

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4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（家畜舎）、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 and Use 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 所長
朝倉 宏 国立医薬品食品衛生研究所 食品衛生管理部 部長
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 主任研究員
富田 治芳 群馬大学大学院医学系研究科 教授
浅井 鉄夫 岐阜大学大学院連合獣医学研究科 教授
石井 良和 東邦大学医学部 教授
川西 路子 農林水産省動物医薬品検査所 上席主任研究官

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
矢野 大和 国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター 主任研究官
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

Hazim Khalifa	国立感染症研究所	薬剤耐性研究センター	主任研究官
Liansheng Yu	国立感染症研究所	薬剤耐性研究センター	研究員
林 航	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
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
沓野 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
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 JARM 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イ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スポリン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検査を実施した（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した。また動物医薬品検査所からは所で解析したゲノムデータをいただいた。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た（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）。

（倫理面への配慮）

本研究課題を遂行するにあたり、「人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針」を遵守し実施した。

C. 研究結果

四宮グループ

今期（2022年）分離株において、サルモネラに関しては、ヒト由来239株中の73株（30.5%）、及び食品由来132株中の120株（90.9%）が、17剤中の1剤以上に耐性を示した。これらは、2015年~2021年に分離されたヒト由来計2,093株の820株（39.2%）、及び食品由来計855株中の772株の耐性率（90.3%）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。2022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~2021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、2015-2021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、2022年分離のヒト由来389株中の136株（35.0%）、及び食品由来35株中の17株（48.6%）が1剤以上に耐性を示し、2015-2021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、2022年分離の *C. jejuni*（194株）と *C. coli*（24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、2015-2021年分離のサルモネラと大腸菌を対象に、基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ（ESBL）産生遺伝子、AmpC型 β -ラクタマーゼ（AmpC）遺伝子の検出

を行った。さらに、2017-2021年分離のサルモネラ株（1935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、18地研の966株（ヒト由来520株、食品由来446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177株について耐性菌バンクへの提供が同意された。

朝倉グループ

国内で製造加工された鶏モモ肉製品212検体を対象に、ESBL産生大腸菌、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性状を解析した。定性試験を通じ、ESBL産生大腸菌は155検体（73.1%）より検出されたが、あわせて行った定量試験成績より、191検体（90.1%）は100 CFU/g未達の汚染菌数であること、100 CFU/g以上の汚染菌数を認めた21検体中11検体は同一事業者由来であったこと等が確認され、特定施設での衛生管理の確認と必要に応じた衛生指導が今後検討すべき課題と想定された。また、ESBL産生大腸菌株の約22%はβ-ラクタム系を除く5剤以上に耐性を示したほか、βラクタマーゼ産生遺伝子型は事業者間で差異を認めた。サルモネラ属菌は94検体（44.3%）より検出され、うち14株（14.9%）は5剤以上の多剤耐性を示した。薬剤別の耐性率はTC耐性が92株（97.9%）と最も高く、KM耐性が81株（86.2%）、ST/TMP耐性が47株（50.0%）と続いた。カンピロバクターは最終的に98株（*C. jejuni* 74株、*C. coli* 24株）が分離された。*C. jejuni/coli*をあわせた98株全体での薬剤別の耐性株数及び耐性率は、CPFAXが61株（62.2%）と最も高く、次いでTCが30株（30.6%）、AMPが26株（26.5%）、EMが12株（12.2%）であった。菌種別では、*C. jejuni*はCPFAX耐性が39株（52.7%）と最も多く、次いでAMP耐性が21株（28.4%）、TC耐性が13株（74%）であったのに対し、*C. coli*ではCPFAX耐性が22株（91.7%）と最も多く、次いでTC耐性が17株（70.8%）、EM耐性が12株（50.0%）、AMP耐性株が5株（20.8%）であった

小西グループ

薬剤耐性菌出現状況についてカンピロバクター（2021年フルオロキノロン*C. jejuni*, 31.0%;*C. coli*, 100%）、健康者糞便由来大腸菌（2022年ABPC, 31.1%; NA, 25.8%; TC, 22.7%; CPFAX, 9.1%; CTX, 3.8%）、市販鶏肉由来大腸菌（2022年国産鶏肉NA, 22.8%; CPFAX, 11.71%; CTX, 1.5%、外国産鶏肉NA, 36.0%; CPFAX, 10.2%; CTX, 12.2%）の結果を得た。

富田グループ

2022年2~3月に収集した国内産鶏肉126検体および輸入鶏肉74検体（ブラジル、米国、タイ）の合計200検体について各種耐性菌の分離を実施した。ESBL産生菌・AmpC産生菌：鶏肉全体（国産・輸入）でESBL/AmpC産生菌38.0%、国産で47.6%、輸入で21.6%であった。ESBL産生菌に限ると鶏肉全体で23.5%、国産で25.4%、輸入で20.2%であった。AmpC産生菌は鶏肉全体で16.0%、国産で24.6%、輸入で1.4%であった（昨年同様国内産の方が高かった）。ESBL産生菌は輸入肉ではブラジル産からのみ検出された（25.4%、15/59）。ESBL産生菌は国内産ではCTX-M型（86%）、FONA型（9%）でCTX-M型はM1（2.3%）、M2（60.4%）、M9（25.6%）であった。輸入（ブラジル産）ではCTX-M型（62.5%）、FONA型（31.3%）でCTX-M型はM1（M-55）（25.0%）、M2（25.0%）、M8（12.5%）であった。今回の解析で国内産鶏肉4検体からAmpC産生*Salmonella*属菌が5株検出され、全てCMY-2型であった。国内産鶏肉3検体及び輸入鶏肉5検体から*Serratia fonticola*が検出された。また国内産鶏肉検体から*Rahnella* spp. が1株検出された。CRE:CREは検出されなかった。コリスチン耐性菌：*mcr*遺伝子を保有する大腸菌・腸内細菌科細菌は検出されなかった。VRE:食肉検体からはVanA VanBなどの高度耐性株は検出されなかったが、低度耐性VRE株（VCM MIC:4-6 mmg/L）が国産鶏肉6検体（4.8%、6/126）12株検出され、うち10株がVanN型VRE（*Enterococcus faecium*）であった。リネゾリド耐性腸球菌：国内産鶏肉9検体、輸入鶏肉9検体からLZD低度耐性株（MIC:4-8 mg/L）17、18株が分離された。国内産鶏肉由来の多くは*optrA+*, *fexA+* *E. faecalis*であったが、輸入鶏肉由来は1株のみ*optrA+*, *fexA+* *E. faecalis*であった。バシトラシン耐性腸球菌：*bcr*遺伝子陽性高度バシトラシン耐性腸球菌が国内産鶏肉（59%）、輸入鶏肉（38%）から検出された。

浅井グループ

2022年1~8月に購入した鶏肉91検体を用いてCTX耐性大腸菌を検索した。CTX耐性大腸菌は国産36検体中21検体（58.3%）、銘柄36検体中19検体（52.7%）、輸入19検体中7検体（36.8%）から分離され、CTX耐性大腸菌数は大部分の検体で20MPN/g以下であったが、一部の鶏肉で多かった。CTX耐性株のβ-ラクタマーゼ型は、国産と銘柄ともにCTX-M-2Gが最も多く、外国産ではCIT型が最も多かった。

近畿地方のと畜場で収集した22農場の豚耳110検体中、18農場（81.8%）48検体（43.6%）からMRSAが分離された。一方、市販豚肉176検体中3検体（1.6%）からMRSAが分離され、内訳は国産肉108検体中2検体（1.9%）、外国産肉68検体中1検体（1.5%）であった。分離されたMRSAは

全て CC398 であった。2021 年度と 2022 年度に市販豚肉由来 MRSA の POT 型は 64-0-0 と 64-144-65 が複数検体で認められたが、他に 5 タイプ認められた。

国内の肉養鶏 46 群中 37 群 (80.0%) の盲腸内容物から分離したサルモネラの血清型は、Schwarzengrund (36/37) が優勢で、他 Manhattan (3 群) であった。一方、外国産鶏肉 50 検体中 14 検体 (28.0%) からサルモネラが分離され、タイ産が最も高く (60.0%: 9/15)、次いでブラジル産 (16.1%: 5/31) であった。タイ産肉由来サルモネラの血清型は Agona (3 検体)、ブラジル産鶏肉では Minnesota (3 検体) が多く認められた。

石井グループ

食用豚から分離されるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) がヒトに与える影響を解析することを目的とした。21 農場に由来する豚の豚耳から 80 株、113 の医療施設を受診した重複のない患者の皮膚検体から 259 株の MRSA を分離・収集した。臨床材料由来および豚耳由来の菌株における薬剤耐性率はそれぞれレボフロキサシンでは 76%および 5%、クリンダマイシンでは 12%および 95%、テトラサイクリンではそれぞれ 11%および 88%と大きな差異があった。また、ドラフト全ゲノム解析が完了した一部の菌株における multilocus sequence typing (MLST)により明らかになった優勢に分離された clonal complex (CC) は、臨床材料由来では CC8 (25 株)、CC1 (13 株)、および CC22 (5 株)だったのに対し、豚耳由来では CC398 (62 株)、CC5 (7 株)、CC188 (4 株)だった。上述のように、同時期に分離された臨床由来および豚耳由来 MRSA を比較解析したところ、関連のある菌株は検出されなかった。

川西グループ

2019~2020年度に国内のと畜場及び食鳥処理場から分離されたサルモネラ (鶏由来) 185株を全ゲノム解析した結果、血清型は、Schwarzengrund (76.8%) 及び Infantis (21.1%) が、ST型は ST241 (74.1%) 及び ST32 (20.5%) が優勢を占め、耐性遺伝子は *aac(6')-Iaa* (100%)、*aadA1* (71.4%)、*aph(3')-Ia* (73.5%)、*tet(A)* (72.4%)、*su11* (71.4%)、*dfra14* (61.1%) を6割以上の株が保有していた。カルバペネム耐性遺伝子は確認されなかった。*C. jejuni*311株 (牛由来: 227株、鶏由来84株) については、ST型は牛由来では、ST806 (25.6%) 及び ST21 (17.6%) が、鶏由来では ST918 (8.3%) 及び ST4389 (7.2%) が多い型であったが、その他多種のSTが確認された。牛由来、鶏由来ともに耐性遺伝子 *bla_{OXA}*-

₁₉₃ (牛: 71.0%、鶏: 50.0%) 及び *tet(0)* (牛: 69.6%、鶏31.0%) を多くの菌が保有していた。

また、2020年度にと畜場及び食鳥処理場で分離されたコリスチンのMICが2 µg/mL以上の大腸菌7株の遺伝子解析の結果、*mcr-1*は豚由来から5株 (4.3%: 割合は、各動物種由来株全株に対するもの)、鶏由来から1株 (0.6%)、*mcr-3*が豚由来から1株 (0.8%)、*mcr-5*は牛由来から1株 (0.3%) 検出された。一方、サルモネラ属菌107株からは*mcr*遺伝子は検出されなかった。2010~2015年度に分離された*mcr-5*遺伝子保有大腸菌26株のプラスミド解析の結果、IncFII (*mcr-5*のみ保有) が牛由来株9株及び豚由来株1株から、IncFII (*mcr-5*及び *bla_{TEM-1B}*) 保有) が牛由来株2株及び豚由来株1株から、IncFIB (*mcr-5*、*tet(A)*、*qnrS1*等保有) が鶏由来株5株から検出された。

さらに、令和4年にと畜場の豚から分離された MRSA40株の全ゲノム解析の結果、ST型は、ST398 (82.5%) 及び ST5 (15.0%)、*spa*型は、t034 (65.0%)、SCC*mec*型は Vc型 (62.5%) が優勢を占めた。また、全体の67.5%の株が、亜鉛耐性遺伝子 *czrC* を保有していた。全株が、耐性遺伝子 *mecA*、*bla_Z* を保有し、その他、*ant(9)-Ia* (70.0%)、*tet(M)* (80.0%) 及び *tet(K)* (82.5%) を多くの株が保有していた。

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 *bla_{CTX-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、今後も集計・解析の仕組みを本研究班で継続し、ネットワークを整備することが望ましい。

「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～2022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。また鶏肉由来 ESBL 産生菌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 $2 \mu\text{g/mL}$ 以上の株についてコリスチン耐性遺伝子 (*mcr-1*～*mcr-10*) の保有状況を確認したところ、大腸菌から *mcr-1*, *mcr-3* 及び *mcr-5* 遺伝子は検出されたが低率 (各年、動物種毎に、いずれも 5%以下) であった。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 5 検体 (4%) 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 7 検体 (6%) 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、ドラフトゲノム解析から CC398 株が多数検出された。豚耳検体の採取法についてクロスコンタミネーションの可能性が捨てきれないため、今後、検出率を求める際には異なるアプローチが必要になると思われる。市販豚肉の検討では今年度の研究で得た MRSA12 株は全て ST398 であった。今後、全ゲノムシーケンス解析の結果に基づき、病原性を含めた性状を明らかにしてゆく必要がある。

E. 結論

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 Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS)、薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次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sporin 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。多くのデータを得るとともに、ゲノムデータの作出が進んだ。次年度には収集した各種菌株のゲノム情報に基づき、ゲノムレベルでの各セクター間での耐性遺伝子の移動を解析するための新しい

プラットフォーム作りが期待される。

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 2件

- 1) 菅井基行、蟹江亜希子 食品の薬剤耐性動向調査への取り組み、畜産コンサルタント. 2022;9:22-28.
- 2) 富山満里奈、市川 隆、村松智恵子、浅井鉄夫 東海地方の家畜からの *Escherichia albertii* の分離と性状解析 日獣会誌 2022;75:e107-e113.

(2) 海外合計 12件

- 1) L Yu, J Hisatsune, S Kutsuno, M Sugai. New molecular mechanism of super-biofilm elaboration in a *Staphylococcus aureus* clinical strain. Microbiol Spectr. 2023 Jan 31;11(2):e0442522.
- 2) Kutsuno S, Hayashi I, Yu L, Yamada S, Hisatsune J, Sugai M. Non-deacetylated poly-*N*-acetylglucosamine-hyperproducing *Staphylococcus aureus* undergoes immediate autoaggregation upon vortexing. Front Microbiol. 2023 Jan 9;13:1101545.
- 3) Konishi N, Obata H, Yokoyama K, Sadamasu K, Kai A :Comparison of the serovers and the characteristics of *Salmonella* isolated from human feces and foods in the 1990s and the 2010s in Tokyo: Jpn J Infect Dis.,76,14-16,2023
- 4) Hirakawa H, Suzue K, Uchida M, Takita A, Kamitani W, Tomita H. A Macroporous Magnesium Oxide-Templated Carbon Adsorbs Shiga Toxins and Type III Secretory Proteins in Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, Which Attenuates Virulence. Front Microbiol. 13:883689.(2022)
- 5) Hirakawa H, Kimura A, Takita A, Chihara S, Tanimoto K, Tomita H. Adsorption of extracellular proteases and pyocyanin produced by *Pseudomonas aeruginosa* using a macroporous magnesium oxide-templated carbon decreases cytotoxicity. Curr Res Microb Sci. 3:100160. (2022)
- 6) Kurushima J, Tomita H. Advances of genetic engineering in streptococci and enterococci. Microbiol Immunol. 66(9):411-417. (2022)
- 7) Suzuki M, Hashimoto Y, Hirabayashi A,

Yahara K, Yoshida M, Fukano H, Hoshino Y, Shibayama K, Tomita H. Genomic Epidemiological Analysis of Antimicrobial-Resistant Bacteria with Nanopore Sequencing. Methods Mol Biol. 2632:227-246. (2023)

- 8) Hashimoto Y, Suzuki M, Kobayashi S, Hirahara Y, Kurushima J, Hirakawa H, Nomura T, Tanimoto K, Tomita H. Enterococcal Linear Plasmids Adapt to *Enterococcus faecium* and Spread within Multidrug-Resistant Clades. Antimicrob Agents Chemother. e0161922. (2023)
- 9) Sasaki Y, Asakura H, Asai T. Prevalence and fluoroquinolone resistance of *Campylobacter* spp. isolated from beef cattle in Japan. Animal Diseases 2: 15, 2022.
- 10) Sasaki Y, Aoki K, Ishii Y, Tamura Y, Asai T. First isolation of ST398 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying staphylococcal cassette chromosome mec type IVd from pig ears in Japan. J Vet Med Sci. 84(9):1211-1215, 2022.
- 11) Sasaki Y, Yonemitsu K, Uema M, Asakura H, Asai T. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* and *Salmonella* in layer flocks in Honshu, Japan. J Vet Med Sci. 84(11):1502-1507, 2022.
- 12) 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 *Staphylococcus aureus* isolated from pigs in Japan. Vet Microbiol. 2022 ;273:109523.

2. 学会発表など

(1) 学会発表

- 1) 四宮博人、浅野由紀子、氏家絢子、矢儀田優佳、小川恵子、高橋洋平、佐藤千鶴子、倉園貴至、小西典子、間 京子、政岡智佳、小泉充正、柳本恵太、木全恵子、横山孝治、一瀬佳美、柴田伸一郎、西嶋駿弥、岩崎直昭、井上ゆみ子、斎藤悦子、川上優太、河合央博、池田伸代、福田千恵美、中山志幸、上野可南子. 全国で分離されたヒト及び食品由来各種大腸菌株の薬剤耐性状況 第二報. 第24回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 川崎 2022.10.13-14.
- 2) 浅野由紀子、氏家絢子、矢儀田優佳、青木紀子、鈴木仁人、柴山恵吾、渡邊治雄、菅井基行、四宮博人. 我が国におけるヒトおよび食品由来

サルモネラ属菌の薬剤耐性モニタリング. 第34回日本臨床微生物学会総会・学術集会. 横浜 2023.2.3-75.

- 3) 和田紀乃, 小西典子, 前田雅子, 小野明日香, 村上昂, 小林甲斐, 神門幸大, 横山敬子, 貞升健志: 健康者糞便および鶏肉から分離した大腸菌の薬剤耐性菌出現状況と分離株の解析: 第118回日本食品衛生学会学術講演会, 2022年11月10日~11日, 長崎市.
- 4) 小西典子, 和田紀乃, 前田雅子, 小野明日香, 村上昂, 浅山睦子, 横山敬子, 貞升健志: 健康者糞便から分離された第三世代セファロスポリン耐性およびプラスミド性コリスチン耐性遺伝子保有大腸菌の解析: 第34回日本臨床微生物学会, 2023年2月3日~5日, 横浜市.
- 5) 杉浦 萌香, 佐々木 貴正, 杉山 美千代, 浅井鉄夫 豚肉由来家畜関連型MRSAの薬剤感受性と遺伝学的性状 2022年9月6~8日 WEB開催 第165回日本獣医学会学術集会
- 6) 川西路子, 小澤真名緒, 古谷ゆかり, 森谷このみ, 松田真理, 赤間亮子, 熊川実旺, 首藤江梨奈, 関口秀人, 嶋崎洋子「健康鶏由来サルモネラにおける薬剤感受性試験結果と全ゲノム解析による薬剤耐性遺伝子の有無の相関について」第165回日本獣医学会学術集会

(2) その他

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」にデータを提供した。

国外ではWHO Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS2.0)に対応したデータを提供した。

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。

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

小川恵子

(北海道立衛生研究所)

山上剛志、高橋洋平、長内志保美

(青森県環境保健センター)

佐藤千鶴子、矢崎知子、山谷聡子

(宮城県保健環境センター)

椎名麻衣

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)

植田菜月、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)

後藤千恵子、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)

岩崎理美、横山孝治、永田暁洋、

(福井県衛生環境研究センター)

東方美保、石森治樹、

柴田伸一郎、梅田俊太郎、市川 隆

(名古屋市衛生研究所)

西嶋駿弥、若林友騎、坂田淳子、

(大阪健康安全基盤研究所)

梅川奈央、河原隆二

岩崎直昭、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)

井上ゆみ子

(奈良県保健研究センター)

川上優太、林 宏樹、野村亮二

(島根県保健環境科学研究所)

河合央博、梶原知博、岡田達郎

(岡山県環境保健センター)

蔵田和正、末永朱美、池田伸代、

(広島市衛生研究所)

千神彩香、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

濱田建一郎、中村悦子、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（2022年）分離株において、サルモネラに関しては、ヒト由来 239 株中の 73 株(30.5%)、及び食品由来 132 株中の 120 株(90.9%)が、17 剤中の 1 剤以上に耐性を示した。これらは、2015 年～2021 年に分離されたヒト由来計 2,093 株の 820 株(39.2%)、及び食品由来計 855 株中の

772株の耐性率(90.3%)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。2022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～2021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、2015-2021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、2022年分離のヒト由来389株中の136株(35.0%)、及び食品由来35株中の17株(48.6%)が1剤以上に耐性を示し、2015-2021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、2022年分離の *C. jejuni* (194株)と *C. coli* (24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、2015-2021年分離のサルモネラと大腸菌を対象に、基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ(ESBL)産生遺伝子、AmpC型β-ラクタマーゼ(AmpC)遺伝子の検出を行った。さらに、2017-2021年分離のサルモネラ株(1935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、18地研の966株(ヒト由来520株、食品由来446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177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てきた。本研究においては、これまでの成果に立脚し、さらに食品由来耐性菌に関する情報収集体制を強固にすることを目指すとともに、研究代表者と共同し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。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」に提供されている。

B. 研究方法

1. 調査対象菌株

薬剤感受性検査としては、2022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、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も合わせ、2017-2021年に分離されたサルモネラ株（1935株）を対象とした。

2. 薬剤感受性検査

協力 22 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 EAggEC、他の下痢原性大腸菌）とその他の大腸菌（病原因子陰性株及び病原因子未検査株）に分類した。カンピロバクターについては検体情報と菌株情報（*C. jejuni*, *C. coli*）を記載した。以上の菌株について、感受性ディスク阻止円径と SIR 判定結果を感受性検査結果表に記載し、研究分担者である愛媛県立衛生環境研究所に送付し、集計・解析を行った。なお、コリスチンについては、CLSI ディスク拡散法の SIR 判定表がないため、阻止円径のみを記載した。

4. サルモネラの血清型別薬剤耐性解析

2022 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 2015-2021 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・前回研究班（2017-2020 年）及び本研究班（2021 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。また、一部の地衛研については自施設で菌株 DNA を分離し、感染研に送付した。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（2021 年度報告書に添付）。

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

2022 年に収集されたサルモネラは、ヒト由来 239 株、食品由来 132 株、総計 371 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 30.5%、食品由来株 90.9%で、これまでの結果と同様であった。2022 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

2015-2022 年に収集されたヒト由来 2,316 株及び食品由来 987 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。ヒト由来株の TC, SM に対する耐性率は低下傾向にある。食品由来株のフェム系薬 CTX, CAZ, CFX 耐性は従来数%認められていたが、2021 年、2022 年分離の食品由来株では低い傾向が見られる。一方、アミノグリコシド系薬 GM, AMK、キノロン系薬 CFX, NFLX、ホスホマイシン系薬 FOM、カルバペネム系薬 IPM, MEPM に対する耐性率

は低いか、0%であった。

2022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3株、食品由来0株）を図2に示す。また、ESBL産生菌及びAmpC産生菌との関連が示唆される、CTX, CAZ, CFXの1剤以上に耐性である菌株（ヒト由来3株、食品由来0株）を図3に示す。2021年には、食品由来株の5株が6剤以上に耐性、4株がCTX, CAZ, CFXの1剤以上に耐性であったので、2022年での減少について今後の動向が注視する必要がある。

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

2015-2022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（987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、2022年及び2015-2022年に収集された *S. Infantis*, *S. Schwarzengrund*, *S. Manhattan* の計132株、828株の耐性率を図4に示す。これらの菌株には共通する点が多いが、それぞれの血清型に特徴的な点も認められた。すなわち、*S. Infantis* ではNA耐性が低く、*S. Schwarzengrund* ではABPC耐性やセフェム系薬耐性が低く、*S. Manhattan* ではKM耐性が認められなかった。

一方、2015-2022年に収集されたヒト由来2,316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です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。

