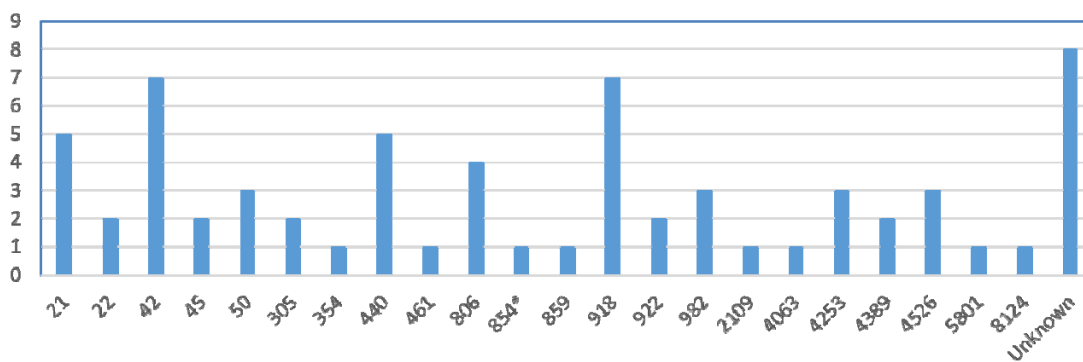
(n) 図2 サルモネラのST (n=117)



(n) 図3 サルモネラの耐性遺伝子 (n=117)



(n) 図4 *C. jejuni*のST (n=66)



(n) 図5 *C. coli*のST (n=26)

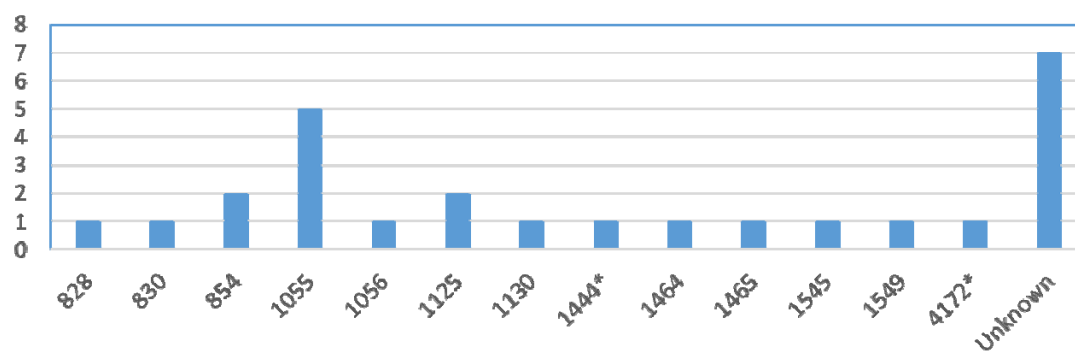


図6 *C. jejuni*の耐性遺伝子 (n=66)

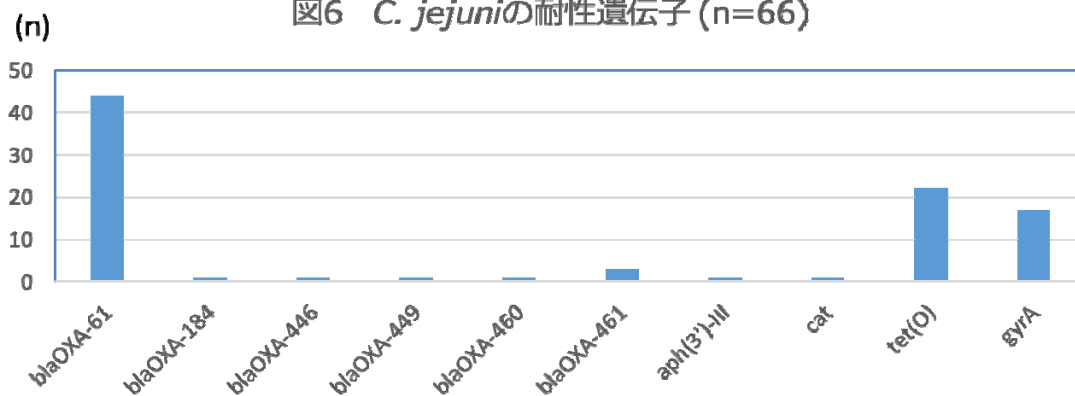


図7 *C. coli*の耐性遺伝子 (n=26)