次に、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6：2015-2022年分離株）、それぞれの血清型において、各種抗菌薬に対する全体的な耐性傾向に高い類似性が認められることから、ヒト由来株（*S. Infantis* の約4割、*S. Schwarzengrund* と *S. Manhattan* の大部分）と食品由来株との間の関連が強く示唆された。

4. ヒト及び食品から分離された大腸菌の薬剤耐性状況

2022年分離のヒト由来大腸菌389株のうち、17剤中の1剤以上に耐性を示した株は136株で、耐性率は35.0%であった（表14）。大腸菌株の分類別耐性率は、EHEC 34.1%、EHEC以外の下痢原性大腸菌 72.0%、その他 19.2%であり、EHEC以外の下痢原性大腸菌株の耐性率が他の大腸菌よりも高い傾向であった。一方、食品（牛肉、鶏肉など）由来株35株のうち、17株が1剤以上に耐性で（耐性率48.6%）、例年と同程度の耐性率であった。

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、2022年分離の *C. jejuni* (194株)と *C. coli* (24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, CPFX, NAに対する耐性率が *C. jejuni* よりも高い傾向を示した。

7. サルモネラ及び大腸菌におけるESBL産

生遺伝子及び AmpC 遺伝子保有状況

2015-2021 年分離サルモネラ株のうち、セフェム系薬 CTX, CAZ, CFX 耐性の 1 剤以上に耐性を示すヒト由来 44 株及び食品由来 49 株中の ESBL 産生遺伝子及び AmpC 遺伝子を検出すると、ESBL 産生遺伝子では、CTX-M-1 グループと TEM 型はヒト由来株と食品由来株の両方から検出されたが、CTX-M-9 グループはヒト由来株のみに検出された。また、AmpC 遺伝子では、CIT が両方から検出された (表 16)。

一方、大腸菌では、サルモネラと異なり、AmpC 遺伝子の保有がほとんど認められず、ESBL 産生遺伝子が主として検出された。さらに、大腸菌の種類別に保有する ESBL 産生遺伝子が異なり、その他の大腸菌では CTX-M-9 グループ、CTX-M-2 グループ、TEM 型が多く検出され、EHEC では CTX-M-1 グループ、TEM 型は検出されたが、CTX-M-9 グループ、CTX-M-2 グループはほとんど検出されなかった (表 17)。

8. 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 (2017-2020 年) 及び本研究班 (2021 年) で感受性試験を実施したサルモネラ 1935 株のうち、ヒト由来サルモネラ 520 株及び食品由来サルモネラ 446 株の計 966 株についてゲノム解析の同意が得られ、2022 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 177 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 22 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、2022 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 (239 株) は 30.5%、食品由来株 (132 株) は 90.9% が、1 剤以上の抗菌剤に耐性を示した。2015-2022 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 93% 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、2022 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 3 株認めら

れたが、食品由来株中には認められなかった。食品由来株の今後の傾向を注視する必要がある。

2022 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を期待される。

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、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, CPMX, NA に対する耐性率が *C. jejuni* よりも高い傾向が認められた。

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

さらに、2017-2021 年分離のサルモネラ株 (1935 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、18 地研の 966 株 (ヒト由来 520 株、食品由来 446 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 177 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 22 地研の協力を得て、2022 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、2015-2021 年分離株とあわせ耐性データを解析した。食品由来菌の薬剤耐性調査に関して、統一された方法による組織だった全国規模の調査は、本研究班で実施されている。地研における薬剤耐性データを JANIS や JVARM など既存の薬剤耐性データベースと統合し、環境—動物—食品—ヒトを包括するワンヘルス・アプローチに基づく感染制御に繋がることが期待される。

F. 健康危険情報

(総括研究報告書にまとめて記載)

G. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

1) 四宮博人、浅野由紀子、氏家絢子、矢儀田優佳、小川恵子、高橋洋平、佐藤千鶴子、倉園貴至、小西典子、間 京子、政岡智佳、小泉充正、柳本恵太、木全恵子、横山孝治、一瀬佳美、柴田伸一郎、西嶋駿弥、岩崎直昭、井上ゆみ子、斎藤悦子、川上優太、河合央博、池田伸代、福田千恵美、中山志幸、上野可南子. 全国で分離されたヒト及び食品由来各種大腸菌株の薬剤耐性状況 第二報. 第 24 回腸管出血性大腸菌感染症研究会. 川崎 2022.10.13-14.

2) 浅野由紀子、氏家絢子、矢儀田優佳、青木紀子、鈴木仁人、柴山恵吾、渡邊治雄、菅井基行、四宮博人. 我が国におけるヒトおよび食品由来サルモネラ属菌の薬剤耐性モニタリング. 第 34 回日本臨床微生物学会総会・学術集会. 横浜 2023.2.3-75.

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1. ヒト及び食品由来サルモネラ株の薬剤耐性状況

(2022 分離株* n = 371)

(2023/3/1 時点)

由来	菌株数	耐性菌株数 #	耐性率	
ヒト由来	239	73	30.5%	
食品由来	国産鶏肉	76	66	86.8%
	外国産鶏肉	0	0	0.0%
	その他・不明	56	54	96.4%
	合計	132	120	90.9%

*2022 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

(2022 年分離株 n = 239)

(2023/3/1 時点)

検体名	菌株数	耐性菌株数	耐性率
糞便	173	53	30.6%
血液	9	2	22.2%
尿	2	1	50.0%
菌株	52	16	30.8%
膿	0	0	—
喀痰	1	0	0.0%
胆汁	0	0	—
その他	2	1	50.0%
不明	0	0	—
合計	239	73	30.5%

図 1. ヒト及び食品由来サルモネラ株の血清型 (2022 年分離株)

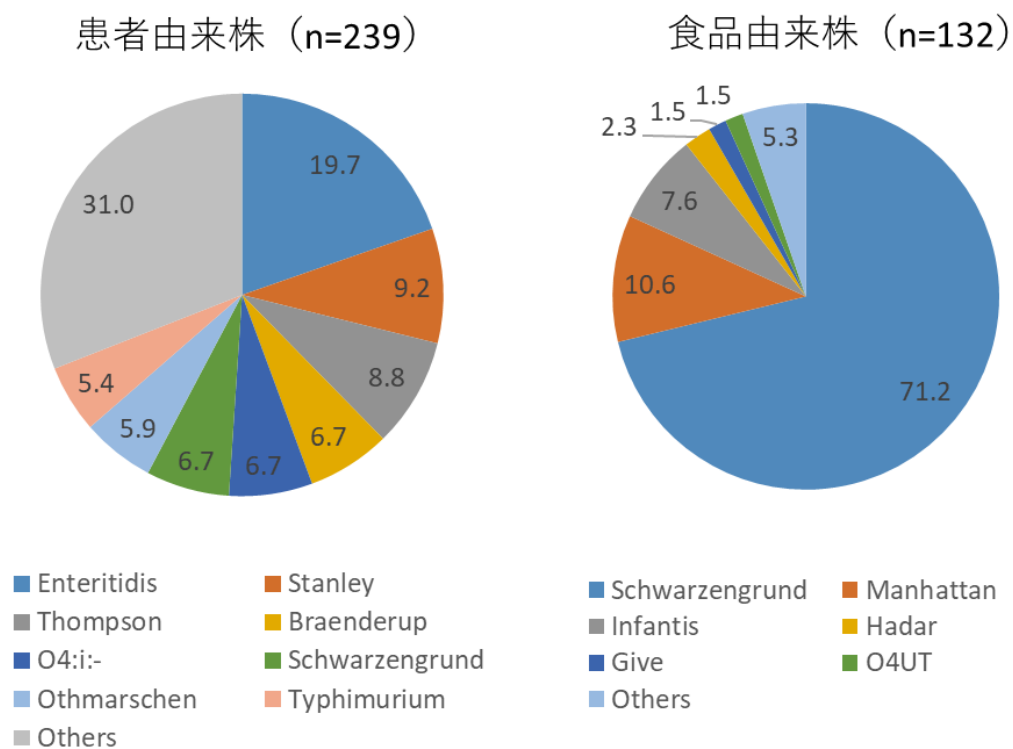


表 3. ヒト由来 non-typhoidal *Salmonella* spp.の耐性率 (2015-2022 年)

	2015 (n=387)	2016 (n=360)	2017 (n=393)	2018 (n=315)	2019 (n=265)	2020 (n=211)	2021 (n=146)	2022 (n=239)	合計 (n=2316)
ABPC	17.3	18.1	16.0	19.4	14.7	14.7	12.3	14.2	16.3
GM	0.3	0.6	0.8	0.6	1.5	0.5	0.7	0.4	0.6
KM	5.9	11.7	7.4	8.3	6.4	6.2	7.5	4.6	7.4
SM	27.4	30.0	26.2	29.2	23.8	25.6	21.9	19.2	26.1
TC	32.6	29.2	27.5	25.4	22.6	26.1	21.9	18.4	26.3
ST	4.4	6.7	8.1	6.3	3.4	9.0	4.8	2.9	5.8
CP	2.3	6.4	5.3	6.0	5.3	5.2	5.5	4.2	5.0
CTX	0.3	2.5	3.3	3.2	1.5	0.9	2.1	1.3	1.9
CAZ	0.3	2.2	1.8	1.9	0.8	0.9	1.4	0.8	1.3
CFX	0.0	1.4	0.5	0.6	0.0	0.9	1.4	0.8	0.6
FOM	0.0	0.3	0.3	0.3	0.4	0.5	0.0	0.0	0.2
NA	7.0	8.1	8.9	5.7	4.2	5.2	5.5	13.4	7.4
CPFX	0.3	0.8	1.8	0.3	0.4	0.0	1.4	0.8	0.7
NFLX	0.3	0.8	0.5	0.0	0.8	0.0	0.0	0.8	0.4
AMK	0.0	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	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0
1剤以上耐性数	164	161	147	125	89	83	46	73	888
1剤以上耐性率	42.4	44.7	37.4	39.7	33.6	39.3	31.5	30.5	38.3

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 (2015-2022 年)

	2015 (n=156)	2016 (n=110)	2017 (n=86)	2018 (n=108)	2019 (n=126)	2020 (n=129)	2021 (n=140)	2022 (n=132)	合計 (n=987)
ABPC	17.9	13.6	11.6	12.0	11.1	12.4	5.0	2.3	10.7
GM	0.0	0.9	1.2	0.0	0.0	0.0	0.7	0.0	0.3
KM	48.1	47.3	45.3	50.0	57.1	65.9	62.9	59.1	55.0
SM	82.7	70.9	69.8	77.8	64.3	70.5	71.4	81.1	74.0
TC	85.9	76.4	73.3	78.7	70.6	82.9	80.7	81.8	79.3
ST	19.9	16.4	12.8	38.0	25.4	24.8	14.3	22.0	21.7
CP	7.1	10.0	2.3	8.3	4.0	7.0	4.3	4.5	6.0
CTX	5.1	5.5	8.1	6.5	6.3	4.7	1.4	0.0	4.5
CAZ	4.5	6.4	8.1	6.5	4.8	3.9	0.0	0.0	4.0
CFX	2.6	3.6	8.1	4.6	5.6	5.4	1.4	0.0	3.6
FOM	0.0	0.9	1.2	0.0	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	22.0	20.3
CPFX	0.0	0.9	1.2	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	0.0
AMK	0.0	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	0.8	0.1
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1剤以上耐性数	143	96	77	98	113	124	121	120	892
1剤以上耐性率	91.7	87.3	89.5	90.7	89.7	96.1	86.4	90.9	90.4

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 (2022 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
2022	8	R	S	S	R	R	S	R	R	R	R	S	R	I	S	S	S	S
2022	6	S	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
2022	9	R	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S

食品由来株

2022 年は該当なし

図 3. セフェム系薬剤に耐性を示したサルモネラ株 (2022 年分離株)

ヒト由来株

分離年	耐性薬剤数	CTX	CAZ	CFX
2022	8	R	R	R
2022	5	R	R	R
2022	5	R	S	S

食品由来株

2022 年は該当なし

表 5. 食品由来 *S. Infantis* の耐性率 (2015-2022 年)

	2015 (n=65)	2016 (n=33)	2017 (n=19)	2018 (n=27)	2019 (n=24)	2020 (n=8)	2021 (n=20)	2022 (n=10)	合計 (n=206)
ABPC	10.8	12.1	5.3	14.8	8.3	37.5	10.0	0.0	11.2
GM	0.0	3.0	0.0	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	60.0	40.3
SM	81.5	72.7	68.4	85.2	58.3	50.0	60.0	100.0	74.3
TC	89.2	81.8	68.4	85.2	58.3	37.5	70.0	100.0	78.6
ST	18.5	30.3	0.0	44.4	12.5	0.0	30.0	30.0	22.3
CP	3.1	3.0	0.0	0.0	0.0	12.5	5.0	0.0	2.4
CTX	4.6	6.1	5.3	11.1	8.3	12.5	0.0	0.0	5.8
CAZ	3.1	9.1	5.3	11.1	0.0	12.5	0.0	0.0	4.9
CFX	4.6	9.1	5.3	14.8	8.3	25.0	5.0	0.0	7.8
FOM	0.0	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	0.0	6.3
CPFX	0.0	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	0.0
AMK	0.0	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	0.0
MEPM	0.0	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	10	181
1剤以上耐性率	93.8	87.9	78.9	88.9	79.2	87.5	80.0	100.0	87.9

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 (2015-2022 年)

	2015 (n=47)	2016 (n=38)	2017 (n=45)	2018 (n=51)	2019 (n=66)	2020 (n=95)	2021 (n=107)	2022 (n=94)	合計 (n=543)
ABPC	17.0	5.3	0.0	7.8	3.0	5.3	1.9	0.0	4.2
GM	0.0	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	71.3	78.1
SM	93.6	78.9	82.2	76.5	74.2	80.0	73.8	80.9	79.2
TC	95.7	84.2	80.0	86.3	81.8	93.7	83.2	85.1	86.4
ST	36.2	18.4	24.4	56.9	43.9	30.5	12.1	21.3	28.5
CP	19.1	13.2	4.4	9.8	6.1	5.3	4.7	6.4	7.6
CTX	0.0	0.0	2.2	0.0	0.0	1.1	0.9	0.0	0.6
CAZ	0.0	0.0	2.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.2
CFX	0.0	0.0	2.2	0.0	0.0	1.1	0.0	0.0	0.4
FOM	0.0	2.6	2.2	0.0	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	22.3	20.8
CPFX	0.0	2.6	0.0	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	0.0
AMK	0.0	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	1.1	0.2
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
1剤以上耐性数	47	38	45	49	65	94	93	86	517
1剤以上耐性率	100.0	100.0	100.0	96.1	98.5	98.9	86.9	91.5	95.2

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

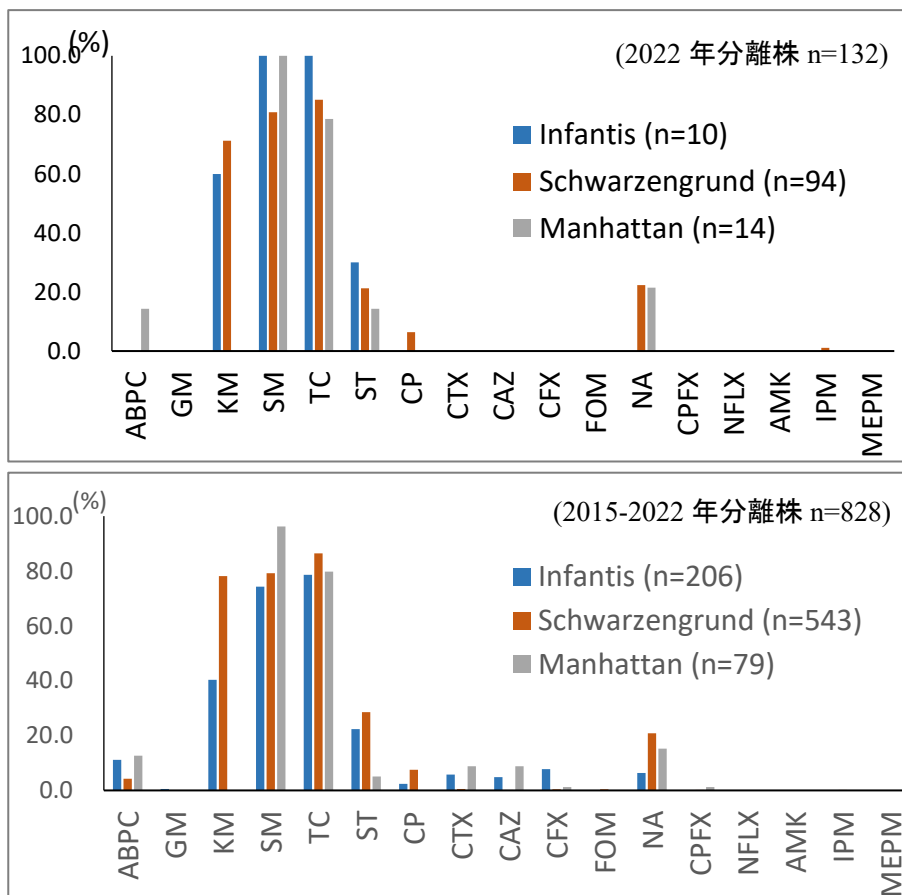


表 7. ヒト由来 *S. Infantis* の耐性率 (2015-2022 年)

	2015 (n=34)	2016 (n=48)	2017 (n=47)	2018 (n=22)	2019 (n=16)	2020 (n=19)	2021 (n=9)	2022 (n=5)	合計 (n=200)
ABPC	0.0	2.1	0.0	9.1	6.3	5.3	0.0	0.0	2.5
GM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
KM	20.6	14.6	6.4	22.7	12.5	5.3	11.1	0.0	13.0
SM	29.4	33.3	19.1	50.0	31.3	26.3	22.2	0.0	29.0
TC	47.1	33.3	21.3	54.5	37.5	47.4	22.2	20.0	36.0
ST	14.7	14.6	2.1	18.2	0.0	21.1	0.0	0.0	10.5
CP	0.0	0.0	0.0	9.1	6.3	5.3	0.0	0.0	2.0
CTX	0.0	0.0	0.0	4.5	6.3	5.3	0.0	0.0	1.5
CAZ	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.3	0.0	0.0	0.5
CFX	0.0	2.1	0.0	0.0	0.0	5.3	0.0	0.0	1.0
FOM	0.0	0.0	0.0	0.0	6.3	0.0	0.0	0.0	0.5
NA	8.8	4.2	8.5	0.0	12.5	5.3	11.1	0.0	6.5
CPF	0.0	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	0.0
AMK	0.0	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	0.0
MEPM	0.0	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	10	13	6	11	2	1	81
1剤以上耐性率	47.1	45.8	21.3	59.1	37.5	57.9	22.2	20.0	40.5

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 (2015-2022 年)

	2015 (n=39)	2016 (n=41)	2017 (n=47)	2018 (n=43)	2019 (n=37)	2020 (n=35)	2021 (n=20)	2022 (n=47)	合計 (n=309)
ABPC	5.1	19.5	4.3	7.0	5.4	0.0	0.0	23.4	9.1
GM	0.0	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	0.0	0.6
SM	12.8	12.2	10.6	14.0	5.4	2.9	0.0	23.4	11.3
TC	10.3	2.4	4.3	9.3	5.4	2.9	0.0	6.4	5.5
ST	5.1	0.0	0.0	0.0	0.0	5.7	0.0	0.0	1.3
CP	2.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3
CTX	0.0	2.4	0.0	0.0	0.0	0.0	5.0	0.0	0.6
CAZ	0.0	2.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.3
CFX	0.0	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	0.0	0.3
NA	10.3	26.8	12.8	25.6	10.8	14.3	15.0	44.7	21.0
CPFX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	5.0	0.0	0.3
NFLX	0.0	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	0.0
IPM	0.0	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	0.0
1剤以上耐性数	13	16	11	16	7	9	4	21	97
1剤以上耐性率	33.3	39.0	23.4	37.2	18.9	25.7	20.0	44.7	31.4

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 (2015-2022 年)

	2015 (n=28)	2016 (n=28)	2017 (n=29)	2018 (n=29)	2019 (n=27)	2020 (n=11)	2021 (n=14)	2022 (n=21)	合計 (n=187)
ABPC	0.0	10.7	0.0	0.0	7.4	0.0	0.0	0.0	2.7
GM	0.0	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	0.0	1.1
SM	7.1	7.1	3.4	6.9	0.0	0.0	7.1	0.0	4.3
TC	3.6	7.1	6.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.7
ST	0.0	7.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.1
CP	0.0	7.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.1
CTX	0.0	10.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.6
CAZ	0.0	7.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.1
CFX	0.0	7.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.1
FOM	0.0	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	0.0	0.5
CPFX	0.0	7.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.1
NFLX	0.0	7.1	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.1
AMK	0.0	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	0.0
MEPM	0.0	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	0	14
1剤以上耐性率	10.7	10.7	6.9	10.3	7.4	0.0	7.1	0.0	7.5

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 (2015-2022 年)

	2015 (n=60)	2016 (n=37)	2017 (n=36)	2018 (n=36)	2019 (n=23)	2020 (n=24)	2021 (n=17)	2022 (n=16)	合計 (n=249)
ABPC	71.7	64.9	77.8	86.1	82.6	79.2	76.5	75.0	75.9
GM	1.7	0.0	2.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.8
KM	3.3	5.4	2.8	8.3	4.3	4.2	11.8	0.0	4.8
SM	73.3	70.3	80.6	91.7	82.6	70.8	70.6	68.8	76.7
TC	85.0	62.2	77.8	80.6	65.2	50.0	76.5	75.0	73.5
ST	5.0	10.8	5.6	8.3	8.7	0.0	5.9	6.3	6.4
CP	3.3	10.8	8.3	13.9	8.7	4.2	11.8	6.3	8.0
CTX	0.0	2.7	2.8	2.8	0.0	0.0	0.0	0.0	1.2
CAZ	0.0	2.7	2.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.8
CFX	0.0	0.0	2.8	0.0	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	0.0	0.4
NA	1.7	2.7	5.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.6
CPFX	0.0	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	0.0
AMK	0.0	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	0.0
MEPM	0.0	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	14	223
1剤以上耐性率	96.7	78.4	88.9	91.7	95.7	87.5	82.4	87.5	89.6

各年 1 月~12 月に分離された菌株

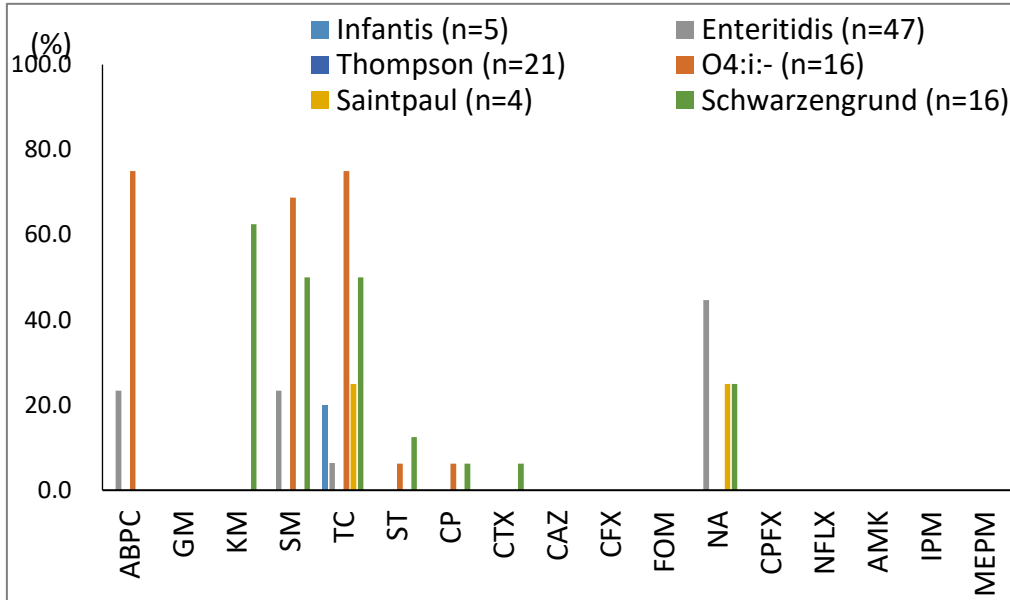
表 11. ヒト由来 *S. Saintpaul* の耐性率 (2015-2022 年)

	2015 (n=27)	2016 (n=26)	2017 (n=41)	2018 (n=10)	2019 (n=8)	2020 (n=12)	2021 (n=7)	2022 (n=4)	合計 (n=135)
ABPC	7.4	7.7	14.6	10.0	0.0	8.3	0.0	0.0	8.9
GM	0.0	0.0	2.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.7
KM	0.0	3.8	4.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	2.2
SM	3.7	3.8	12.2	0.0	0.0	8.3	0.0	0.0	5.9
TC	40.7	15.4	22.0	10.0	12.5	25.0	14.3	25.0	23.0
ST	0.0	11.5	17.1	10.0	12.5	8.3	0.0	0.0	9.6
CP	3.7	0.0	14.6	0.0	12.5	0.0	0.0	0.0	5.9
CTX	0.0	0.0	12.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.7
CAZ	0.0	0.0	2.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.7
CFX	0.0	3.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.7
FOM	0.0	0.0	2.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.7
NA	7.4	3.8	19.5	0.0	0.0	0.0	0.0	25.0	8.9
CPFX	3.7	0.0	9.8	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	3.7
NFLX	3.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.7
AMK	0.0	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	0.0
MEPM	0.0	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	2	47
1剤以上耐性率	48.1	30.8	34.1	20.0	37.5	33.3	14.3	50.0	34.8

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

(2022 年分離株 n=109)



(2015-2022 年分離株 n=1205)

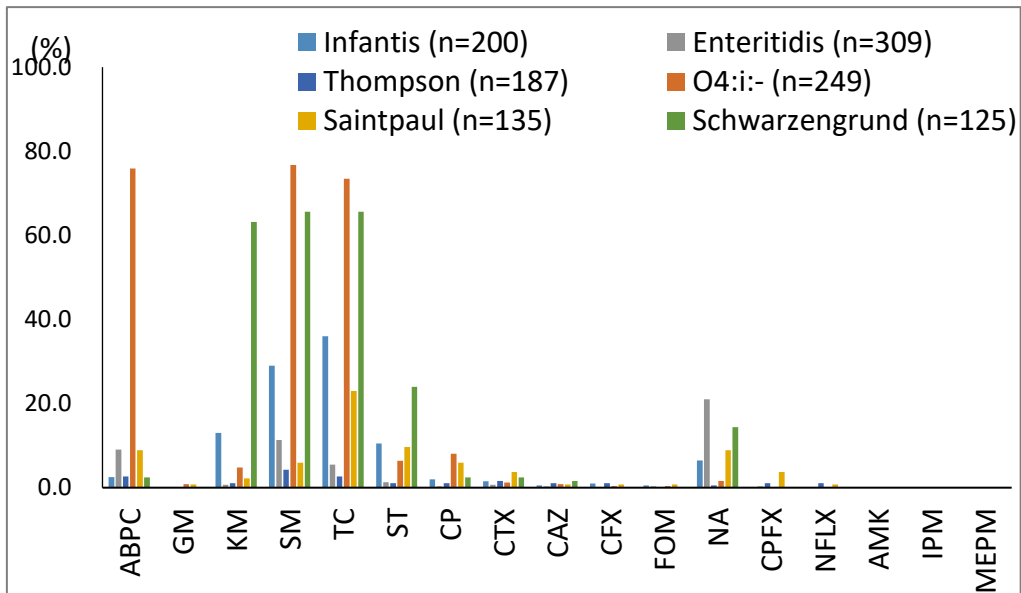


表 12. ヒト及び食品から検出される *S. Infantis*, *S. Schwarzengrund*, *S. Manhattan* の耐性率

(2022 年分離株)

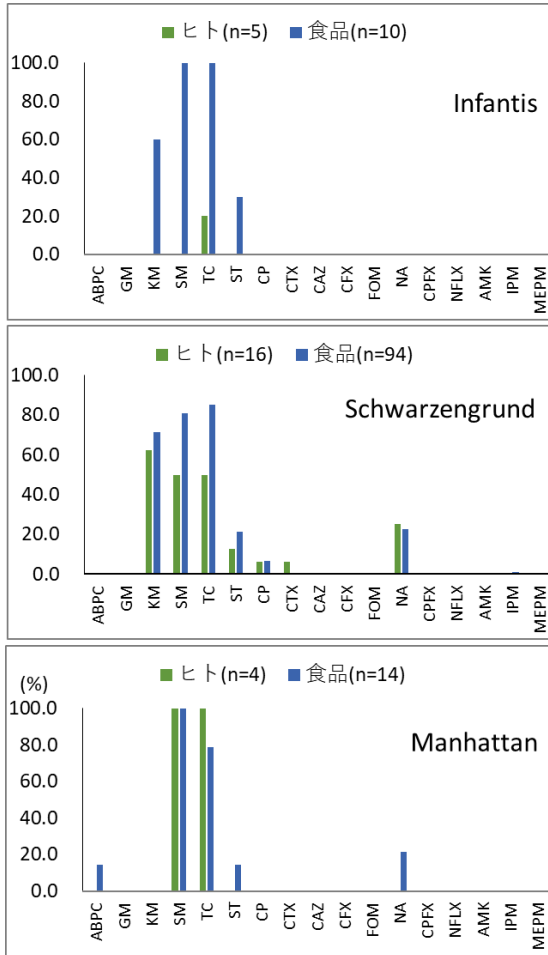
	Infantis		Schwarzengrund		Manhattan	
	ヒト (n=5)	食品 (n=10)	ヒト (n=16)	食品 (n=94)	ヒト (n=4)	食品 (n=14)
ABPC	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	14.3
GM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
KM	0.0	60.0	62.5	71.3	0.0	0.0
SM	0.0	100.0	50.0	80.9	100.0	100.0
TC	20.0	100.0	50.0	85.1	100.0	78.6
ST	0.0	30.0	12.5	21.3	0.0	14.3
CP	0.0	0.0	6.3	6.4	0.0	0.0
CTX	0.0	0.0	6.3	0.0	0.0	0.0
CAZ	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
CFX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
FOM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
NA	0.0	0.0	25.0	22.3	0.0	21.4
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	1.1	0.0	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

(2015-2022 年分離株)

	Infantis		Schwarzengrund		Manhattan	
	ヒト (n=200)	食品 (n=206)	ヒト (n=125)	食品 (n=543)	ヒト (n=52)	食品 (n=79)
ABPC	2.5	11.2	2.4	4.2	1.9	12.7
GM	0.0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0
KM	13.0	40.3	63.2	78.1	0.0	0.0
SM	29.0	74.3	65.6	79.2	90.4	96.2
TC	36.0	78.6	65.6	86.4	88.5	79.7
ST	10.5	22.3	24.0	28.5	0.0	5.1
CP	2.0	2.4	2.4	7.6	0.0	0.0
CTX	1.5	5.8	2.4	0.6	0.0	8.9
CAZ	0.5	4.9	1.6	0.2	0.0	8.9
CFX	1.0	7.8	0.0	0.4	0.0	1.3
FOM	0.5	0.0	0.0	0.4	0.0	0.0
NA	6.5	6.3	14.4	20.8	7.7	15.2
CPFX	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	1.3
NFLX	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
AMK	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
IPM	0.0	0.0	0.0	0.2	0.0	0.0
MEPM	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0

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

(2022 年分離株)



(2015-2022 年分離株)

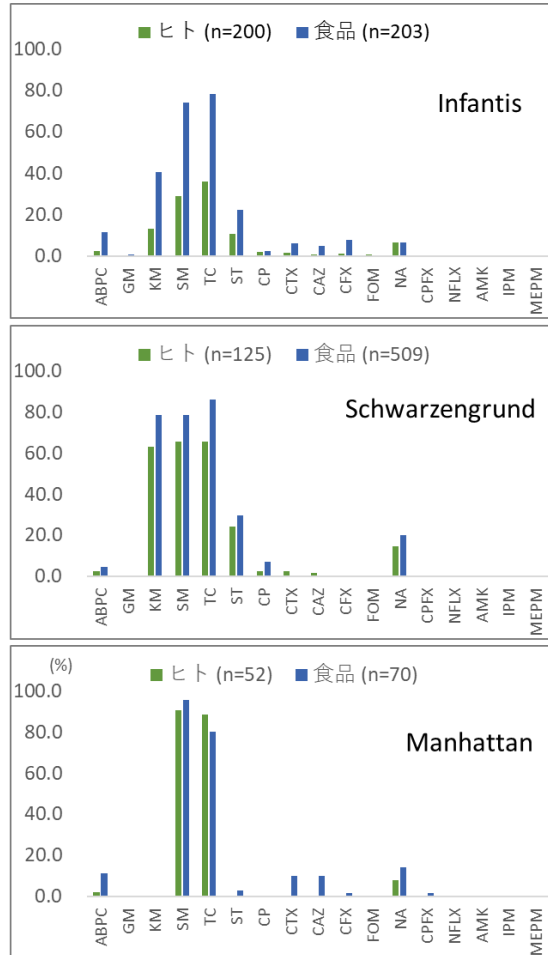


表 13. 本研究で用いた大腸菌株の分類

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 (2015~2022 年分離株)

ヒト由来株 (n=2611)

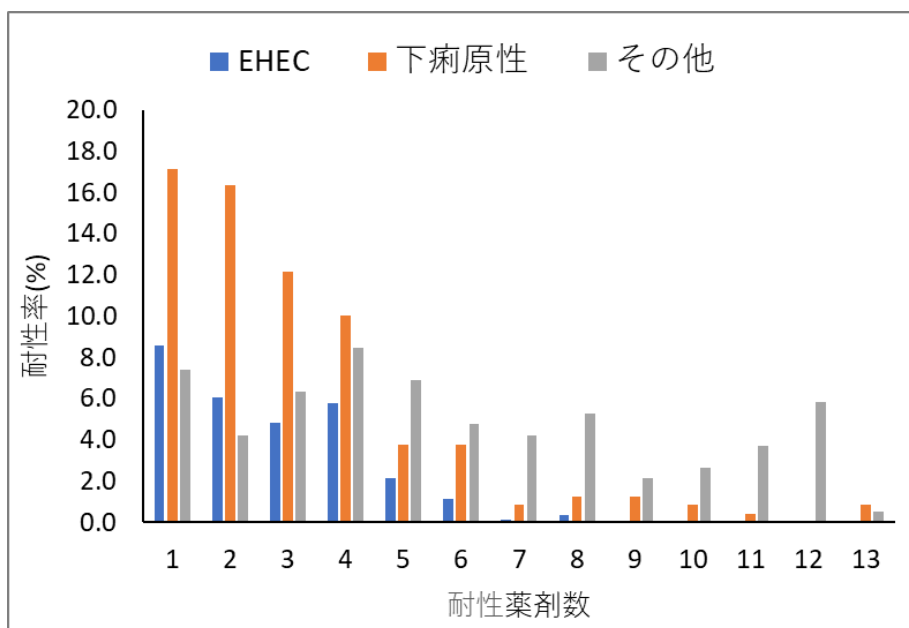
年	分類	株数	耐性数	耐性率
2015	EHEC	130	39	30.0
	下痢原性	23	20	87.0
	その他	12	6	50.0
	計	165	65	39.4
2016	EHEC	115	35	30.4
	下痢原性	32	24	75.0
	その他	24	15	62.5
	計	171	74	43.3
2017	EHEC	191	68	35.6
	下痢原性	26	18	69.2
	その他	28	23	82.1
	計	245	109	44.5
2018	EHEC	481	111	23.1
	下痢原性	56	35	62.5
	その他	36	26	72.2
	計	573	172	30.0
2019	EHEC	292	77	26.4
	下痢原性	35	24	68.6
	その他	27	20	74.1
	計	354	121	34.2
2020	EHEC	336	97	28.9
	下痢原性	25	18	72.0
	その他	13	11	84.6
	計	374	126	33.7
2021	EHEC	300	93	31.0
	下痢原性	17	7	41.2
	その他	23	12	52.2
	計	340	112	32.9
2022	EHEC	328	112	34.1
	下痢原性	25	18	72.0
	その他	26	5	19.2
	計	389	136	35.0
合計	EHEC	2173	632	29.1
	下痢原性	239	164	68.6
	その他	189	118	62.4
	計	2611	915	35.0

食品由来株 (n=165)

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
2022	EHEC	0	0	-
	下痢原性	5	1	20.0
	その他	30	16	53.3
	計	35	17	48.6
合計	EHEC	18	5	27.8
	下痢原性	48	31	64.6
	その他	99	56	56.6
	計	165	92	55.8

※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 (2015~2022 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 (%, 各種分離株あたり)	
EHEC	1.7
下痢原性	9.4
その他	29.1

図 8. ヒト由来大腸菌株の各種薬剤耐性率 (2015~2022 年分離株)

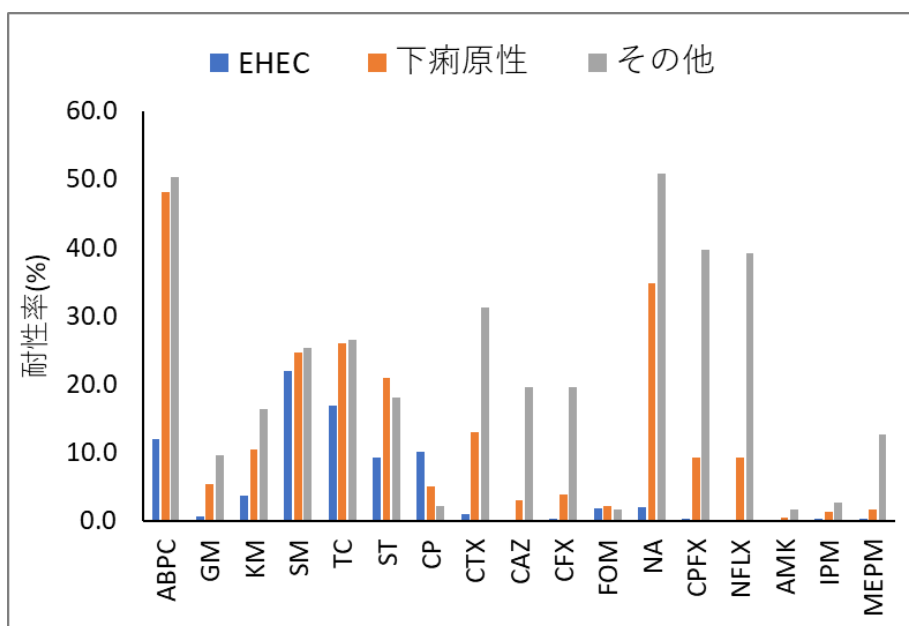


表 15. ヒト及び食品由来 *C. jejuni/coli* の耐性率 (2018~2022 年分離株)

ヒト由来 <i>C. jejuni</i> 及び <i>C. coli</i> の耐性率(2018-2022)																		
	2018			2019			2020			2021			2022			2018~2022		
	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=134)	coli (n=12)	合計 (n=146)	jejuni (n=551)	coli (n=39)	合計 (n=590)
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	0.0	41.7	3.4	0.9	33.3	3.1
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	29.9	58.3	32.2	27.4	51.3	29.0
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	100.0	100.0	100.0	98.2	100.0	98.3
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	61.9	66.7	62.3	54.8	69.2	55.8
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	61.9	66.7	62.3	55.0	69.2	55.9
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	17.2	25.0	17.8	17.2	25.6	17.8
l剤以上耐性率	89	6	95	145	10	155	100	7	107	78	4	82	134	12	146	546	39	585
l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	100.0	100.0	100.0	99.1	100.0	99.2

食品由来 <i>C. jejuni</i> 及び <i>C. coli</i> の耐性率(2018-2022)																		
	2018			2019			2020			2021			2022			2018~2022		
	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=60)	coli (n=12)	合計 (n=72)	jejuni (n=356)	coli (n=51)	合計 (n=407)
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	0.0	41.7	6.9	0.3	31.4	4.2
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	40.0	33.3	38.9	31.2	52.9	33.9
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	100.0	100.0	100.0	99.4	98.0	99.3
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	40.0	58.3	43.1	41.9	56.9	43.7
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	40.0	58.3	43.1	42.1	56.9	44.0
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	25.0	58.3	30.6	25.6	33.3	26.5
l剤以上耐性率	60	12	72	74	12	86	102	8	110	58	7	65	60	12	72	354	51	405
l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	100.0	100.0	100.0	99.4	100.0	99.5

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) (2022 年分離株)

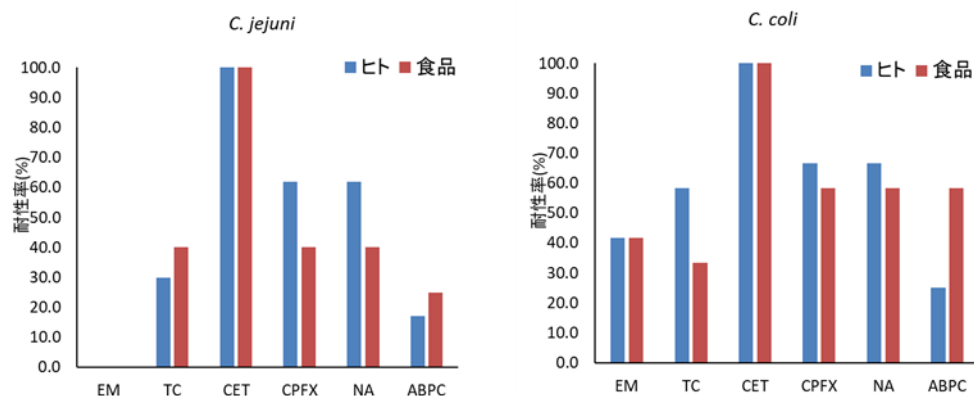


図 10. セフェム系薬剤に耐性を示したサルモネラ株 (2015-2022 年分離株)

ヒト由来						食品由来					
	分離年	耐性薬剤数	CTX	CAZ	CFX		分離年	薬剤耐性数	CTX	CAZ	CFX
1	2015	5	R	R	S	1	2015	5	R	R	S
2	2016	10	R	R	R	2	2015	9	R	R	R
3	2016	2	R	S	S	3	2015	6	R	R	R
4	2016	8	R	R	S	4	2015	5	R	R	S
5	2016	7	R	R	S	5	2015	7	R	I	R
6	2016	7	R	R	S	6	2015	5	R	R	S
7	2016	10	R	R	R	7	2015	8	R	R	R
8	2016	6	R	R	R	8	2015	6	R	R	S
9	2016	5	R	R	S	9	2016	7	R	R	S
10	2016	7	R	R	S	10	2016	6	R	R	R
11	2016	3	S	S	R	11	2016	7	R	R	S
12	2016	2	S	S	R	12	2016	8	R	R	R
13	2017	5	R	R	S	13	2016	8	R	R	R
14	2017	5	R	R	S	14	2016	5	R	R	S
15	2017	7	R	R	S	15	2016	7	I	R	R
16	2017	4	R	S	S	16	2017	7	R	R	R
17	2017	8	R	I	S	17	2017	7	R	R	R
18	2017	8	R	I	S	18	2017	6	R	S	S
19	2017	8	R	S	S	19	2017	7	R	R	R
20	2017	7	R	R	S	20	2017	6	R	R	R
21	2017	9	R	R	R	21	2017	6	R	R	R
22	2017	11	R	R	S	22	2017	6	R	R	R
23	2017	7	R	S	S	23	2017	6	I	R	R
24	2017	2	R	S	S	24	2018	5	R	R	S
25	2017	8	R	R	R	25	2018	7	R	R	S
26	2018	2	R	I	S	26	2018	7	R	R	R
27	2018	7	R	R	S	27	2018	8	R	R	R
28	2018	4	R	I	I	28	2018	7	R	R	S
29	2018	3	R	R	S	29	2018	8	R	R	R
30	2018	6	R	I	S	30	2018	7	R	R	R
31	2018	11	R	R	S	31	2018	6	I	I	R
32	2018	6	R	R	R	32	2019	6	R	R	R
33	2018	3	R	S	S	33	2019	6	R	R	R
34	2018	8	R	R	R	34	2019	6	R	R	R
35	2018	7	R	R	S	35	2019	6	R	R	R
36	2019	7	R	R	S	36	2019	3	R	I	R
37	2019	7	R	R	S	37	2019	5	R	R	S
38	2019	8	R	S	S	38	2019	5	R	I	R
39	2019	9	R	S	S	39	2019	6	R	R	R
40	2020	7	R	R	R	40	2020	6	R	R	R
41	2020	8	R	R	R	41	2020	8	R	R	R
42	2021	10	R	R	R	42	2020	7	R	R	R
43	2021	8	R	R	R	43	2020	6	R	R	R
44	2021	2	R	S	S	44	2020	5	R	S	R
45	2022	8	R	R	R	45	2020	6	R	R	R
46	2022	5	R	R	R	46	2020	5	I	S	R
47	2022	5	R	S	S	47	2021	6	R	S	R
						48	2021	5	R	S	S
						49	2021	4	I	S	R

表 16. 上記サルモネラ株から検出された ESBL 遺伝子、AmpC 遺伝子 (2015-2021 年まで)

耐性遺伝子	患者由来株	食品由来株
ESBL		
CTX-M-1 group	15	6
CTX-M-9 group	7	0
TEM	9	6
SHV	1	0
CTX-M-8/25 group	0	0
CTX-M-2 group	1	1
AmpC		
MOX	0	0
CIT	10	30
DHA	1	0
ACC	0	0
EBC	0	3
FOX	0	0

図 11. セフェム系薬剤に耐性を示した大腸菌株 (2015-2022 年分離株)