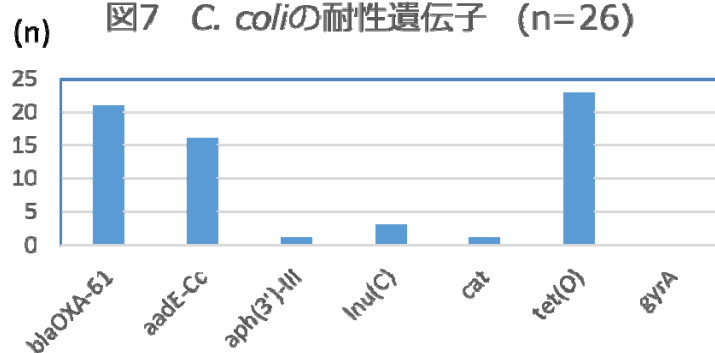


図8 MRSAのST (n=29)

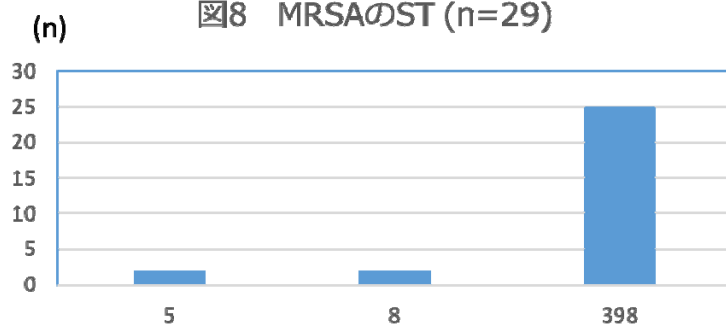
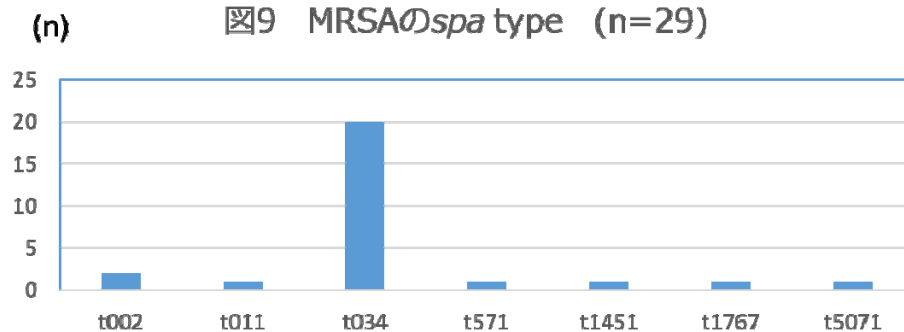


図9 MRSAのspa type (n=29)



(n) 図10 MRSAの耐性遺伝子 (n=29)