分類	分離年	耐性数	CTX	CAZ	CFX	分類	分離年	耐性数	CTX	CAZ	CFX	分類	分離年	耐性数	CTX	CAZ	CFX			
1	EHEC	2016	1	R	S	S	29	下痢原性	2015	2	R	S	S	65	その他	2015	8	R	R	R
2	EHEC	2016	3	R	I	S	30	下痢原性	2015	3	R	S	S	66	その他	2015	10	R	R	R
3	EHEC	2017	3	R	S	S	31	下痢原性	2015	4	R	S	S	67	その他	2016	2	R	S	S
4	EHEC	2017	9	S	S	R	32	下痢原性	2016	2	R	S	S	68	その他	2016	6	R	R	S
5	EHEC	2017	10	S	S	R	33	下痢原性	2016	2	R	I	S	69	その他	2016	6	R	R	S
6	EHEC	2017	10	S	S	R	34	下痢原性	2016	3	R	S	S	70	その他	2017	5	R	S	S
7	EHEC	2018	2	R	I	S	35	下痢原性	2016	3	R	S	S	71	その他	2017	5	R	S	I
8	EHEC	2018	2	R	I	I	36	下痢原性	2016	4	R	R	S	72	その他	2017	5	R	S	S
9	EHEC	2018	2	R	I	S	37	下痢原性	2016	6	R	S	S	73	その他	2017	6	R	R	S
10	EHEC	2018	2	R	S	S	38	下痢原性	2017	4	R	S	S	74	その他	2017	7	R	R	R
11	EHEC	2018	3	R	R	S	39	下痢原性	2018	3	R	I	S	75	その他	2017	8	R	R	R
12	EHEC	2019	2	R	S	S	40	下痢原性	2018	5	R	S	S	76	その他	2017	8	R	R	R
13	EHEC	2019	2	R	S	S	41	下痢原性	2018	5	R	S	S	77	その他	2017	9	R	I	R
14	EHEC	2019	2	R	I	S	42	下痢原性	2018	10	R	R	R	78	その他	2017	9	R	R	S
15	EHEC	2019	2	R	I	S	43	下痢原性	2018	13	R	R	R	79	その他	2017	11	R	R	R
16	EHEC	2019	2	R	I	S	44	下痢原性	2018	13	R	R	R	80	その他	2017	11	R	R	R
17	EHEC	2019	2	R	S	S	45	下痢原性	2018	2	I	I	R	81	その他	2017	12	R	R	R
18	EHEC	2019	2	R	I	S	46	下痢原性	2018	2	I	I	R	82	その他	2017	12	R	R	R
19	EHEC	2019	2	R	I	S	47	下痢原性	2019	2	R	S	S	83	その他	2017	12	R	R	R
20	EHEC	2019	2	R	S	S	48	下痢原性	2019	3	R	S	S	84	その他	2017	12	R	R	I
21	EHEC	2019	2	R	I	S	49	下痢原性	2019	4	R	S	S	85	その他	2017	3	I	I	R
22	EHEC	2019	2	R	I	S	50	下痢原性	2019	4	R	R	S	86	その他	2018	5	R	S	S
23	EHEC	2019	2	R	I	S	51	下痢原性	2019	5	R	S	S	87	その他	2018	5	R	S	S
24	EHEC	2020	8	S	S	R	52	下痢原性	2019	6	R	S	S	88	その他	2018	6	R	S	R
25	EHEC	2020	8	S	S	R	53	下痢原性	2019	11	R	R	S	89	その他	2018	7	R	S	S
26	EHEC	2020	8	S	S	R	54	下痢原性	2019	3	S	S	R	90	その他	2018	7	R	S	I
27	EHEC	2022	6	S	S	R	55	下痢原性	2020	2	R	S	S	91	その他	2018	8	R	R	R
28	EHEC	2022	6	I	S	R	56	下痢原性	2020	2	R	S	S	92	その他	2018	8	R	I	S
57	下痢原性	2020	2	R	I	S	93	その他	2018	9	R	R	R	93	その他	2018	9	R	R	R
58	下痢原性	2020	5	R	S	S	94	その他	2018	11	R	R	R	94	その他	2018	11	R	R	R
59	下痢原性	2020	6	R	S	S	95	その他	2018	12	R	S	R	95	その他	2018	12	R	S	R
60	下痢原性	2020	9	R	I	S	96	その他	2018	12	R	R	R	96	その他	2018	12	R	R	R
61	下痢原性	2020	9	R	R	R	97	その他	2018	12	R	R	R	97	その他	2018	12	R	R	R
62	下痢原性	2020	4	S	S	R	98	その他	2018	12	R	R	R	98	その他	2018	12	R	R	R
63	下痢原性	2022	2	S	S	R	99	その他	2018	12	R	R	R	99	その他	2018	12	R	R	R
64	下痢原性	2022	2	R	S	I	100	その他	2018	13	R	R	R	100	その他	2018	13	R	R	R
101	その他	2019	5	R	S	S	101	その他	2019	5	R	S	S	101	その他	2019	5	R	S	S
102	その他	2019	8	R	S	S	102	その他	2019	8	R	S	S	102	その他	2019	8	R	S	S
103	その他	2019	8	R	R	R	103	その他	2019	8	R	R	R	103	その他	2019	8	R	R	R
104	その他	2019	8	R	R	R	104	その他	2019	8	R	R	R	104	その他	2019	8	R	R	R
105	その他	2019	9	R	R	R	105	その他	2019	9	R	R	R	105	その他	2019	9	R	R	R
106	その他	2019	10	R	R	R	106	その他	2019	10	R	R	R	106	その他	2019	10	R	R	R
107	その他	2019	10	R	R	R	107	その他	2019	10	R	R	R	107	その他	2019	10	R	R	R
108	その他	2019	11	R	R	R	108	その他	2019	11	R	R	R	108	その他	2019	11	R	R	R
109	その他	2019	12	R	R	R	109	その他	2019	12	R	R	R	109	その他	2019	12	R	R	R
110	その他	2019	5	S	S	R	110	その他	2019	5	S	S	R	110	その他	2019	5	S	S	R
111	その他	2020	2	R	S	S	111	その他	2020	2	R	S	S	111	その他	2020	2	R	S	S
112	その他	2020	6	R	S	S	112	その他	2020	6	R	S	S	112	その他	2020	6	R	S	S
113	その他	2020	7	R	S	S	113	その他	2020	7	R	S	S	113	その他	2020	7	R	S	S
114	その他	2020	8	R	R	R	114	その他	2020	8	R	R	R	114	その他	2020	8	R	R	R
115	その他	2020	10	R	R	R	115	その他	2020	10	R	R	R	115	その他	2020	10	R	R	R
116	その他	2020	11	R	R	R	116	その他	2020	11	R	R	R	116	その他	2020	11	R	R	R
117	その他	2020	12	R	R	R	117	その他	2020	12	R	R	R	117	その他	2020	12	R	R	R
118	その他	2021	6	R	R	S	118	その他	2021	6	R	R	S	118	その他	2021	6	R	R	S
119	その他	2021	10	R	I	R	119	その他	2021	10	R	I	R	119	その他	2021	10	R	I	R
120	その他	2021	11	R	R	R	120	その他	2021	11	R	R	R	120	その他	2021	11	R	R	R
121	その他	2021	11	R	R	R	121	その他	2021	11	R	R	R	121	その他	2021	11	R	R	R
122	その他	2021	2	R	S	S	122	その他	2021	2	R	S	S	122	その他	2021	2	R	S	S
123	その他	2022	2	R	S	S	123	その他	2022	2	R	S	S	123	その他	2022	2	R	S	S
124	その他	2022	7	R	S	S	124	その他	2022	7	R	S	S	124	その他	2022	7	R	S	S
125	その他	2022	5	R	S	S	125	その他	2022	5	R	S	S	125	その他	2022	5	R	S	S

EHEC
1.3% (28/2173)

下痢原性
15.1% (36/239)

その他
32.3% (61/189)

耐性遺伝子	EHEC	下痢原性	その他
ESBL			
CTX-M-1型	16	16	9
CTX-M-9型	0	12	25
TEM	18	11	18
SHV	0	0	0
CTX-M-8/25型	0	0	1
CTX-M-2型	1	2	21
AmpC			
MOX	0	0	0
CIT	0	0	1
DHA	0	0	2
ACC	0	0	0
EBC	0	0	0
FOX	0	0	0

表 17. 上記大腸菌株株から検出された ESBL 遺伝子、AmpC 遺伝子 (2015-2021 年まで)

表 18. 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	18	966 (520, 446)
ゲノムデータ・菌株情報のデータベースへの登録・公開	18	966 (520, 446)

2023.3.1 時点

令和4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の強化のための研究」

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食品衛生管理部
研究協力者	山本詩織	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
	有田佳子	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部
	増岡和代	国立医薬品食品衛生研究所食品衛生管理部

研究要旨：国内で製造加工された鶏モモ肉製品 212 検体を対象に、ESBL 産生大腸菌、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性状を解析した。定性試験を通じ、ESBL 産生大腸菌は 155 検体（73.1%）より検出されたが、あわせて行った定量試験成績より、191 検体（90.1%）は 100 CFU/g 未満の汚染菌数であること、100 CFU/g 以上の汚染菌数を認めた 21 検体中 11 検体は同一事業者由来であったこと等が確認され、特定施設での衛生管理の確認と必要に応じた衛生指導が今後検討すべき課題と想定された。また、ESBL 産生大腸菌株の約 22%はβラクタム系を除く 5 剤以上に耐性を示したほか、βラクタマーゼ産生遺伝子型は事業者間で差異を認めた。サルモネラ属菌は 94 検体（44.3%）より検出され、うち 14 株（14.9%）は 5 剤以上の多剤耐性を示した。薬剤別の耐性率は TC 耐性が 92 株（97.9%）と最も高く、KM 耐性が 81 株（86.2%）、ST/TMP 耐性が 47 株（50.0%）と続いた。カンピロバクターは最終的に 98 株（*C. jejuni* 74 株、*C. coli* 24 株）が分離された。*C. jejuni/coli* をあわせた 98 株全体での薬剤別の耐性株数及び耐性率は、CPFX が 61 株（62.2%）と最も高く、次いで TC が 30 株（30.6%）、AMP が 26 株（26.5%）、EM が 12 株（12.2%）であった。菌種別では、*C. jejuni* は CPFX 耐性が 39 株（52.7%）と最も多く、次いで AMP 耐性が 21 株（28.4%）、TC 耐性が 13 株（74%）であったのに対し、*C. coli* では CPFX 耐性が 22 株（91.7%）と最も多く、次いで TC 耐性が 17 株（70.8%）、EM 耐性が 12 株（50.0%）、AMP 耐性株が 5 株（20.8%）であった。CPFX 耐性率は本年度も全体で 6 割を超え、前年度に比べて著変は認められず、今後もその動向をサーベイランスしていく必要があると考えられた。また、*C. coli* 株の 50.0%は特定事業者から出荷された鶏肉検体由来であり、10 株中 9 株が TC 耐性を示していたことから、当該事業者が取り扱う鶏肉について、生産段階での飼養管理体制を含めた衛生管理状況を調査していく必要性が示唆されたほか、引き続き、特定事業者由来検体に限定することなく、幅広く検体収集を行うべきと考えられる。

A. 研究目的

基質特異性拡張型βラクタマーゼ（ESBL）産生菌は鶏肉から高率に検出されるとする報告がこれまでに集積されつつあり、当該食品を

介したヒト健康被害の可能性も指摘されている。一方、当該耐性菌の汚染実態として報告される成績の多くは定性的な汚染実態あるいは

分離菌株の特性解析に限定されており、定量的成績に関する知見は乏しい状況であった。一方、近年では食品のリスク評価を行う上では定量的成績に基づいた分析が国際標準となっていることを踏まえ、本分担研究では鶏肉におけるESBL産生菌の定性・定量的汚染実態を継続的に調査するとともに、分離菌株の遺伝的性状の検討を進めてきた。

本年度は、計7の大手事業者により製造加工され、流通段階にある鶏モモ肉製品におけるESBL産生菌の定量的汚染実態に関する調査を経時的に行うと共に、得られたESBL産生大腸菌株の薬剤感受性及びβ-ラクタマーゼ産生遺伝子型別を検討した。加えて、同一検体からのサルモネラ属菌並びにカンピロバクター属菌の菌分離を試み、得られた分離菌株の薬剤感受性に関する検討を行ったので報告する。

B. 研究方法

1. 供試検体および試験検液の調整

国内に流通する鶏肉製品212検体を対象として、鶏モモ肉製品の皮中心部位25gを供試検体とした。各検体は採取後、滅菌鉗及びピンセットを用いて、細切した後、緩衝ペプトン水(BPW、Oxoid) 100mLを加えて1分間ホモジナイズした後、試験検液とした。

2. ESBL産生大腸菌の定量・定性試験

ESBL産生大腸菌の定量評価にあたっては、上項1の試験検液200μLをクロモアガーESBL培地(関東化学)に直接塗抹した後、37°Cで24時間好気培養し、培養後に生育した典型集落数を計測した。平行して、試験検液の残液にセフトキシム(CTX)を終濃度1μg/mLになるよう添加した後、37°Cで24時間で増菌培養し、一白金耳量をクロモアガーESBL培地に画線塗抹し、生育したESBL産生大腸菌(赤色集落)

を1検体につき原則2集落を単離した(定性試験)。

3. ESBL産生性が疑われる大腸菌以外の集落の菌種同定

上項2の定量試験において、クロモアガーESBL培地上で生育が認められた青色または白色を呈する代表集落について、純培養した後、AXIMA微生物同定システム(島津製作所)に供することで、菌種同定を行った。

3. サルモネラ属菌の定性評価

上項1の試験検液を調製し、37°Cで24時間増菌培養した後、ラパポート・バシリアディス(RV)培地で二次増菌培養し、一白金耳量をクロモアガーサルモネラ培地(関東化学)に画線塗抹することで、サルモネラ属菌を単離した。菌種同定にはPCR法を用いた。

4. カンピロバクター属菌の定性評価

上項と同一検体10gをプレストン培地に接種し、42°Cにて48時間好気培養を行った。培養後、一白金耳量をクロモアガーカンピロバクター培地(関東化学)に画線塗抹して、カンピロバクター属菌を単離した。菌種同定にはPCR法を用いた。

5. 薬剤感受性試験等

分離されたESBL産生大腸菌、サルモネラ属菌、カンピロバクター属菌の各分離株について、CLSI法に準じた薬剤感受性試験に供した。供試薬剤は、ESBL産生大腸菌ではSM、GM、KM、ST/TMP、CL、CP、TC、NA、CPFAXの計9剤を、サルモネラ属菌では、AMP、CEZ、CTX、SM、GM、KM、ST/TMP、CL、CP、TC、NA、CPFAXの計12剤を、カンピロバクターではAMP、EM、TC、CPFAXの計4剤を用いた。な

お、カンピロバクターに対する AMP の breakpoint については、CLSI、EU-CAST 共に示されていなかったため、Ammar らの方法 (Ammar AM, Animals, 11, 1-18, 2020) に従って判定を行った。

また、サルモネラ属菌株では、サルモネラ免疫血清「生研」を用いた血清型別を行った。

6. β ラクタマーゼ遺伝子型別試験

ESBL 産生大腸菌株については、PCR 法により主要な β ラクタマーゼ遺伝子 (CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8) を対象とした型別試験に供した。

C. 研究結果及び考察

1. ESBL 産生大腸菌の検出試験成績概要

定性試験を通じ、ESBL 産生大腸菌は 212 検体中 155 検体 (73.1%) で認められた。一方、定量検出試験を通じ、ESBL 産生大腸菌は 50 CFU/g 以上の菌数を認めた検体数は 31 検体に留まり、残り 181 検体 (85.4%) は検出限界未満 (<50 CFU/g) であった (図 1)。最大菌数は 2,925 CFU/g であったが、100 CFU/g 以上を呈した検体数は 21 検体、1,000 CFU/g 以上を呈した検体数は 3 検体に留まった (図 1)。

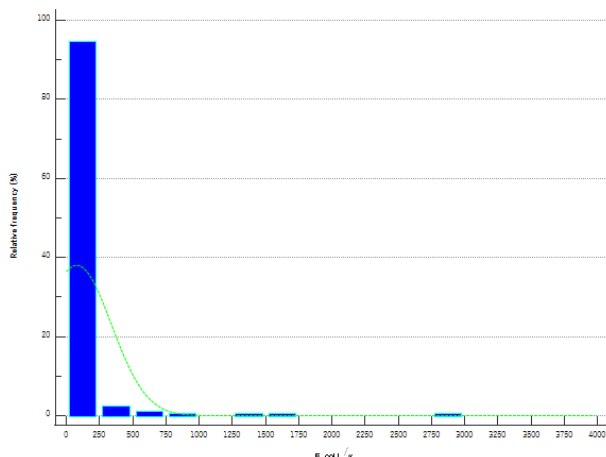


図 1. 鶏モモ肉検体における ESBL 産生大腸菌の菌数分布。

本分担研究では計 7 (A~G) の大規模事業

者由来の鶏モモ肉検体を対象として経時的に調査を進めた。全体では、わが国において製造加工、流通される当該食品における ESBL 産生大腸菌の汚染菌数は低い状況にあることが確認された。一方、100 CFU/g 以上を呈した 21 検体のうち、11 検体は複数月に跨った形で、同一施設由来であったことから、当該施設における一般衛生管理の向上が当該耐性菌の汚染低減に資するものと考えられた。これらの状況を鑑みると、今後もこうした調査研究を行う際には、地域や事業者に偏りを持たない形で検討を進める必要があると思料される。

2. クロモアガー-ESBL 培地上での発育集落数及び優勢菌種の同定

クロモアガー-ESBL 培地上に発育した赤色以外の集落数を計数したところ、菌数分布は ESBL 産生大腸菌に近似し、212 検体中 40 検体 (18.9%) で青色集落を認めたが、残り 172 検体 (81.1%) ではこれらを認めなかった (図 2)。最大菌数は 2,925 CFU/g であったが、100 CFU/g 以上を呈した検体数は 25 検体、1,000 CFU/g 以上を呈した検体数は 4 検体に留まっていた (図 2)。

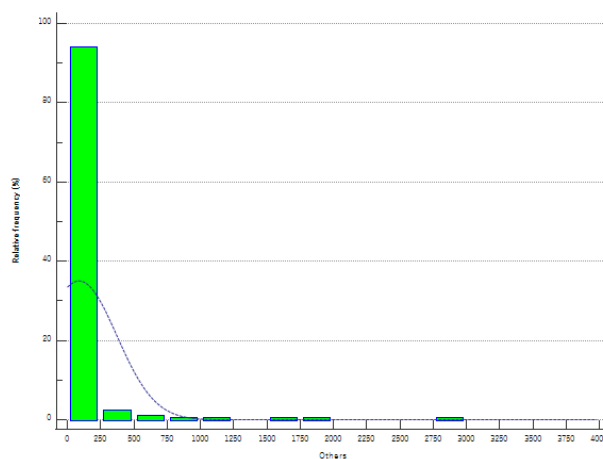


図 2. 鶏モモ肉検体をクロモアガー-ESBL 培地に塗抹・培養後に発育を呈した青色集落数の分布。

鶏モモ肉製品検体からの定量試験において、クロモアガー-ESBL 培地上で発育が認められた *E. coli* 及びその他の集落数に関する関連性を確認したところ、両試験項目間の相関係数 r は 0.9533 と高い正の相関を示した (図 3)。

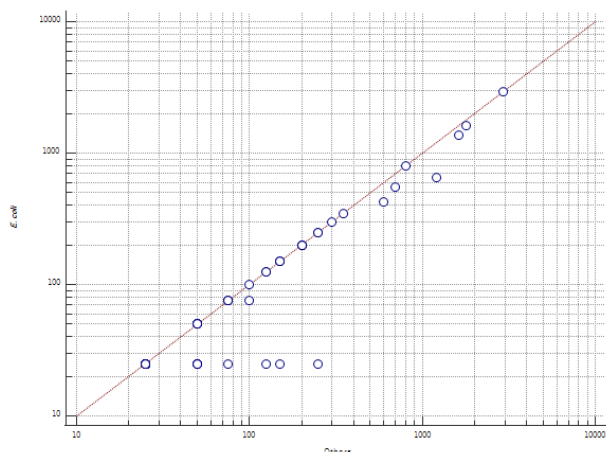


図 3. 鶏モモ肉製品検体からの定量試験において、クロモアガー-ESBL 培地上で発育が認められた *E. coli* 及びその他の集落数に関する関連性。

42 検体で発育を認めた青色代表集落を菌種同定試験に供した結果、*Klebsiella pneumoniae* が 19 株と最も多く、*Serratia fonticola* が 10 株と続いていた (表 1)。

表 1. 鶏モモ肉検体をクロモアガー-ESBL 培地に塗抹・培養後に発育を認めた青色を呈する代表集落の菌属種同定結果。

菌属種	菌株数
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	19
<i>Serratia fonticola</i>	10
<i>Enterococcus faecium</i>	5
<i>Cedecea davisae</i>	2
<i>Acinetobacter spp.</i>	2
<i>Buttiauxella agrestis</i>	1
<i>Enterococcus gallinarum</i>	1

<i>Kluyvera cryocrescens</i>	1
<i>Serratia spp.</i>	1
計	42

K. pneumoniae や *C. davisae*、*B. agrestis* 等は腸内細菌科菌群に属する菌種であり、大腸菌との間での遺伝子水平伝播も相対的に生じ易い菌種と目される。引き続き、大腸菌と近縁の ESBL 産生菌の汚染動向に関する情報収集を行うことは、鶏肉食品における薬剤耐性菌の動向を俯瞰的に把握する上で有用な知見になるものと期待される。

3. ESBL 産生大腸菌株の薬剤耐性状況

定性試験を通じて鶏モモ肉検体より分離された ESBL 産生大腸菌 296 株を、 β ラクタム系抗菌薬を除く計 9 剤 (SM, GM, KM, ST/TMP, CL, CP, TC, NA, CIP) を対象とした薬剤感受性試験に供したところ、13 株を除く計 283 株 (95.6%) が 1 剤以上に耐性を示し、うち 64 株は 5 剤以上に耐性を示した (表 2)。

表 2. ESBL 産生大腸菌株のうち、5 剤以上に耐性を示した分離株の薬剤耐性プロファイル。

耐性薬剤数	耐性プロファイル	菌株数
9	SM-GM-KM-ST/TMP-CL-CP-TC-NA-CIP	0
8	SM-GM-KM-ST/TMP-CP-TC-NA-CIP	2
7	SM-KM-ST/TMP-CP-TC-NA-CIP	3
	GM-KM-ST/TMP-CP-TC-NA-CIP	2
6	SM-KM-ST/TMP-TC-NA-CIP	17
	SM-KM-ST/TMP-CP-TC-NA	6
	SM-KM-ST/TMP-CP-NA-CIP	6
	SM-GM-ST/TMP-CP-TC-CIP	1
	SM-GM-KM-ST/TMP-CP-TC	1
	GM-KM-ST/TMP-CP-NA-CIP	1
5	GM-ST/TMP-CP-NA-CIP	10
	SM-GM-ST/TMP-CP-TC	6
	SM-KM-CL-TC-NA	3
	SM-KM-ST/TMP-CP-NA	2
	SM-KM-ST/TMP-TC-NA	2
	SM-KM-TC-NA-CIP	1

薬剤別の耐性率は、SM 耐性が 69.9% (207 株/296 株) と最も高く、次いで KM 耐性が 68.2% (202 株/296 株)、NA 耐性が 63.9% (189 株/296 株)、TC 耐性が 62.2% (184 株/296 株)、ST/TMP 耐性が 48.0% (142 株/296 株)、CP 耐性及び CIP 耐性はそれぞれ 16.9% (50 株/296 株) であった (図 4)。CL 耐性は 1 株のみ認められた (図 4)。

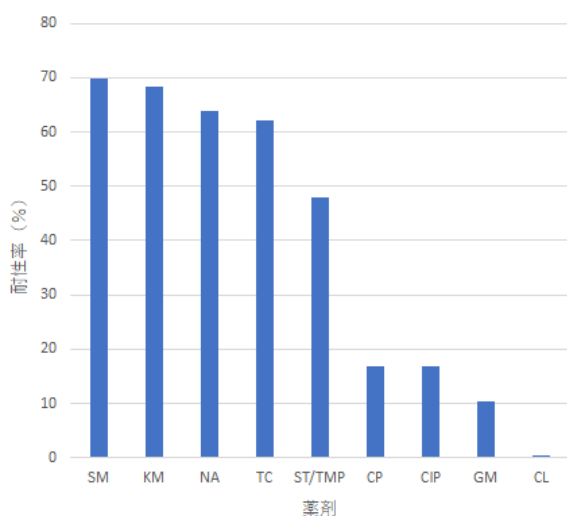


図 4. ESBL 産生大腸菌株の各種薬剤に対する耐性率

3. ESBL 産生大腸菌株における β ラクタマーゼ 遺伝子型

上記の ESBL 産生大腸菌株について、3 種の代表的な β ラクタマーゼ 遺伝子型について型別試験を実施したところ、CTX-M-1 型が 107 株 (36.1%) と最も多く、次いで CTX-M-2 型が 86 株 (29.1%)、CTX-M-9 型が 85 株 (28.7%)、その他が 18 株 (6.1%) であった (表 3)。

表 3. 事業者 (A-G) 別の ESBL 遺伝子型別結果概要

事業者	菌株数	CTX-M-1	CTX-M-2	CTX-M-9	他
A	2	0	0	2	0
B	12	12	0	1*	0
C	49	34	11	3	1
D	72	15	40	14	3
E	71	12	5	51	3
F	52	12	24	14	2
G	38	22	6	1	9
計	296	107	86	85	18

*CTX-M-1 及び CTX-M-9 共保有株

韓国の食鳥由来 ESBL 産生大腸菌 43 株の遺伝子型については、CTX-M-1 のほか、CTX-M-14 や CTX-M-55 が高い割合を占めたとする報告もある (Kim *et al.*, 2021. *Antibiotics* 2021, 10, 1050.)。わが国で分離された ESBL 産生大腸菌株における β ラクタマーゼ 遺伝子型の構成については昨年度と比較しても著変は認められなかったことから考えると、近隣国間で食鳥肉における薬剤耐性遺伝子の伝播が生じているとは考え難いと思われる。更に、事業者別で同遺伝子型の分布割合が大きく異なる場合も見られたことから、各食品関連施設環境、或いはその上流にあたる農場で特定の遺伝子を有する大腸菌が常在化している可能性も示唆される。

4. サルモネラ属菌の検出状況と分離株の血清型及び薬剤耐性状況

サルモネラ属菌は、鶏モモ肉 212 検体中 94 検体 (44.3%) から 100 株が分離された。分離菌株の血清型としては、Schwarzengrund が 96 株 (96.0%) と最も多く、Infantis が 4 株 (4.0%) であった。

サルモネラ属菌 100 株の薬剤感受性試験の結果

果、すべての菌株が単剤以上に耐性を示し、うち14株(14.9%)は5剤以上の多剤耐性を示した。また、Infantis株はいずれもTC、KM、ST/TMPに耐性を示した。

薬剤別の耐性率は、TC耐性が92株(97.9%)と最も高く、次いでKM耐性が81株(86.2%)、ST/TMP耐性が47株(50.0%)、SM耐性が36株(38.3%)、NA耐性が35株(37.2%)等であった(図5)。

薬剤耐性率について月別比較を行ったところ、月毎の分離菌株数は異なるものの、4剤以上に耐性を示した菌株の割合は7月に一過性の上昇を認め、12月には減少傾向を呈したほか、5剤以上に耐性を示した菌株の割合は、7月及び9月に高い傾向を示した(図6)。

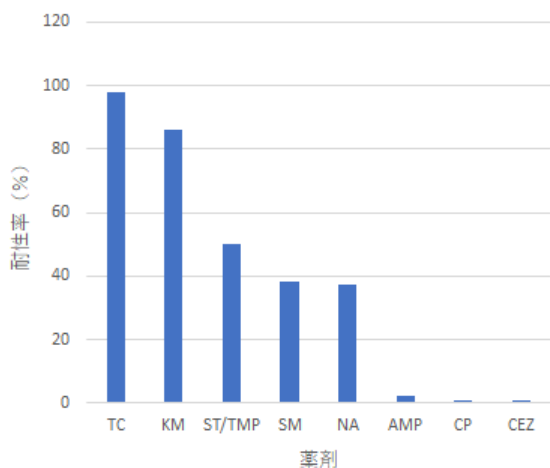


図5. サルモネラ分離株の各種薬剤に対する耐性率

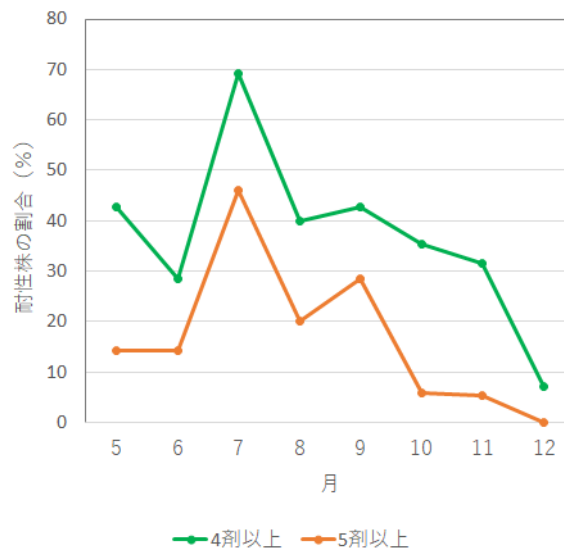


図6. サルモネラ分離株のうち、4剤以上又は5剤以上に耐性を示した菌株の月別割合。

耐性薬剤数については表4の通りとなった。

表4. サルモネラ属菌株のうち、3剤以上に耐性を示した分離株の薬剤耐性プロファイル。

耐性薬剤数	菌株数	耐性プロファイル	菌株数
6	2	AMP-SM-KM-ST/TMP-CP-TC	1
		CEZ-SM-KM-ST/TMP-TC-NA	1
5	12	SM-KM-ST/TMP-TC-NA	11
		SM-GM-KM-ST/TMP-TC	1
4	20	SM-KM-ST/TMP-TC	10
		KM-ST/TMP-TC-NA	6
		SM-KM-TC-NA	4
3	30	KM-ST/TMP-TC	16
		SM-KM-TC	7
		KM-TC-NA	4
		SM-KM-NA	1
		ST/TMP-TC-NA	1
		AMP-KM-TC	1

5. カンピロバクター属菌の検出状況及び分離菌株の薬剤耐性状況

カンピロバクター属菌は鶏モモ肉212検体より最終的に98株が分離された。分離菌株の内訳は、*C. jejuni*が74株、*C. coli*が24株であった。

分離菌株を薬剤感受性試験に供したところ、69株(70.4%)が単剤以上に耐性を示し、うち45株が*C. jejuni*、24株が*C. coli*であった(表

5)。

表 5. カンピロバクター・ジェジュニ/コリ分離株の薬剤耐性プロファイル。

菌種	耐性薬剤数	耐性パターン	菌株数
<i>C. jejuni</i>	3	AMP-TC-CPFX	4
	2	AMP-CPFX	13
		TC-CPFX	7
	1	CPFX	15
		AMP	4
		TC	2
	0	-	29
<i>C. coli</i>	4	AMP-EM-TC-CPFX	1
	3	EM-TC-CPFX	10
		AMP-TC-CPFX	2
		AMP-EM-CPFX	1
	2	TC-CPFX	2
		AMP-TC	1
	1	CPFX	6
		TC	1
0	-	0	

*C. jejuni/coli*をあわせた計 98 株全体での薬剤別の耐性株数及び耐性率は、CPFX が 61 株 (62.2%) と最も高く、次いで TC が 30 株 (30.6%)、AMP が 26 株 (26.5%)、EM が 12 株 (12.2%) であった (図 7)。

菌種別の薬剤耐性株数及び耐性率は、*C. jejuni*では CPFX 耐性株が 39 株 (52.7%) と最も多く、次いで AMP 耐性株が 21 株 (28.4%)、TC 耐性株が 13 株 (74%) であり、EM 耐性株は認められなかった (表 5)。

一方、*C. coli*では CPFX 耐性株が 22 株 (91.7%) と最も多く、次いで TC 耐性株が 17 株 (70.8%)、EM 耐性株が 12 株 (50.0%)、AMP 耐性株が 5 株 (20.8%) であった (図 7)。

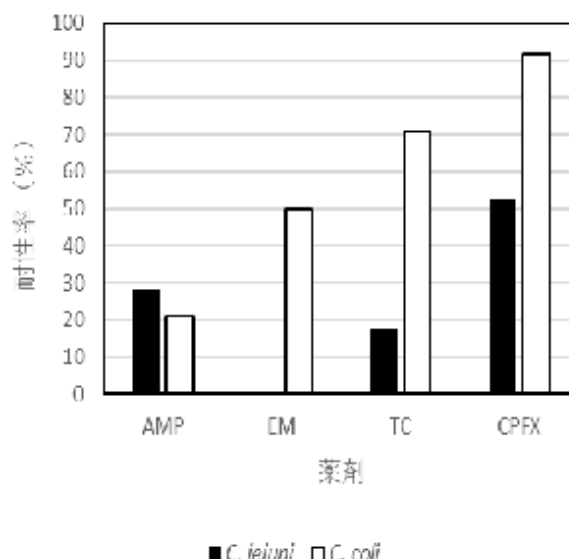


図 7. カンピロバクター分離株の各種薬剤に対する耐性率

上述の結果より、CPFX 耐性率については本年度も全体では 6 割を超えていたほか、*C. coli* 分離株については特に CPFX に加え、TC、EM に対する高い耐性率が認められた。CPFX 耐性獲得については、*gyrA/B* の一塩基置換により齎されることが既知であることから、長期的なモニタリングによりその動向を把握していく必要があると解される。また、*C. coli* 株の 50.0% (12 株/24 株) は特定事業者から出荷された鶏肉検体由来であり、うち 9 株は TC 耐性を示していたため、当該事業者が取り扱う鶏肉については、生産段階での飼養管理体制を含めた衛生管理状況を調査していく必要があると思料される。TC 耐性遺伝子は、主としてプラスミド性に伝達されることが知られていることから、今後、分離株に対するプラスミドシーケンスによる耐性遺伝子の保有状況調査は、迅速な当該薬剤耐性状況の把握に資するものと思われる。

D. 結論

計7事業者由来の鶏モモ肉212検体を対象として、ESBL産生大腸菌の定性・定量試験、並びにサルモネラ属菌、カンピロバクター・ジェジュニ/コリ分離株の薬剤感受性動向を調査した。ESBL産生大腸菌の定性検出率の高いものの、汚染菌数は総じて低く、また高い汚染菌数の検体の約半数は特定事業者由来であったことから、検討対象検体の事業者は幅広く選定すべきことがわが国における鶏肉等の食品における耐性菌サーベイランスを俯瞰的に進める上で重要と考えられた。また、サルモネラ、カンピロバクターについては前年度に比べて顕著な変動は認められなかったが、*C. coli*株で認められたTC/EM/CPFX耐性率の高さにも検体の由来となる事業者が影響している可能性が示唆された。

E. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
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）
令和4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
	齊木 大	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

2021年に分離された散発患者由来 *C. jejuni* 42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13株(31.%)であった。2020年分離株と同様に耐性率は低く、過去10年間の中では最も低かった。EM耐性株は *C. jejuni* 1株(2.4%)、*C. coli* 1株(33.3%)であった。例年の傾向と同様に、*C. jejuni*のEM耐性率は数%で推移していた。

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45.8%で耐性率は横ばい傾向であった。薬剤別耐性率は例年と同様、ABPCの耐性率が最も高く、次いでNA、TC、ST合剤の順であった。フルオロキノロン系薬剤に対する耐性率は2021年の14.1%と比較して2022年は9.1%と減少した。セフェム系薬剤耐性率は4.2%であり、例年と同様の傾向であった。プラスミド性コリスチン耐性遺伝子陽性株は3株で、いずれも *mer-1* 陽性株であった。*mcr* 保有大腸菌が健康者からも広く検出されることが明らかとなったことから、今後は遺伝子解析等詳細な解析を実施することで感染ルート等を明らかにする必要がある。

2022年に搬入された国産鶏肉109検体中、大腸菌が検出されたのは94検体(92.2%)、輸入鶏肉では32検体中30検体(93.8%)であった。国産由来株で耐性率が高かった薬剤はKM、SMで、輸入肉由来株の方が高かった薬剤はABPC、CTX、GM、NAであった。国産由来株のCTX耐性率は2012年が10.4%であったが、2019年以降は1.0~2.4%の間で推移している。プラスミド性コリスチン耐性遺伝子は国産由来の1食品(鶏たたき)2株から検出された。遺伝子型は全て *mcr-1* であった。

2022年に分離されたヒト由来サルモネラは78株(28血清型)、食品由来株は94株(10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であり、薬剤耐性率は食品由来株の方が高かった。

今後も引き続き、薬剤耐性菌の変化や拡大傾向などを継続的にモニタリングし、動向を注視していくことが重要である。

A. 研究目的

薬剤耐性菌は全人類にとって最も重大な脅威であり、世界中で緊急に取り組まなければならない重要課題として挙げられている。また薬剤耐性菌対策は、医療現場(ヒト)だけの問題ではなく、食品、動物、環境などを含めたワンヘルスとしての取り組みが必要であるという認識が示された。この共通認識のもと、わが国

では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。

AMR 対策アクションプランの中で示された取り組むべき事項の1つに「動向調査・監視」がある。薬剤耐性菌の変化と特徴、出現状況や拡大傾向を継続的・持続的に監視し、今後起こりうる予兆を的確に捉えることを目的としている。

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し、比較検討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

2021年に都内の病院で分離された *C. jejuni* 42株および *C. coli* 3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 (CPFEX)、エリスロマイシン (EM)、セファロチン (CET) の6薬剤で、方法は、平成30年度の本研究班で検討した統一プロトコルに従って実施した。すなわち、平板は5%馬脱繊維血液加ブルセラ寒天培地を用い、37℃、48時間培養後に阻止円の測定を行った。

2) 微量液体希釈法によるMIC値の測定

2020年に都内病院で分離された散発患者由来の *C. jejuni* 86株および *C. coli* 7株を供試した。供試薬剤はNA, CPFEX, 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℃、24~48時間振とう培養後、培養液をミューラーヒントンブイヨンでMcFarland 0.5となるように希釈し、菌液の調整を行った。希釈した菌液をドライプレートの各ウエルに100μLずつ接種後、微好気条件で37℃、24~48時間培養後、判定を行った。

2. 健康者糞便由来大腸菌の薬剤耐性菌出現状況

1) 供試菌株

2022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264人から分離された大腸菌264株を供試した。これらの菌株を対象に18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

薬剤感受性試験に供試した薬剤はアンピシリン(ABPC)、セフトキシム (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 (CPFEX)、ノルフロキサシン (NFLX)、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18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

2022年に食中毒関連調査のために搬入された国産鶏肉109検体と都内スーパーマーケットで購入した輸入鶏肉32検体(ブラジル産:25検体, タイ産:7検体)を用いた。

2) 大腸菌分離方法

食肉に緩衝ペプトン水(BPW)を加え37℃、18~22時間培養後、XM-G寒天培地(日水製薬)に塗抹分離した。分離平板に発育した大腸菌様集落(1検体当たり2集落)についてTSI寒天、LIM培地で生化学的性状を確認し、典型的な生化学的性状を示すものを大腸菌と判定した。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109検体から分離した208株および輸入鶏肉32検体から分離した49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18薬剤を供試した。

4. 2022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

2022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78株および食品から分離された94株(外国産鶏肉由来を含む)を供試した。集団事例由来株は代表株1株を計上した。

2) 薬剤感受性試験

供試薬剤は大腸菌と同様の18薬剤である。

CTX, CAZ, CFXのいずれかに耐性の株については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

2021年に分離された散発患者由来*C. jejuni* 42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13株(31.0%)であった。2020年分離株と比較すると耐性率は横ばいであった(図1)。一方、*C. coli* 3株のフルオロキノロンおよびNA耐性は3株(100%)であった(図2)。EM耐性株は*C. jejuni*では1株(2.4%)、*C. coli*では1株(33.3%)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(16.7%)、*C. coli*は認められなかった。TC耐性株は*C. jejuni*では10株(23.8%)、*C. coli*では2株(66.7%)であった。

2) 微量液体希釈法によるMIC値の測定

2020年に分離された*C. jejuni* 86株および*C. coli* 7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

35株(40.7%)、*C. coli*では4株(57.1%)であった。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34株(39.5%)、*C. coli*では4株(57.1%)、EM耐性は*C. jejuni*で認められず、*C. coli*で2株(28.6%)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24株(27.9%)、*C. coli*は4株(57.1%)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33株(38.4%)、*C. coli*は4株(57.1%)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

2022年に健康者の糞便から分離された264株を対象に18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121株(45.8%)であった。薬剤別に耐性率をみると、最も耐性率が高かったのはABPCで31.1%、次いでNA 25.8%、TC 22.7%、ST合剤 17.8%であった。CPFX耐性は9.1%、NFLX耐性は8.7%、セフェム系薬剤に対する耐性率は、CTX 3.8%、CFX 1.5%、CAZ 1.1%であった。AMK、IPMおよびMEPMに耐性を示した株は認められなかった(図6)。2022年分離株は2021年分離株と比較してキノロン系薬剤に対する耐性率が減少していた。

2) ESBL産生菌の検出と遺伝子型別試験

第3世代セファロスポリン系薬剤に耐性を示した11株(4.2%)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8株で、AmpC産生株は3株であった。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-8グループが1株、AmpC産生株はDHA型が2株およびCIT型が1株であった(表1)。

3) コリスチン耐性大腸菌の検出

薬剤感受性試験に供試した264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、*mcr-1*保有株が3株認められた(表1)。

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

2022年に搬入された国産鶏肉109検体中、大腸菌が検出されたのは94検体(92.2%)であった。輸入鶏肉では32検体中30検体(93.8%)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208株および輸入由来株49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KM, SM, TC, CPの4薬剤であった。一方、輸入由来株の方が高かったのはABPC, CTX, CAZ, GM, NAの5薬剤で、ST合剤, CPFXおよびNFLXは同程度の耐性率であった(図7)。2021年のABPCは国産由来株の方が耐性率が高かったが、2022年は輸入由来株の方が高かった。

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、2019年以降は1.0~2.4%で推移している。外国産鶏肉では2015年は27.0%の耐性率であったがから2018年は2.8%と減少が認められ、その後3.5%(2020年)から6.6%(2021年)と耐性率は低下していたが2022年は12.2%と耐性率は上昇した。国産由来株のKM耐性率は2018年以降、27.8~37.0%の間で推移しており、横ばい傾向が続いている。輸入鶏肉では27.0%(2015年)から1.6%(2021年)と減少していたが、2022年は8.2%に上昇した。

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。国産由来株のうち2株(1.0%)から*mcr-1*遺伝子が検出された。2株は同じ食品(鶏たたき)由来株であり、供試した国産鶏肉109検体では1検体(0.9%)が陽性であった。

4. 2022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

2022年にヒトから分離されたサルモネラは78株で28の血清型に、食品由来株は94株で10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 11株(14.1%), 07群Braenderup 9株(11.5%), 04群i:- 8株(10.2%), 07群Thompson 7株(9.0%)等であった。一方、食品分離株は04群Schwarzengrundが65株(69.1%)と最も多く分離され、次いで07群Infantis 9株(9.6%), 04群Agona 8株(8.5%)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(41.0%), 食品由来株では82株(87.2%)と食品由来株の方が耐性率は高かった。

供試したサルモネラ株中、セフェム系薬剤耐性株はヒト由来株で2株、食品由来株で5株検出された。ヒト由来株の血清型は08群Kentuckyおよび021群Minnesota, 食品由来株は04群Typhimurium 1株, 021群Minnesota 4株であった。食品由来株のうち3株はブラジル産鶏肉由来株であった。

CTX耐性株のうち6株を対象にAmpC/ESBL鑑別および遺伝子型別試験を行った。その結果、AmpC産生は5株(全て食品由来)、ESBL産生が2株(全てヒト由来)であり、ESBL産生株の遺伝子型はCTX-M-8グループおよびCTX-M-9グループであった。

D. 考察

2022年に東京都内で発生した食中毒事例は102事例(2022年12月31日現在)で、2021年の83事例より1.23倍に増加していた。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(18.6%)で、最も重要な食中毒起因菌となっている。

2021年に都内の病院で分離された散発患者由来*C. jejuni* 42株のうちフルオロキノロンに耐性を示したのは13株(31.0%)であった。2020年分離株の31.4%と比較すると耐性率は横ばいで推移しており、過去10年間の中でも低い耐性率であった。

一方、*C. coli* 3株のフルオロキノロン耐性は3株(100%)であったが、供試菌株数が少ないことが影響していると考えられるため、菌株数の確保が課題である。

治療の第一選択薬であるEM耐性率は*C. jejuni*が2.4%, *C. coli*が33.3%であり、例年同様に*C. coli*の方が耐性率は高かった。

2020年分離の*C. jejuni*株を対象として5薬剤(NA, CPFX, LVFX, EM, ABPC)についてMICの測定を行った。CLSIに判定基準が記載されていないNA, LVFX, ABPCについては生物学的ブレイクポイントを設定することを試みたが、NAとABPCはMICの分布が二峰性にならず、設定は不可能であった。NAに対するMIC値は、34株(40.7%)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38.4%, *C. coli*では57.1%であった。いずれの菌種もフルオロキノロン耐性率は減少していた。

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45.8%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ABPC(31.1%)、NA(25.8%)、TC(22.7%)、ST合剤(17.8%)で、過去の耐性率と比較すると同様の傾向であった。2021年はキノロン系薬剤に対する耐性率が高く、特にフルオロキノロン系薬剤に対する耐性率は14.1%であったが、2022年分離株は9.1%と減少しており、例年とほぼ同様の傾向であった。セフェム系薬剤に対する耐性率は3.8%で2019年以降減少傾向であるが、今後の動向を注視していく必要がある。

2022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3株認められた。プラスミド性コリスチン耐性遺伝子を保有する大腸菌は、健康人の中にも広がっていることが明らかとなった。

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異なる耐性傾向であることが明らかとなった。中でもKM耐性率は国産肉由来株では31.7%であるのに対し輸入肉由来株では8.2%と低い耐性率であった。一方、ABPCでは国産肉由来株が37.5%に対し、輸入肉由来株で59.2%、CTX耐性は国産肉由来株では1.4%に対し輸入肉由来では12.2%と国産肉由来株で低い傾向を示した。このような耐性率の差が生じる原因は明らかではないが、飼育環境や輸入状況(冷凍流通等)が関与していると考えられる。

例年GMは輸入肉由来株の方が耐性率が高い傾向を示している。しかし年次推移をみると2018年19.4%、2019年13.2%、2020年21.0%、2021年8.2%、2022年8.2%と数年間で耐性率は著しく低下していた。今後も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。一方輸入肉由来株では2018年以降2.8~6.6%で推移していたが、2022年は12.2%と上昇していた。

2022年に分離されたヒト由来サルモネラは78株、食品由来株は94株で、2021年と比較して分離数は多くなった。しかし2019年以前と比較すると半数程度であることから、依然として新型コロナウイルス感染症の影響によって

外食の自主や医療機関への受診を控えるなどが生じているものと推定された。

ヒト由来株は28血清型、食品由来は10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11株(14.1%)、食品由来株では65株(69.1%)を占めていた。供試した18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41.0%、食品由来株では87.2%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耐性株は、ヒト由来株2株、食品由来株は5株であった。食品由来株6株のうち3株はブラジル産鶏肉由来であった。血清型は021群Minnesotaが5株、04群Typhimuriumおよび08群Kentuckyが各1株であった。

フルオロキノロン耐性はヒト由来株1株のみであった。

2022年は、2021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

2021年に分離された散発患者由来*C. jejuni* 42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13株(31%)であった。2020年分離株と同様に耐性率の上昇は認められず、過去10年間の中では最も低かった。一方、*C. coli* 3株のフルオロキノロンおよびNA耐性は3株(100%)であった。EM耐性株は*C. jejuni* 1株(2.4%)、*C. coli* 1株(33.3%)認められた。例年の傾向と同様に、*C. jejuni*のEM耐性率は数%で推移していた。*C. coli*では*C. jejuni*よりも高い傾向で推移しているが、供試菌株数が少ないことも影響していると考えられた。

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45.8%で耐性率は横ばい傾向であった。薬剤別耐性率は例年と同様、ABPCの耐性率が最も高く、次いでNA、TC、ST合剤の順であった。2021年分離株はNAの耐性率が高く、耐性率は30%を超えていたが、2022年分離株は25.8%とやや減少した。更にフルオロキノロン系薬剤に対する耐性率も2021年の14.1%と比

較して2022年は9.1%と減少した。セフェム系薬剤耐性率は4.2%であり、例年と同様の傾向であった。今後の動向に注視していく必要がある。2022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3株で、いずれも *mer-1* 陽性株であった。プラスミド性コリスチン耐性株が健康者由来株からも広く検出されることが明らかとなったことから、今後は遺伝子解析等詳細な解析を実施することで感染ルート等を明らかにする必要がある。

2022年に搬入された国産鶏肉109検体中、大腸菌が検出されたのは94検体(92.2%)。輸入鶏肉では32検体中30検体(93.8%)であった。国産由来株で耐性率が高かった薬剤はKM, SMで、輸入肉由来株の方が高かった薬剤はABPC, CTX, GM, NAであった。国産由来株のCTX耐性率は2012年が10.4%であったが以降減少し、2019年以降は1.0~2.4%の間で推移している。プラスミド性コリスチン耐性遺伝子保有は国産由来の1食品(鶏たたき)2株から検出された。遺伝子型は全て *mcr-1* であった。

2022年に分離されたヒト由来サルモネラは78株(28血清型)、食品由来株は94株(10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 であり、薬剤耐性率は食品由来株の方が高かった。

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。

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) Noriko Konishi, Hiromi Obata, Keiko Yokoyama, Kenji Sadamasu and Akemi Kai :Comparison of the serotypes and the characteristics of *Salmonella* isolated from human feces and foods in the 1990s and the 2010s in Tokyo: Jpn J Infect Dis., 76, 14-16, 2023

2. 学会発表

1) 和田紀乃, 小西典子, 前田雅子, 小野明日香, 村上昂, 小林甲斐, 神門幸大, 横山敬子, 貞升健志:健康者糞便および鶏肉から分離した大腸菌の薬剤耐性菌出現状況と分離株の解析:第118回日本食品衛生学会学術講演会, 2022年11月10日~11日, 長崎市.