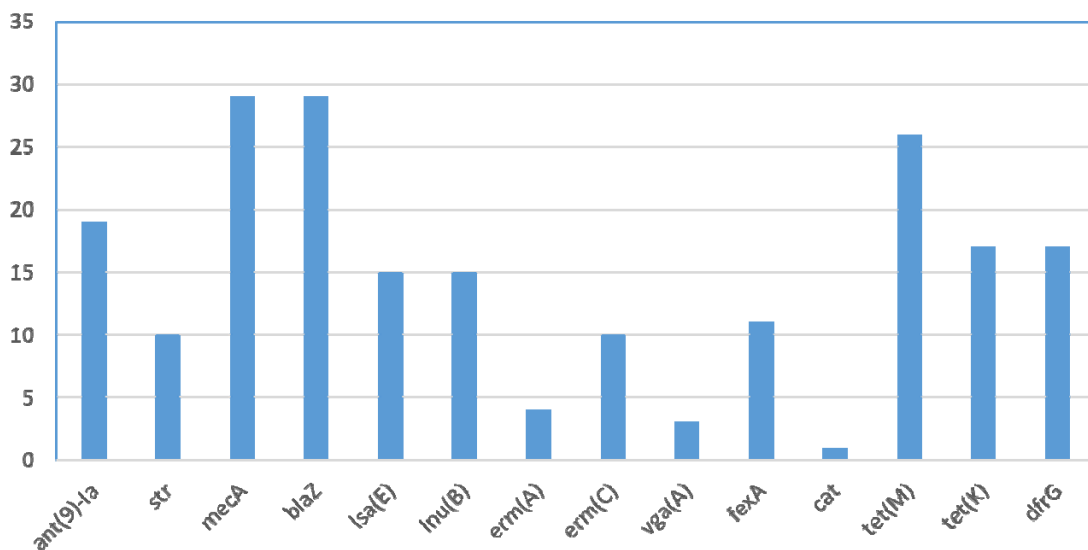


図11 と畜場及び食鳥処理場由来大腸菌
コリスチン耐性遺伝子 (*mcr-1*~*mcr-5*) の検出

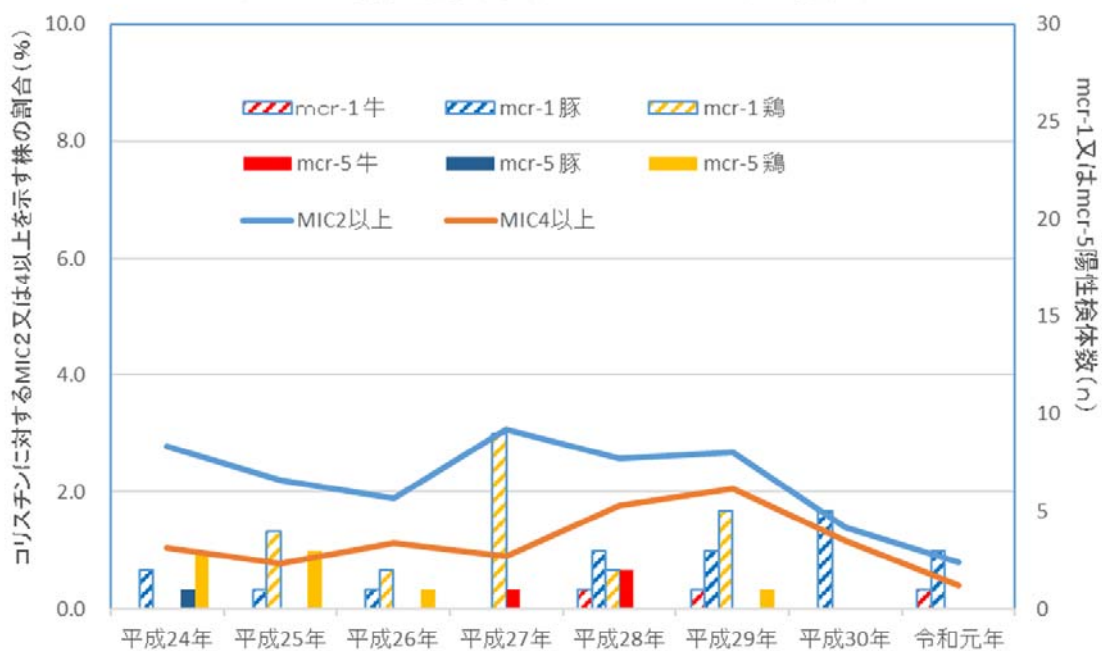


表 *mcr*遺伝子保有プラスミド

| Isolates | Contig length | Resistance genes | Inc type |
|---------------|---------------|--|------------------------|
| 30-Ec-P-9-1 | 194409 | <i>mcr-1.1</i> | IncFIA,IncHI1A,IncHI1B |
| 30-Ec-P-66-1 | 63162 | <i>mcr-1.1</i> | IncI2 |
| 30-Ec-P-111-1 | 63161 | <i>mcr-1.1</i> | IncI2 |
| 30-Ec-P-24-1 | 61809 | <i>mcr-1.1</i> | IncI2 |
| 29-Ec-B-216-1 | 60888 | <i>mcr-1.1</i> | IncI2 |
| 29-Ec-P-25-1 | 64448 | <i>mcr-1.1</i> | IncI2 |
| 29-Ec-P-103-1 | 67574 | <i>mcr-1.1</i> | IncI2 |
| 29-Ec-C-13-1 | 60757 | <i>mcr-1.1</i> | IncI2 |
| 29-Ec-C-14-1 | 60900 | <i>mcr-1.1</i> | IncI2 |
| 29-Ec-C-101-1 | 60734 | <i>mcr-1.1</i> | IncI2 |
| 29-Ec-C-102-1 | 60833 | <i>mcr-1.1</i> | IncI2 |
| 30-Ec-P-25-1 | 61229 | <i>mcr-1.1</i> | ND* |
| 29-Ec-P-26-1 | 60825 | <i>mcr-1.1</i> | ND* |
| 29-Ec-C-1-1 | 33309 | <i>mcr-1.1</i> | IncX4 |
| 29-Ec-C-81-1 | 70786 | <i>aph(3')-Ia,mcr-5.1,bla_{TEM-1B}</i> | IncFII |

* Not determined

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

(該当なし)

雑誌

| 発表者氏名 | 論文タイトル名 | 発表誌名 | 巻号 | ページ | 出版年 |
|---|---|-------------------------|--------|-----------|------|