2) 小西典子, 和田紀乃, 前田雅子, 小野明日香, 村上昂, 浅山睦子, 横山敬子, 貞升健志:健康者糞便から分離された第三世代セファロスポリン耐性およびプラスミド性コリスチン耐性遺伝子保有大腸菌の解析:第34回日本臨床微生物学会, 2023年2月3日~5日, 横浜市.

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）

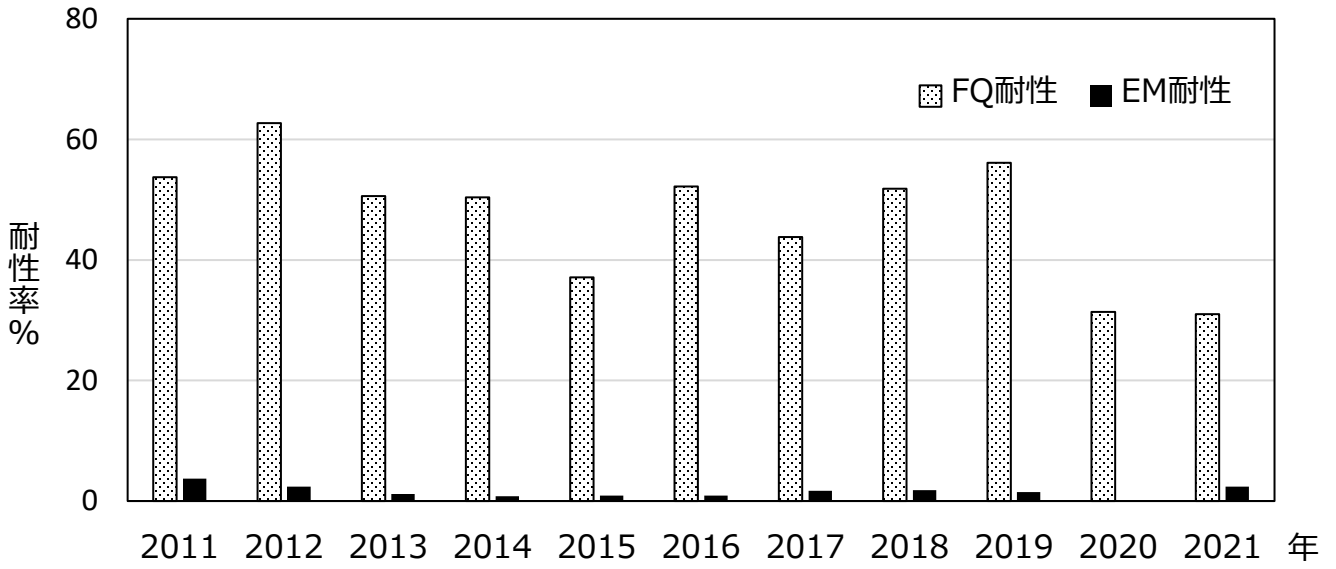


図2. 散発患者由来*C. coli*の薬剤耐性菌出現状況（東京都）

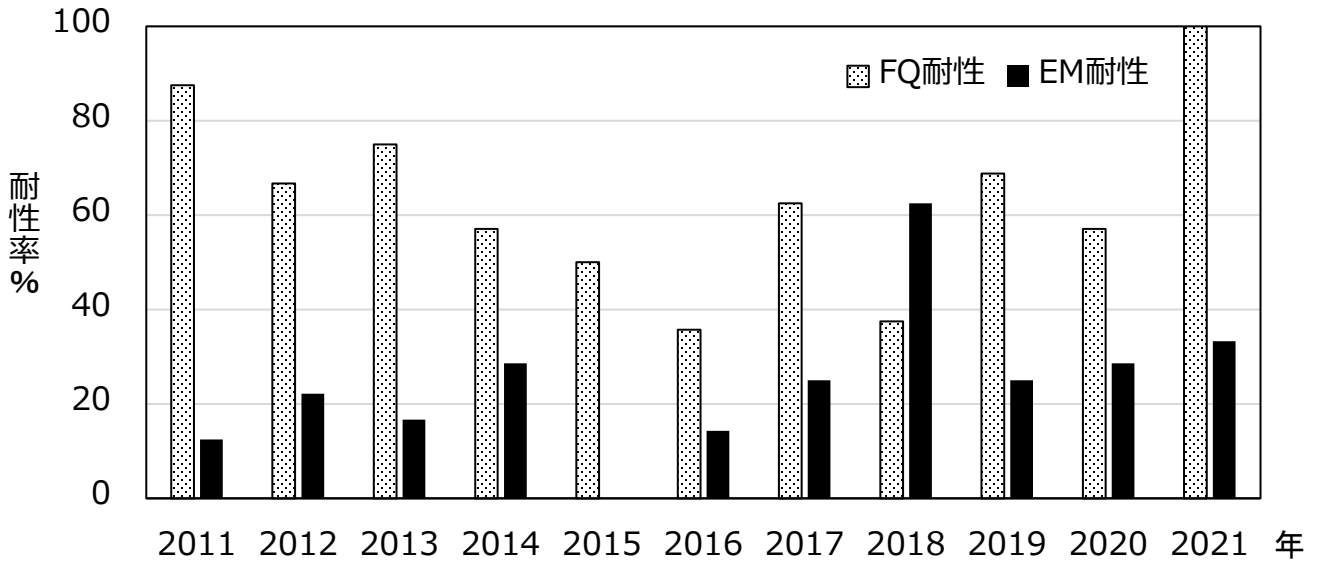


図3. 散発患者由来*C. jejuni* のMIC値 (2020年, 東京都)

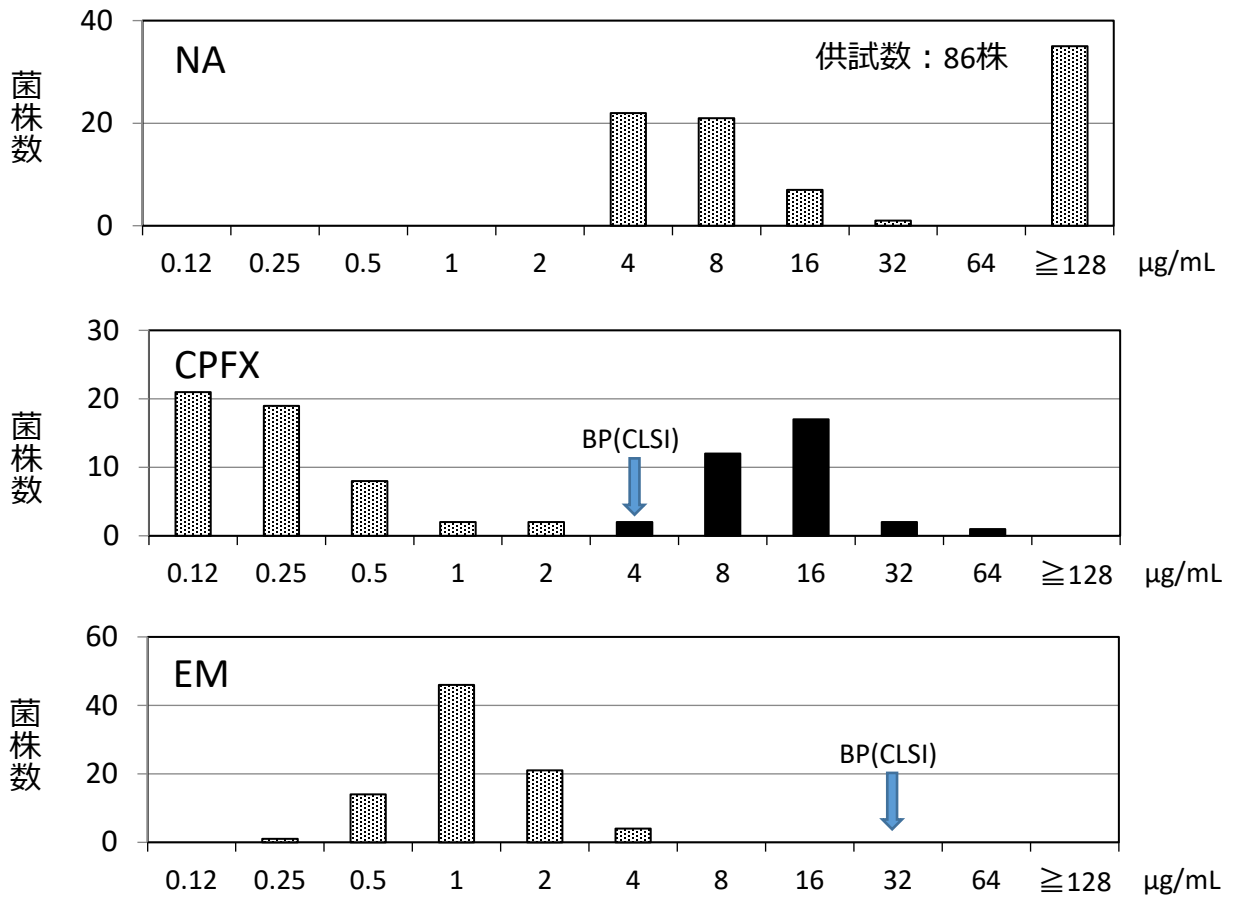


図4. 散発患者由来*C. coli* のMIC値 (2020年, 東京都)

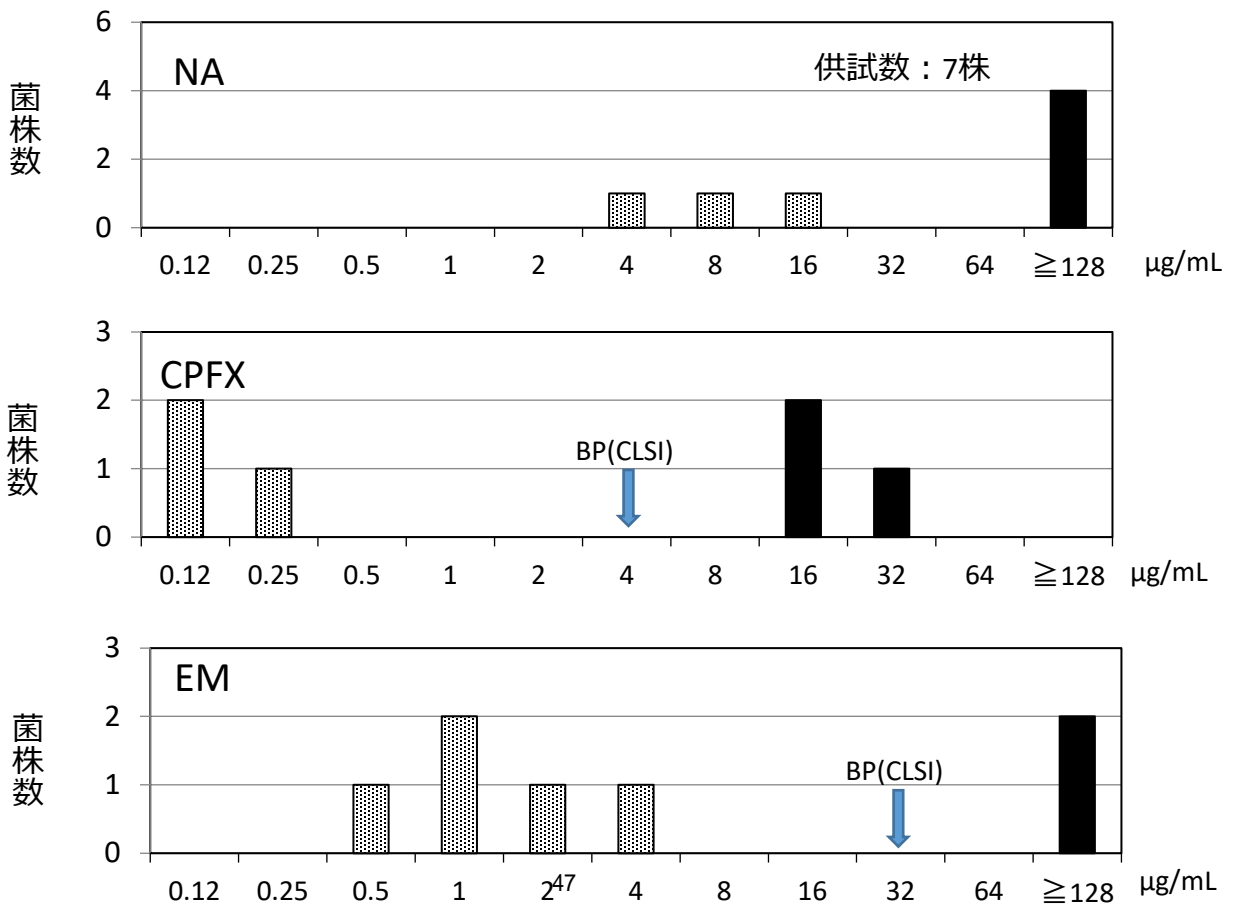


図5. 散発患者由来*C. jejuni* / *coli*のABPCに対するMIC値

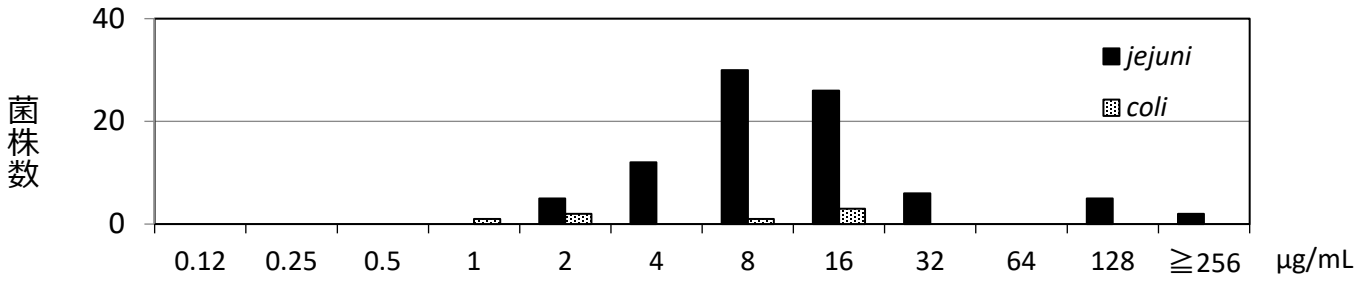


図6. 健康者由来大腸菌の薬剤別耐性菌出現状況（2020年2021年，東京都）

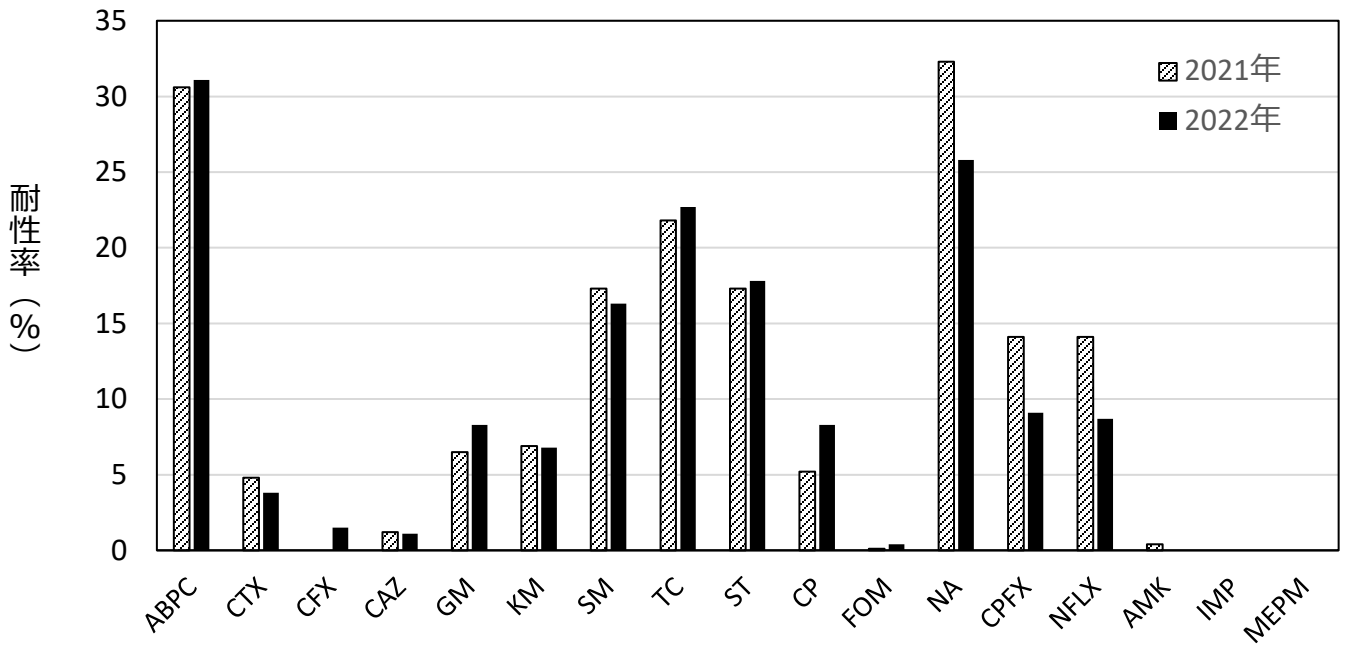


表1. 健康者糞便由来大腸菌のESBL/AmpC産生菌および*mcr* 遺伝子検出状況

年	供試数	セフェム系耐性数	%	ESBL	AmpC	<i>mcr</i> 遺伝子
2021年	264	11	4.2	8*	3	3

ESBL : CTX-M-1グループ ; 6株, CTX-M-8グループ ; 1株, 検討中 ; 1株
 AmpC : DHA ; 2株, CIT ; 1株

表2. 市販鶏肉からの大腸菌検出数と薬剤感受性試験供試数（2022年）

検体	検体数	大腸菌陽性	%	供試集落数
国産鶏肉	109	94	92.2	208
輸入鶏肉	32	30	93.8	49

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）

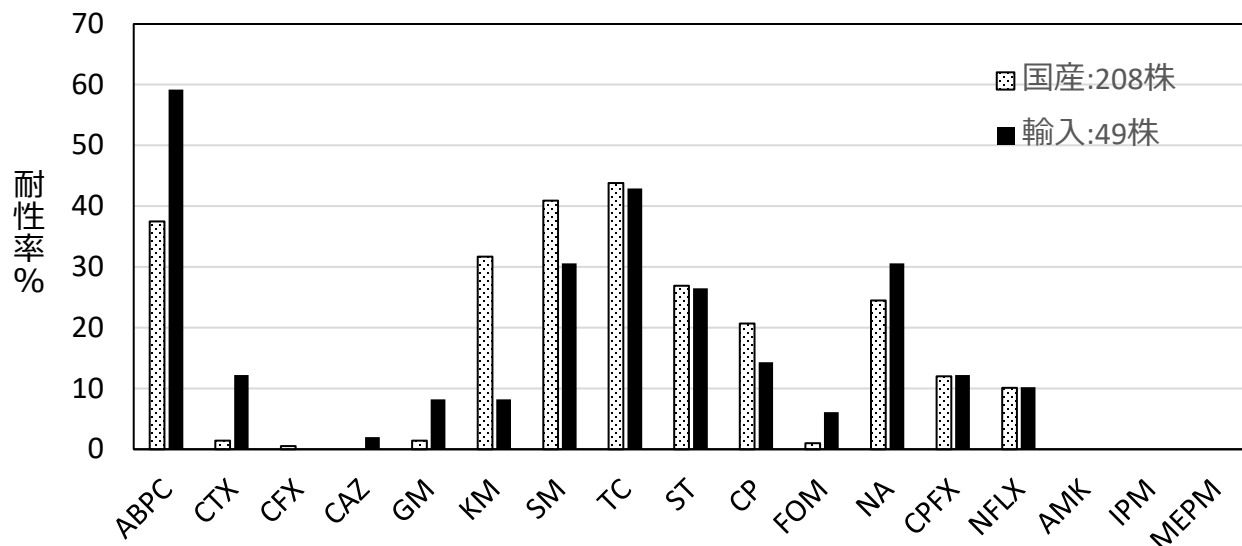


表3. 市販鶏肉由来大腸菌のCTXおよびKM耐性率の年次変化

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
	2022	1.4	31.7
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
	2022	12.2	8.2

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（2022年）

由来	食品数			菌株数		
	供試数	陽性数	%	供試数	陽性数	%
国産	109	1	0.9	208	2*	1.0
輸入	32	0		49	0	

* *mcr-1* : 2株 (鶏たたき)

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			
O群	血清型	菌株数	%
O4	Schwarzengrund	11	14.1
O7	Braenderup	9	11.5
O4	i : -	8	10.2
O7	Thompson	7	9.0
O4	Typhimurium	5	6.4
O7	Oranienburg	4	5.1
O8	Manhattan	4	5.1
O9	Enteritidis	4	5.1
O4	Agona	2	2.6
O4	Chester	2	2.6
O4	Stanley	2	2.6
O7	Infantis	2	2.6
O8	Newport	2	2.6
O21	Minnesota	2	2.6

ヒト由来株：78株 28血清型
 （集団事例 は代表1株を計上）

食品由来株			
O群	血清型	菌株数	%
O4	Schwarzengrund	65	69.1
O7	Infantis	9	9.6
O4	Agona	8	8.5
O4	i : -	3	3.2
O21	Minnesota	4	4.3
O4	Typhimurium	1	1.1
O4	Heidelberg	1	1.1
O8	Manhattan	1	1.1
O8	Hadar	1	1.1
OUT	r:1,5	1	1.1

食品由来株：94株 10血清型
 （外国産鶏肉由来株を含む）

表6. セフェム系抗菌薬耐性サルモネラの性状（2022年分離株）

No.	由来	O群	血清型	ESBL /AmpC	薬剤耐性パターン
1	ヒト	O8	Kentucky	ESBL ¹⁾	ABPC, CTX, NFLX, CFX, NA, ST, CP, TC
2	ヒト	O21	Minnesota	ESBL ²⁾	ABPC, CTX
3	つみれ	O21	Minnesota	AmpC	ABPC, CTX, KM, NA, CAZ, CFX, TC
4	ブラジル産鶏肉	O21	Minnesota	AmpC	ABPC, CTX, KM, NA, CAZ, CFX, TC
5	ブラジル産鶏肉	O21	Minnesota	AmpC	ABPC, CTX, KM, NA, CAZ, CFX, TC
6	ブラジル産鶏肉	O21	Minnesota	AmpC	ABPC, CTX, KM, NA, CAZ, CFX, TC
7	ふたご盛り	O4	Typhimurium	AmpC	ABPC, CTX, NA, CAZ, CP, SM, TC

1) CTX-M-9グループ

2) CTX-M-8グループ

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

分担課題名：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、国内11カ所の自治体(食肉衛生検査所)、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327検体(国産鶏肉220検体、輸入鶏肉107検体)を収集し、順次解析を開始した。
- 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、2022年2月から3月にかけて収集(2021年度収集)した国内産鶏肉126検体(A県36検体、B県40検体、C県30検体、D県20検体)、および輸入鶏肉74検体(ブラジル59検体、タイ11検体、米国4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。2022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60検体(48%)から、輸入鶏肉検体16検体(22%)からそれぞれ検出された。ESBLの耐性型はCTX-Mが主であり、国内産鶏肉由来株はCTX-Mが多かった。*fonA*陽性(染色体性ESBL)*S. fonticola*が国内産鶏肉3検体(B県産)および輸入鶏肉5検体(ブラジル産)から検出された。国内産鶏肉4検体(C県産)からAmpC産生*Salmonella*属菌が検出された。AmpCの耐性型はCITが主であった。CREとしてB県産鶏肉1検体からIPM低度耐性*S. fonticola*株が分離されたが、耐性遺伝子は不明であった。コリスチン耐性株として環境菌の*Aeromonas jandaei*(非腸内細菌科)が検出され、耐性遺伝子として*eptA*(染色体性*mcr*類似遺伝子)を保持していた。薬剤耐性腸球菌に関しては、VanN型VRE株が国産鶏肉5検体(4%)(B県1検体、C県2検体、D県2検体)から検出された。リネゾリド耐性腸球菌(*optrA*陽性株)が国産鶏肉7検体(6%)(B県4検体、C県1検体、D県2検体)及び輸入鶏肉1検体(ブラジル産)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、及び米国を除く他の輸入鶏肉検体から検出された(分離頻度;国内産59%、輸入鶏肉38%)。

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細菌(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細菌は環境(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細菌の調査・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に関する耐性機序の解析、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)：2022 年 2 月から 3 月 (2021 年度収集検体) にかけて、国内産食肉として国内 4 ヶ所の食肉検査所から鶏肉合計 126 検体 (A 県 36 検体、B 県 40 検体、C 県 30 検体、D 県 20 検体) を収集した。また同時期に海外食肉は各年度に検査所で取り扱う輸入鶏肉合計 74 検体 (ブラジル産 59 検体、タイ産 11 検体、米国产 4 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 Terminator 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*, *flexA*, *flexB*, 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 Terminator 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 Terminator 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)今年度は全国 11 カ所の自治体（食肉衛生検査所）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。2023 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内産鶏肉 220 検体、及び輸入鶏肉 107 検体（ブラジル産検体、タイ産 検体、米国产 検体）の合計 327 検体を収集した。これらの鶏肉検体について順次、解析を開始した（2023 年度に解析を継続中）。

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

2022 年 2 月から 3 月にかけて収集した国内産鶏肉 126 検体（A 県 36 検体、B 県 40 検体、C 県 30 検体、D 県 20 検体）、および輸入鶏肉 74 検体（ブラジル 59 検体、タイ 11 検体、米国 4 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）。

① ESBL 産生菌/AmpC 産生菌の検出

国産及び輸入鶏肉検体全体での ESBL 産生菌/AmpC 産生菌は 76 検体陽性（38.0%）で、国産鶏肉のみでは 60 検体陽性（47.6%）、輸入鶏肉のみでは 16 検体陽性（21.6%）であった。ESBL 産生菌は検体全体では 47 検体（23.5%）が陽性であった。一方、AmpC 産生菌は検体全体で 32 検体（16.0%）が陽性であった（表 2、表 7）。それらの分離頻度は、昨年度及び一昨年度と比較し、ESBL 産生菌は低く、AmpC 産生菌はやや高かった（昨年度は ESBL 産生菌 44.2%、AmpC 産生菌 9.5%の検出率、一昨年度は ESBL 産生菌 32.5%、AmpC 産生菌 9.6%）。

ESBL 産生菌は国産鶏肉と輸入鶏肉から同程度の頻度で検出され（国産 32 検体：25.4%、輸入 15 検体：20.2%）、昨年度までの国内産の検出頻度がやや高い傾向とは異なっていた（昨年度は国内産 86.0%、輸入 22.7%、一昨年度は国内産 39.4%、輸入 28.8%）（表 3、表 7）。一方、AmpC 産生菌の検出率は国産 24.6%（31 検体）、輸入 1.4%（1 検体）と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 20.0%、輸入食肉が 4.1%、一昨年度は国内産が 4.2%、輸入食肉が 12.1%）（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、ブラジル産の ESBL 産生株の検出頻度は高かった（25.4%）（表 8）。耐性菌の遺伝子型の解析から、ESBL 産生菌は国産肉由来 43 株では CTX-M 型（86%）と FONA 型（9%）が多く、輸入肉由来 16 株では CTX-M 型（63%）と FONA 型（31%）が多かった（表 4、表 9）。CTX-M 型遺伝子として国内産では主に M2 型グループと M9 型グループが分離された。特に B 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（表 4）。輸入食肉では CTX-M55 型と M2 型が最も多く、続いて CTX-M8 型が分離された（表 9）。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 9）。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 2 検体から検出された（表 9）。

ESBL 産生および AmpC 産生の輸入鶏肉由来 17 株（16 検体から分離）および国内産鶏肉由来 85 株（60 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 5 検体由来 6 株（35%）及び国内産鶏肉 4 検体由来 5 株（6%）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。これらの伝達株は輸入鶏肉由来の 6 株は全て CTX-M 型 ESBL 産生菌であり、一方、国産鶏肉由来は AmpC 産生菌が 3 株、CTX-M 型 ESBL 産生菌が 2 株であった。輸入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、IncI 型 3 株、IncN 型 3 株であった。国内産鶏肉由来耐性伝達株は IncA/C 型 1 株、IncFIB 型 3 株、IncB・IncK・Frep の 3 つの PCR 陽性の型が 1 株であった。

ESBL 産生株、AmpC 産生株（国内 85 株、国外 17 株、合計 102 株）の菌種としては *Escherichia coli* が最多であった（87 株 85.3%）（表 6、表 10）。今回の解析で、*Salmonella* 属菌 5 株（6%）が初めて国内 C 県産の食肉 4 検体から分離された（表 6）。これらの 5 株は全て AmpC 産生菌で CIT(CMY-2)型株であった（図 1）。PFGE 解析からこれらはクローナル株であることが明らかとなった（図 1）。また国内産鶏肉 3 検体から *Serratia fonticola* が 4 株（5%）初めて分離された（表 6）。また国内産鶏肉からは（通常 37℃では発育しない）低温性環境菌の *Rahnella* spp. が 1 株分離された。一方、国外産（輸入）からは *E. coli* の他に *Serratia fonticola* が 5 株分離された（表 9）。

2017 年、2018、2019、2020 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 3）。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、表 12）。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 2、図 3）。

② CRE の検出

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

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* 遺伝子を有する大腸菌及び腸内細菌科細菌は検出されなかった。一方で、コリスチン耐性の *Aeromonas jandaei*（環境菌で非腸内細菌科細菌）が分離された。PCR 法と塩基配列の決定からこの耐性株は *mcr-3* や *mcr-7* に類似のコリスチン耐性遺伝子である *eptA*（染色体性）を保持していることが明らかとなった。この株のコリスチン耐性は伝達性を示さなかったが、この染色体性 *eptA* はコリスチン耐性遺伝子のリザーバーとなることが危惧されている。

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；4-6 mg/L）を国産鶏肉 126 検体のうち 6 検体から 12 株を検出した（図 5、表 12）。そのうち B 県産 1 検体（2 株）、C 県産 2 検体（4 株）及び D 県産 2 検体（4 株）からの分離株は VanN 型 VRE で、全て *E.*

faecium 株であった（図 5）。他の B 県産鶏肉 1 検体から分離された 2 株は *vanC2* を保持する *E. casseliflavus* であった（図 5）。今回、C 県産鶏肉 2 検体及び D 県産鶏肉 2 検体から分離した VanN 型 VRE 株は以前に E 県や D 県で検出された ST669 型の *E. faecium* 株であった（図 7、表 13）。また B 県産鶏肉 1 検体から分離した VanN 型 VRE 株は ST669 型とは *gdh* 遺伝子に 1 塩基置換を持つ新たな allele（136 に登録）及び新規 ST 型（ST2339 に登録）であった。参考として表 14 に過去に国内産鶏肉検体から分離された VanN 型 VRE 株を示す。ST669 及び ST862 に加え、今回の調査では ST669 に近縁株である ST2339 が初めて検出された。⑤ リネゾリド（LZD）耐性腸球菌の検出（図 8～図 12）

昨年度に引き続き今年度も食肉検体から 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 9 検体（B 県産 5 検体、C 県産 1 検体、D 県産 3 検体）と輸入鶏肉 9 検体（ブラジル産）から LZD 低度耐性株（MIC:4-8 mg/L）をそれぞれ 17 株、18 株が検出された（図 8、図 11）。国内産の鶏肉検体から分離された LZD 低度耐性株のうち B 県産 4 検体 8 株、C 県産 1 検体 2 株、D 県産 2 検体 4 株は全て *optrA* 陽性 *fexA* 陽性 *E. faecalis* 株であった（図 8）。他の 2 検体 3 株は耐性型不明であった。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った。また今回の D 県の分離株は 2018 年度と 2020 年度に D 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（図 10）。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 10）。一方、ブラジル産鶏肉 1 検体 2 株の LZD 低度耐性株は *E. faecalis* (*optrA+*, *fexA+*) 株であったが、他の 8 検体 16 株は耐性型不明であった。

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 A 県産 42%、B 県産 58%、C 県産 90%、D 県産 45%、ブラジル産 41%、タイ産 36%、米国産 0% であった。特に国内産鶏肉検体の検出頻度（59%）は輸入鶏肉検体のそれ（38%）よりも高いことが判明した。腸球菌種としては国内外ともに主に *E. faecalis* 又は *E. faecium* であったが、*E. hirae* や *E. durans* も少数だが検出された。

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。今回の調査では、国内産鶏肉の検体採取の次期についてチラー水処理の前か後かを収集時の情報として追加した。この情報から、チラー水処理前後では検出率に差があり、チラー水前の方が耐性菌の分離頻度は比較的高いことが示された。この結果から、次年度以降の調査ではチラー水前の検体を用いた調査の方が養鶏環境中での耐性菌の拡散状況がより正確に把握できると考えられた。

昨年度の調査結果とは異なり、今年度は ESBL 産生菌の検出頻度は国内産鶏肉検体と国外産鶏肉検体とではほぼ同等の分離頻度であった (それぞれ 25.4%、20.3%)。しかし、国内産鶏肉の地域別で見ると、検出頻度に差があり、A 県や D 県では ESBL 産生菌は殆ど検出されなかったが、B 県や C 県では約半数の検体から検出された。一方、AmpC 産生菌の分離頻度は国内 24.6%、国外 1.4% と昨年とは逆であった。また国内でも地域差があり、A 県、B 県、C 県では検体陽性率は約 1 割と低かったが、D 県では 95% と極めて高かった。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。今年度の輸入鶏肉におけるブラジル産の検体数が多く、他の国からの検体が少なかったこともあったが、全ての ESBL 産生株はやはりブラジル産由来であった。

過去 3 年間の調査において、輸入鶏肉 (タイ産、ブラジル産、米国产) から *fonA* を保持する同菌種が継続的に検出されたが、今年度も ESBL 産生菌として、染色体性に *fonA* 遺伝子を保持する *Serratia fonticola* がブラジル産鶏肉から検出された。さらに今年度は B 県の国産鶏肉からも *fonA* 遺伝子を保持する *Serratia fonticola* が初めて検出された。近年、国外だけでなく国内の養鶏環境中にも *Serratia fonticola* が拡散していることが示された。

今回の調査で、国内産鶏肉 4 検体 (C 県産) から AmpC 産生 *Salmonella* 属菌 5 株が検出された。これまでに他の調査報告では食肉からの ESBL/AmpC 産生多剤耐性 *Salmonella* 属菌の検出報告はあるものの、我々の本調査では初めての検出であった。これらはチラー水処理前の検体からの検出であり、また 5 株は全て同一のクローン株であったことから、この養鶏環境中に定着株である

ことが推察された。菌種同定から、これらの株は血清型 Schwarzengrund であった。本血清型 *Salmonella* 属菌は国産鶏肉由来の食中毒菌として増加傾向にあり、国内養鶏環境における今後の本菌種が多剤耐性化が危惧される。

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、今年度の検体からは VanA 型や VanB 型などのバンコマイシン高度耐性株は検出されなかった。一方、これまでの調査で国内産鶏肉検体からバンコマイシン中等度耐性 VanN 型の VRE (*E. faecium*) がしばしば検出されている。昨年度は VanN 型 VRE (*E. faecium*) が C 県産鶏肉 3 検体と D 県産鶏肉 1 検体から検出された。今年度も昨年に引き続き、C 県産及び D 県産鶏肉から VanN 型 VRE 株が検出された。さらに今年度は B 県産鶏肉からも初めて VanN 型 VRE 株が検出された。PFGE 解析及び MLST 解析から、今回、C 県産と D 県産鶏肉から分離された VRE 株は、過去に C 県や D 県および E 県産鶏肉から分離されている ST669 型株であった。これまでの調査で、全国的に 2 系統 (ST669 型及び ST862 型) の VanN 型 VRE 株が養鶏環境中に拡散していることが確認されているが、近年は ST669 型が優位であると考えられた。今回、新たに B 県から分離された株は、ST669 とは 1 塩基置換を持つ派生株であった。1 検体からの派生株 (置換変異株) の分離ではあるが、この結果から、起源が同一の VanN 株 (ST669) が養鶏環境中に伝播拡散する過程において、遺伝子変異が蓄積され派生株が出現するだけの時間経過があったことが推測された。

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、特に外来性耐性遺伝子の獲得による高度耐性株が注目されている。なかでも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。今回の調査では *cfr* 遺伝子陽性の高度耐性株は検出されなかったが、LZD 低度耐性腸球菌 (*E. faecalis*) が国内外の鶏肉検体から分離された (国内 9 検体 17 株、輸入 9 検体 18

株)。そのうちB県4検体、C県1検体、D県2検体、およびブラジル産鶏肉1検体から *optrA* 陽性 *fexA* 陽性 *E. faecalis* 株が分離された。PFGE 解析から、地域毎にこれらは互いに近縁株であることが示された。さらに、今回分離されたD県産由来株は過去の調査研究で2018年度と2020年度に収集したD県産鶏肉から分離された *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、この株がクローナルにD県内の養鶏環境中に拡散し、長期間定着していることが示された。これまでの調査結果からは、食肉処理過程での何らかの共通する汚染源の存在も考えられたが、基本的には選択圧が存在しない施設内での長期間定着は考えにくく、地域の養鶏環境中での耐性菌の拡散、定着が強く推測される。今後も食肉由来 LZD 耐性株としてプラスミド性耐性遺伝子である *optrA* 陽性 *fexA* 陽性 LZD 低度耐性腸球菌 (*E. faecalis*) 株の動向、他の耐性(遺伝子)との関連性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。図10に示すように、これらの LZD 耐性腸球菌株の多くは多剤耐性であり、養鶏環境中での抗菌薬による曝露(選択圧の存在、選択的増加)、および他の耐性遺伝子との関連性も強く示唆されるために注意が必要であろう。

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(分離頻度;国内産 59%、輸入鶏肉 38%)、バシトラシン使用の影響が伺えた。菌種として主に *E. faecium* と *E. faecalis* が検出されたが、一部は *E. hirae* や *E. durans* も分離された。図16で示されるように、*bcr* 陽性 BC 耐性株の多くが多剤耐性であることから、LZD 耐性株同様に、他の耐性遺伝子との関連性が推察された。

E. 結論

食肉由来多剤耐性菌として、2021年度(2022年3月)に収集した国内産鶏肉検体の約5割、輸入産鶏肉検体の約2割からESBL産生/AmpCの腸内細菌科菌(主に大腸菌)が検出された。ESBL産生菌として国内外の鶏肉検体から *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(分離頻度9%)。国内外の鶏肉検体の約半数から *bcr* 陽性の高度バシトラシン耐性腸球菌が分離された。

F. 健康危険情報

特になし。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Hirakawa H, Suzue K, Uchida M, Takita A, Kamitani W, Tomita H. A Macroporous Magnesium Oxide-Templated Carbon Adsorbs Shiga Toxins and Type III Secretory Proteins in Enterohemorrhagic Escherichia coli, Which Attenuates Virulence. *Front Microbiol.* 13:883689. (2022)
- 2) Hirakawa H, Kimura A, Takita A, Chihara S, Tanimoto K, Tomita H. Adsorption of extracellular proteases and pyocyanin produced by *Pseudomonas aeruginosa* using a macroporous magnesium oxide-templated carbon decreases cytotoxicity. *Curr Res Microb Sci.* 3:100160. (2022)
- 3) Kurushima J, Tomita H. Advances of genetic engineering in streptococci and enterococci. *Microbiol Immunol.* 66(9):411-417. (2022)
- 4) Suzuki M, Hashimoto Y, Hirabayashi A, Yahara K, Yoshida M, Fukano H, Hoshino Y, Shibayama K, Tomita H. Genomic Epidemiological Analysis of Antimicrobial-Resistant Bacteria with Nanopore Sequencing. *Methods Mol Biol.* 2632:227-246. (2023)
- 5) Hashimoto Y, Suzuki M, Kobayashi S, Hirahara Y, Kurushima J, Hirakawa H, Nomura T, Tanimoto K, Tomita H. Enterococcal Linear Plasmids Adapt to Enterococcus faecium and Spread within Multidrug-Resistant Clades. *Antimicrob Agents Chemother.* e0161922. (2023)

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

(様式A8)研究報告書・菅井基行(21KA1004)【別添】分担者用 追加資料

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4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)

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)

	C県	E県	A県	B県	D県	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:神戸検疫所27検体、横浜検疫所47検体)

	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

*2021年度(2022年2月～3月)収集、2022年度解析(本報告書の結果)

**チラー水処理後採取の20検体を含む(他の国内鶏肉106検体は全てチラー水処理前に採取)

表 2. ESBL/AmpC産生菌陽性検体数（国産鶏肉）

地域（検体数）	耐性菌陽性検体（％）
A県（36）	5（13.9％）
B県（40）	18（45.0％）
C県（30）	18（60.0％）
D県（20）	19（95.0％）
合計（126）	60（47.6％）

ESBL産生菌とAmpC産生菌が同時に分離された検体や、異なるESBLを産生する株が同時に分離された検体があった

表3. ESBL/AmpC産生菌陽性検体数(国産鶏肉)

地域(検体数)		耐性菌陽性検体(%)	
A県(36)	ESBL or AmpC	5	13.9 %
	ESBL	1	2.8 %
	AmpC	4	11.1 %
B県(40)	ESBL or AmpC	18*	45.0 %
	ESBL	16	40.0 %
	AmpC	4	10.0 %
C県(30)	ESBL or AmpC	18*	60.0 %
	ESBL	15	50.0 %
	AmpC	4	13.3 %
D県(20)	ESBL or AmpC	19	95.0 %
	ESBL	0	0 %
	AmpC	19	95.0 %

国産鶏肉126検体のうち、ESBL産生菌が32検体(25.4%)から、AmpC産生菌が31検体(24.6%)から分離された

*2種類の耐性菌が分離された検体がB県由来⁶⁰2検体、C県由来1検体あった(重複)

表4. 国産鶏肉由来ESBL産生43株の遺伝子型別

ESBL	A県(2株)	B県(19株)	C県(22株)	D県(0株)	合計(43株)
CTX-M-1Gp	0	1 (CTX-M-15)	0	0	1
CTX-M-2Gp	1 (CTX-M-2)	6* (CTX-M-2)	19 (CTX-M-2)	0	26*
CTX-M-8Gp	0	0	0	0	0
CTX-M-9Gp	0	9* (CTX-M-14)	2 (CTX-M-65)	0	11*
SHV	1	0	0	0	1
TEM**	0	0	0	0	0
FONA***	0	4	0	0	4
RAHN-1	0	0	1	0	1

*B県由来の1株は2種類のCTX-M遺伝子を同時に持つ耐性株であった

**TEMは他の耐性遺伝子と共存する場合にはESBLではないTEM-1(基本の野生型)であるため、TEM単独保有株以外はESBLとしていない

***国産鶏肉から初めて*S. fonticola*が分離された

表5. 国内産鶏肉由来AmpC産生42株の遺伝子型別

AmpC	A県 (4株)	B県 (5株)	C県 (7株)	D県 (26株)	合計(42株)
CIT	2	2	5	21	30
FOX	2	2	1	0	5
MOX	0	1	0	0	1
型別不明 (non-typable)	0	0	1	5	6

異なるAmpC遺伝子を持つ株が分離された検体がB県とC県にそれぞれ1個あった

表6. 国産鶏肉由来ESBL/AmpC産生85株の菌種

菌種	株数
<i>E. coli</i>	75 (88.2 %)
<i>Salmonella</i> 属	5* (5.9 %)
<i>S. fonticola</i>	4** (4.7 %)
<i>Rahnella aquatilis</i>	1 (1.2 %)

* 検体数は4 **検体数は3

図1. 国内産鶏肉由来*Salmonella*属菌の薬剤感受性試験とPFGE解析

- 4検体(5株)ともC県の同一施設
 - 由来農場、採取日が同じ、チラー前
- PFGE profile (*Xba*I) は同一
- AmpC 遺伝子を持つ (CIT: CMY-2)
- 菌種同定 : 16S rRNA sequence
Salmonella Schwarzengrund
- MLST : ST96

KT	PIPC	CAZ	CAZ+ CVA	CTX	CTX+ CAV	CFX	CFX+ BA	TC	CPF	MEPM	GM	AMK
2651	16	32	16	8	8	16	4	2	≦0.25	≦0.25	0.5	1
2652	16	32	16	4	4	16	2	2	≦0.25	≦0.25	0.5	1
2653	32	32	16	4	4	16	2	1	≦0.25	≦0.25	0.5	1
2654	16	16	32	64	64	>128	64	2	≦0.25	≦0.25	0.5	2
2655	32	16	8	64	64	>128	64	2	≦0.25	≦0.25	0.5	2

KT2651とKT2654は同じ検体に由来

(mg/L)

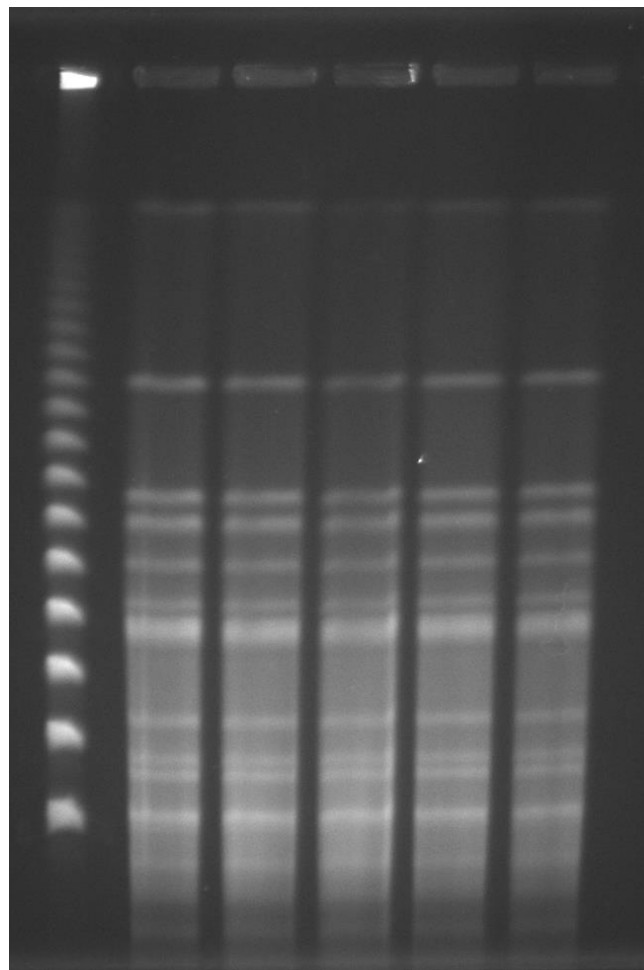


表7. ESBL/AmpC産生菌陽性検体数(輸入鶏肉)

耐性遺伝子	耐性菌陽性検体
ESBL*	15 (20.3 %)
AmpC	1 (1.4 %)
ESBL or AmpC	16 (21.6 %)

* FONAをESBLとして集計

表8. ESBL/AmpC産生菌陽性検体数(輸入鶏肉)

ブラジル (59)	耐性菌陽性検体
ESBL	15 (25.4 %)
AmpC	0
アメリカ (4)	耐性菌陽性検体
ESBL	0
AmpC	0
タイ (11)	耐性菌陽性検体
ESBL	0
AmpC	1 (9.1 %)