| Kawahara R, Watahiki M, Matsumoto Y, Uchida K, Noda M, Masuda K, Fukuda C, Abe Y, Asano Y, Oishi K, Shibayama K, Shinomiya H. | Subtype Screening of blaIMP Genes Using Bipartite Primers for DNA Sequencing. | Jpn J Infect Dis. | 74(6) | 592-599 | 2021 |
| Sasaki Y, Kakizawa H, Baba Y, Ito T, Haremaki Y, Yonemichi M, Ikeda T, Kuroda M, Ohya K, Hara-Kudo Y, Asai T, Asakura H. | Antimicrobial resistance in <i>Salmonella</i> isolated from food workers and chicken products in Japan. | Antibiotics (Basel). | 10(12) | 1541 | 2021 |
| Kurushima J, Tomita H. | Inactivation of GalU Leads to a Cell Wall-Associated Polysaccharide Defect That Reduces the Susceptibility of <i>Enterococcus faecalis</i> to Bacteriolytic Agents. | Appl Environ Microbiol. | 87(7) | e02875-20 | 2021 |
| Hirakawa H, Takita A, Uchida M, Kaneko Y, Kakishima Y, Tanimoto K, Kamitani W, Tomita H. | Adsorption of Phenazines Produced by <i>Pseudomonas aeruginosa</i> Using AST-120 Decreases Pyocyanin-Associated Cytotoxicity. | Antibiotics (Basel). | 10(4) | 434 | 2021 |
| Hirakawa H, Suzue K, Takita A, Kamitani W, Tomita H. | Roles of OmpX, an Outer Membrane Protein, on Virulence and Flagellar Expression in Uropathogenic <i>Escherichia coli</i> . | Infect Immun. | 89(6) | e00721-20 | 2021 |

| | | | | | |
|---|---|------------------------|--------|---------|-------|
| Hirakawa H, Szuue K, Takita A, Tomita H. | Roles of OmpA in Type III Secretion System-Mediated Virulence of Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> | Pathogens. | 10(11) | 1496 | 2021 |
| Hirakawa H, Bordi C, Tomita H. | Gram-Negative Pathogenesis. | Front Microbiol. | 12 | 813062 | 2021 |
| 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 <i>Staphylococcus aureus</i> ST398 in pigs at abattoirs. | J Vet Med Sci. | 83(1) | 112-115 | 2021 |
| Matsui K, Nakazawa C, Thiri Maung Maung Khin S, Iwabuchi E, Asai T, Ishihara K. | Molecular characteristics and antimicrobial resistance of <i>Salmonella enterica</i> serovar Schwarzengrund from chicken meat in Japan. | Antibiotics. | 10(11) | 1336 | 2021 |
| Odoi JO, Takayagi S, Yossapol M, Sugiyama M, Asai T. | Third-generation cephalosporin resistance in intrinsic colistin-resistant <i>Enterobacterales</i> isolated from retail meat. | Antibiotics. | 10(12) | 1437 | 2021 |
| Hashimoto Y, Hisatsune J, Suzuki M, Kurushima J, Nomura T, Hirakawa H, Kojima N, Ono Y, Hasegawa Y, Tanimoto K, Sugai M, Tomita H. | Elucidation of host diversity of the VanD ₂ -carrying genomic islands in enterococci and anaerobes. | JAC Antimicrob Resist. | 4(1) | dlab189 | 2022 |
| Hirakawa H, Szuue K, Tomita H. | Roles of the Tol/Pal System in Bacterial Pathogenesis and Its Application to Antibacterial Therapy. | Vaccines (Basel). | 10(3) | 422 | 2022 |
| Ozawa M, Furuya Y, Akama R, Harada S, Matsuda M, Abo H, Shirakawa T, Kawanishi M, Yoshida E, Furuno M, Fukuhara H, Kasuya K, Shimazaki Y. | Molecular epidemiology of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> isolated from pigs in Japan | | | | (投稿中) |

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3年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

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

4. 倫理審査の状況

| | 該当性の有無 | | 左記で該当がある場合のみ記入 (※1) | | |
|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|----------|--------------------------|
| | 有 | 無 | 審査済み | 審査した機関 | 未審査 (※2) |
| 人を対象とする生命科学・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"/> | 国立感染症研究所 | <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"/> |
| 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」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

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

6. 利益相反の管理

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

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

厚生労働大臣 殿

機関名 愛媛県立衛生環境研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 四宮 博人

次の職員の令和3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 ワンヘルスに基づく食品由来薬剤耐性菌のサーベイランス体制強化のための研究
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) |
| 人を対象とする生命科学・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"/> |
| 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"/> |
| 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」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系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

次の職員の令和3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 ワンヘルスに基づく食品由来薬剤耐性菌のサーベイランス体制の強化のための研究 (21KA1004)

3. 研究者名 (所属部署・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) |
| 人を対象とする生命科学・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"/> |
| 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"/> |
| 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」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系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4年3月31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



次の職員の令和3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 ワンヘルスに基づく食品由来薬剤耐性菌のサーベイランス体制強化のための研究
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) |
| 人を対象とする生命科学・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"/> |
| 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"/> |
| 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」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系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 石崎 泰樹

次の職員の令和3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 ワンヘルスに基づく食品由来薬剤耐性菌のサーベイランス体制強化のための研究
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) |
| 人を対象とする生命科学・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"/> |
| 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"/> |
| 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」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系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4年4月1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 清一

次の職員の令和3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 ワンヘルスに基づく食品由来薬剤耐性菌のサーベイランス体制強化のための研究
3. 研究者名 (所属部局・職名) 大学院連合獣医学研究科・教授
(氏名・フリガナ) 浅井 鉄夫・アサイ テツオ

4. 倫理審査の状況

| | 該当性の有無 | | 左記で該当がある場合のみ記入 (※1) | | |
|-------------------------------------|--------------------------|-------------------------------------|--------------------------|--------|--------------------------|
| | 有 | 無 | 審査済み | 審査した機関 | 未審査 (※2) |
| 人を対象とする生命科学・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"/> |
| 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"/> |
| 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」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系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 東 邦 大 学

所属研究機関長 職 名 学 長

氏 名 高 松 研

次の職員の令和3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 ワンヘルスに基づく食品由来薬剤耐性菌のサーベイランス体制の強化ための研究
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) |
| 人を対象とする生命科学・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"/> |
| 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"/> |
| 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」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系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 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 嶋崎 智章

次の職員の令和3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 ワンヘルスに基づく食品由来薬剤耐性菌のサーベイランス体制強化のための研究
3. 研究者名 (所属部局・職名) 検査第一部・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) |
| 人を対象とする生命科学・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"/> |
| 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"/> |
| 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」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系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:) |
| 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:) |
| 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。