表9. 輸入鶏肉由来ESBL産生16株とAmpC産生1株
の遺伝子型別

ESBL	ブラジル	アメリカ	タイ	Total
CTX-M-1Gp	4 (CTX-M-55)	0	0	4
CTX-M-2Gp	4 (CTX-M-2)	0	0	4
CTX-M-8Gp	2 (CTX-M-8)	0	0	2
FONA	5	0	0	5
型別不明 non-typable	1	0	0	1
AmpC				
CIT	0	0	1 (CMY-2)	1

TEMは他の耐性遺伝子と共存する場合にはESBLではないTEM-1(基本の野生型)であるため、TEM単独保有株以外はESBLとしていない

表10. 輸入鶏肉由来ESBL/AmpC産生17株の菌種

菌種	株数
<i>E. coli</i>	12 (70.6 %)
<i>S. fonticola</i>	5 (29.4 %)

表11. *S. fonticola*薬剤感受性試験

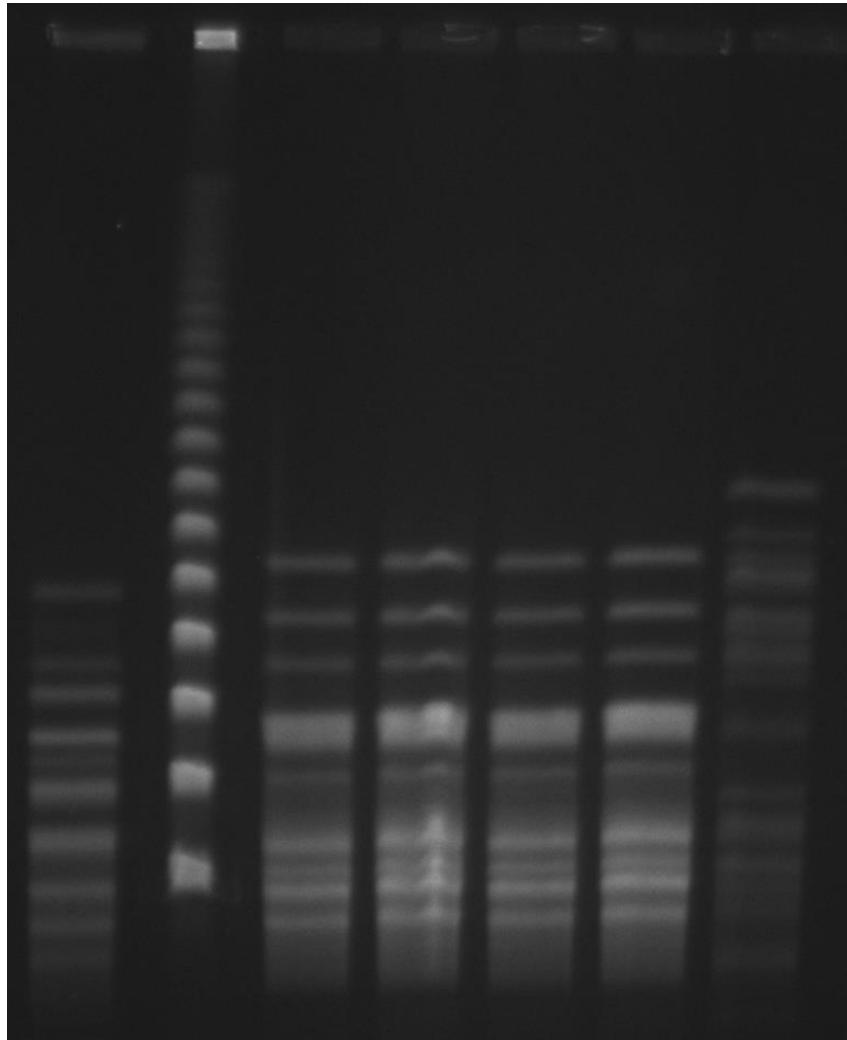
KT#	Label	CAZ	CAZ+CVA 10	CTX	CTX+CVA1 0	IPM	MEPM	TC	GM	AMK	KM	SM	CPFX
2638	21D174	2	2	16	16	1	≦0.125	4	≦0.125	0.5	0.5	0.5	≦0.125
2639	21D175	2	1	16	0.5	1	≦0.125	8	≦0.125	0.5	0.5	0.5	≦0.125
2640	21D176	1	1	16	0.5	1	≦0.125	8	≦0.125	0.5	0.5	0.5	≦0.125
2641	21D177	4	16	64	64	4	2	8	≦0.125	0.5	0.5	1	≦0.125
2645	21F103	2	2	64	1	0.5	≦0.125	4	≦0.125	0.5	0.25	0.5	≦0.125
2646	21F134	4	8	128	2	1	≦0.125	4	0.25	1	0.5	1	≦0.125
2647	21F135	0.5	0.25	16	≦0.125	0.5	≦0.125	4	0.25	0.5	0.5	1	≦0.125
2648	21F170	0.25	0.5	16	0.25	0.5	≦0.125	2	0.25	1	1	1	≦0.125
2649	21F202	0.5	1	4	0.5	1	≦0.125	4	1	4	4	4	0.25

ESBLのphenotype

*S. fonticola*が分離された国内検体は全てB県由来(上段)、輸入検体は全てブラジル由来(下段)であった

*S. fonticola*はAmpC用のmultiplex PCR⁶⁹ですべて陰性であった

図2. *S. fonticola* 国内分離株のPFGE解析



1. 21F202
2. λ ladder
3. 21D174 (#94)
4. 21D175 (#94)
5. 21D176 (#95)
6. 21D177 (#95)

#94 after chiller @R4_2_7
#95 after chiller @R4_2_10

2つの検体の由来農場は異なる

SpeI digest

1 2 3 4 5 6⁷⁰

図3. FONAアミノ酸配列による系統樹

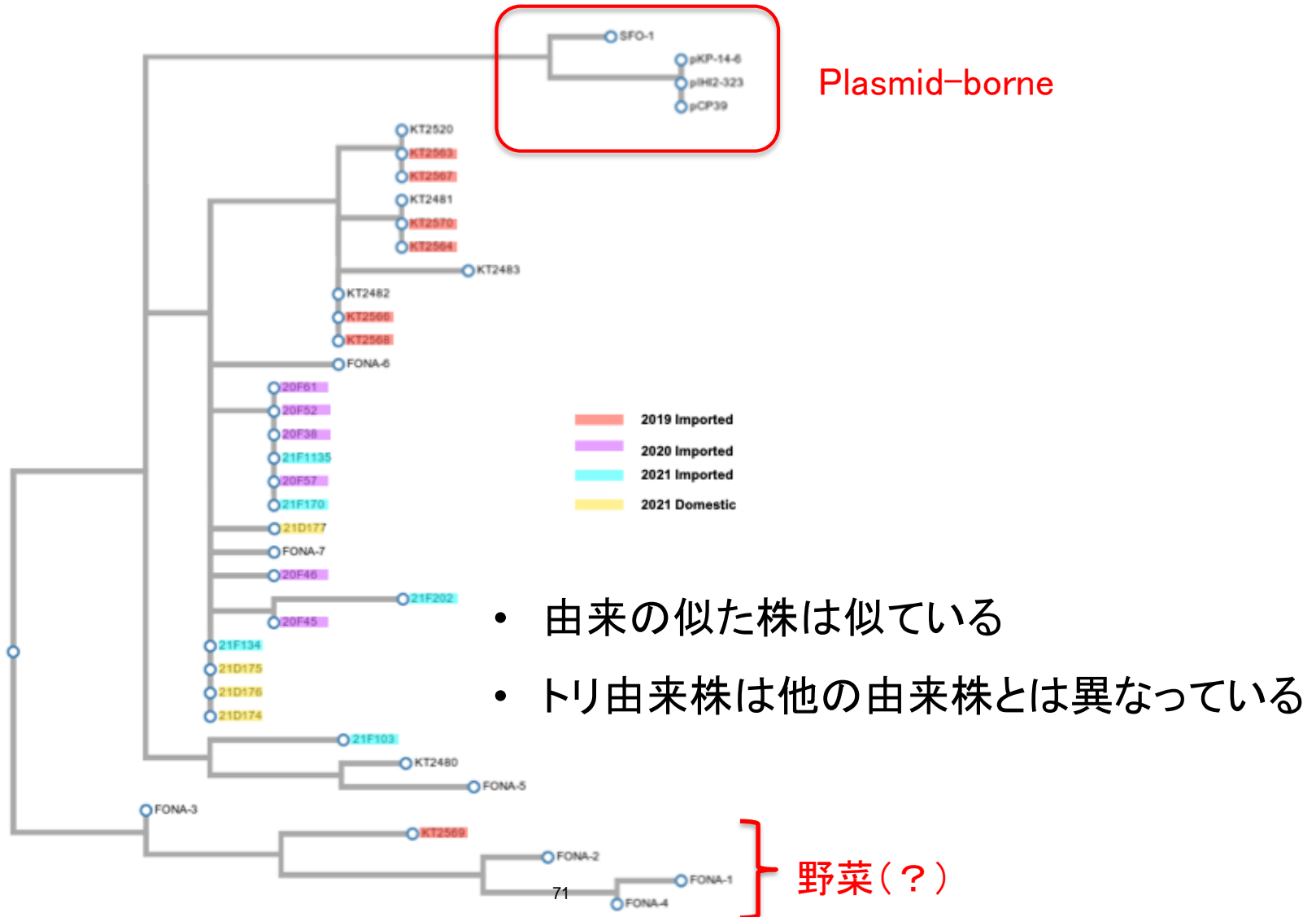
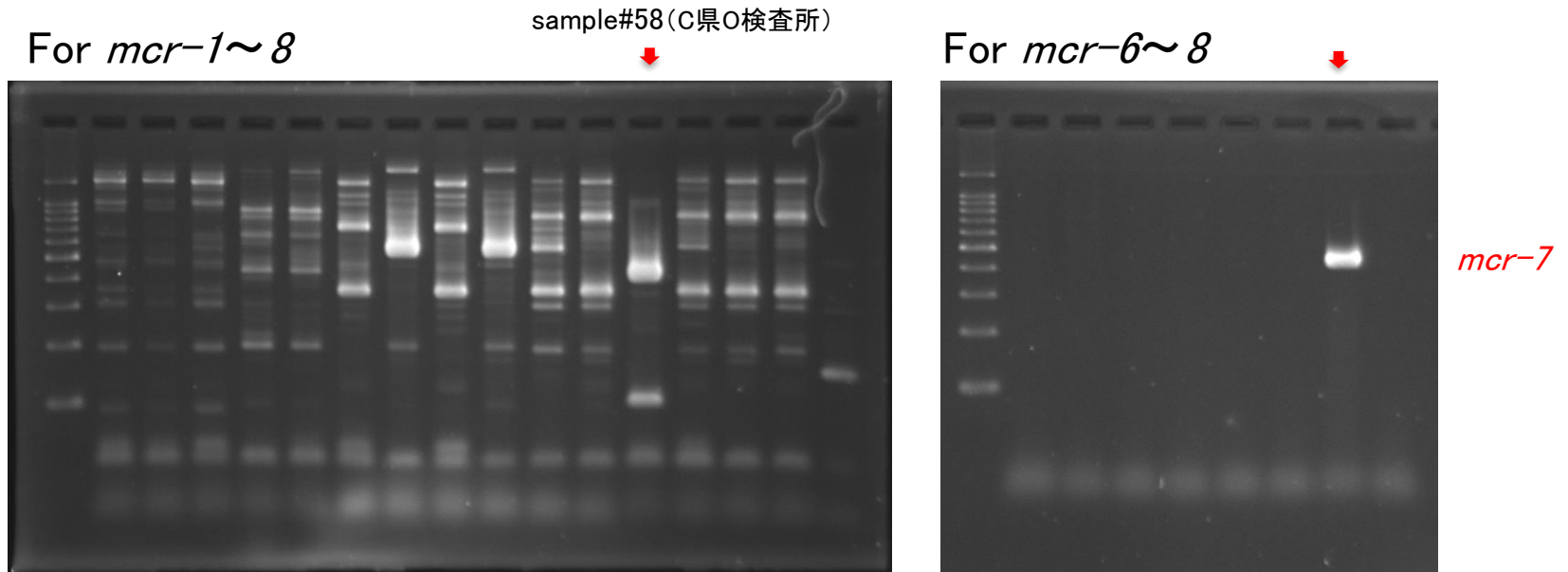
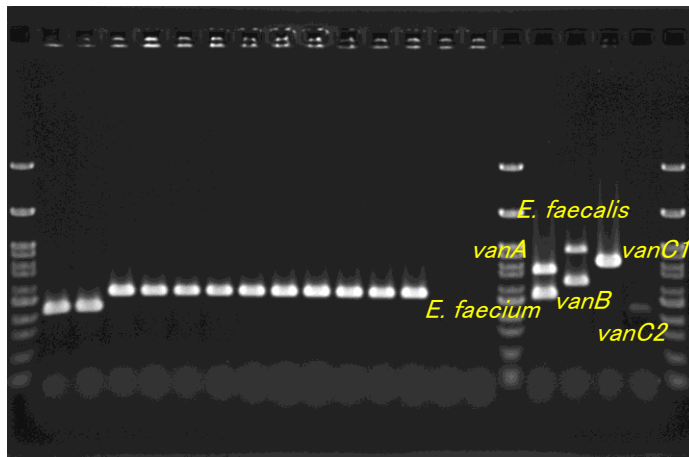


図4. multiplex PCRによる*mcr-1*~*8*の検出

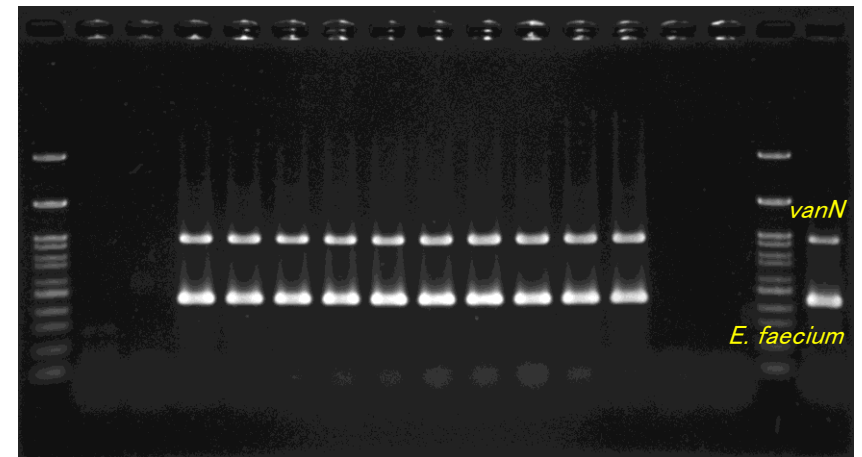


*mcr-7*検出用PCR産物の塩基配列の決定：*mcr-3*類似配列(*eptA*)
菌種同定(16S rRNA遺伝子)：*Aeromonas jandaei* (非腸内細菌科)

図5. PCR法を用いた菌種同定とVCM耐性型決定



45.1 45.2 55.1 55.2 58.1 58.2 103.1 103.2 119.1 119.2 123.1 123.2 124.1 124.2



45.1 45.2 55.1 55.2 58.1 58.2 103.1 103.2 119.1 119.2 123.1 123.2 124.1 124.2

5検体10株がVanN型*E. faecium*

同一検体から検出された124.1及び124.2は腸球菌属細菌ではなく、除外

表12. 国産鶏肉検体由来の低度耐性VRE株

No.	G 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	チラー前・後	VRE型	菌種	VCM (E-TEST)	TEIC (E-TEST)
1	45	1	T5	農場G-1	B県T食肉衛生検査所	B県	前	vanC2	<i>E. casseliflavus</i>	
2	45	2	T5	農場G-1	B県T食肉衛生検査所	B県	前	vanC2	<i>E. casseliflavus</i>	
3	55	1	T9	農場C	B県T食肉衛生検査所	B県	前	vanN	<i>E. faecium</i>	4
4	55	2	T9	農場C	B県T食肉衛生検査所	B県	前	vanN	<i>E. faecium</i>	
5	58	1	C-12	A-1	C県O食肉衛生検査所	C県	前	vanN	<i>E. faecium</i>	4
6	58	2	C-12	A-1	C県O食肉衛生検査所	C県	前	vanN	<i>E. faecium</i>	
7	103	1	C-27	F-27-5	C県S食肉衛生検査所	C県	前	vanN	<i>E. faecium</i>	6
8	103	2	C-27	F-27-5	C県S食肉衛生検査所	C県	前	vanN	<i>E. faecium</i>	
9	119	1	13	B	D県食肉衛生検査所	D県	前	vanN	<i>E. faecium</i>	6
10	119	2	13	B	D県食肉衛生検査所	D県	前	vanN	<i>E. faecium</i>	
11	123	1	17	B	D県食肉衛生検査所	D県	前	vanN	<i>E. faecium</i>	6
12	123	2	17	B	D県食肉衛生検査所	D県	前	vanN	<i>E. faecium</i>	

6検体12株のVCM低度耐性の株のうちVanC2型を除く6検体12株から代表的な6株をT-TESTにてVCMとTEICのMICを測定した

図7. 国産鶏肉由来VanN型VRE株のMLST解析(5検体5株)

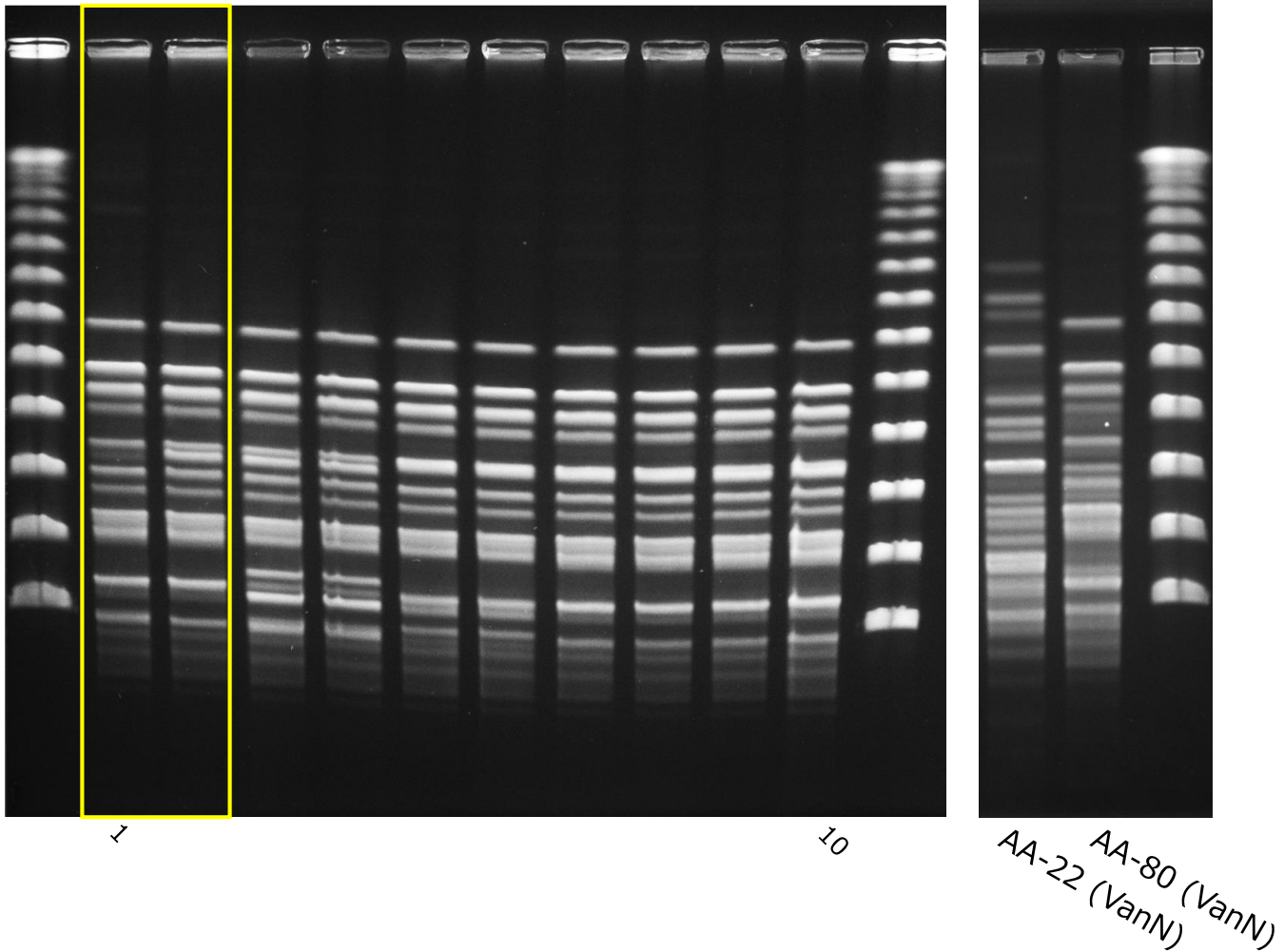


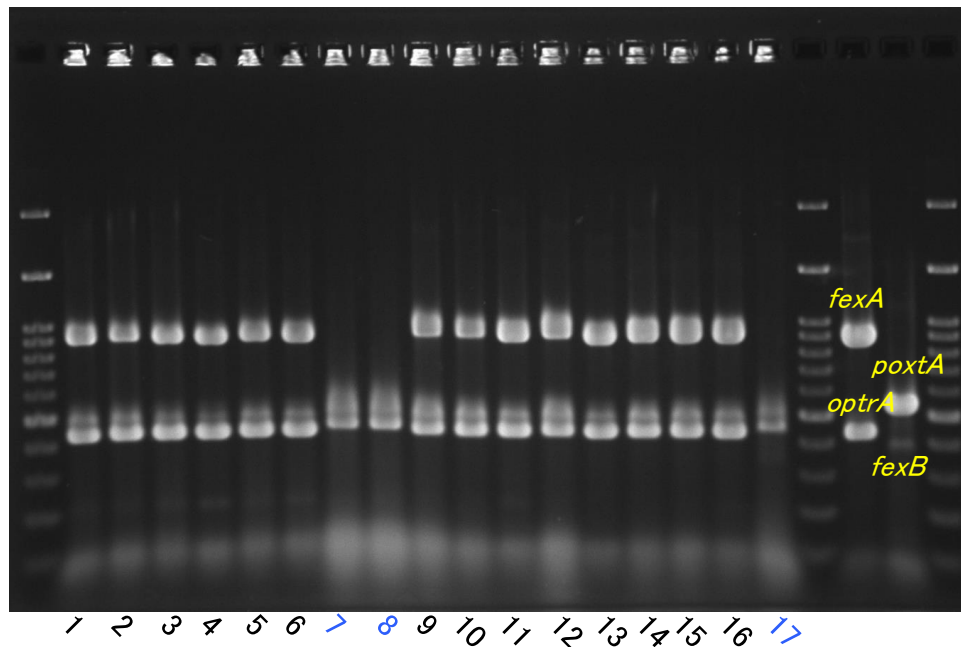
表13. 国産鶏肉由来VanN型VRE株の薬剤感受性試験

No.	Gu No.	衛生検査所検体No.	検体由来農場	検疫所又は検査所	県	チラー前・後	VRE型	E-TEST		allelic profile							ST	
								VCM	TEIC	atpA	ddl	gdh	purK	gyd	pstS	adk		
1	55	1	T9	農場C	B県T食肉衛生検査所	B県	前	vanN	4	1	9	8	136 (new)	58	6	27	6	2339 (new)
2	55	2	T9	農場C	B県T食肉衛生検査所	B県	前	vanN										
3	58	1	C-12	A-1	C県O食肉衛生検査所	C県	前	vanN	4	0.5	9	8	14	58	6	27	6	669
4	58	2	C-12	A-1	C県O食肉衛生検査所	C県	前	vanN										
5	103	1	C-27	F-27-5	C県S食肉衛生検査所	C県	前	vanN	6	0.5	9	8	14	58	6	27	6	669
6	103	2	C-27	F-27-5	C県S食肉衛生検査所	C県	前	vanN										
7	119	1	13	B	D県食肉衛生検査所	D県	前	vanN	6	1	9	8	14	58	6	27	6	669
8	119	2	13	B	D県食肉衛生検査所	D県	前	vanN										
9	123	1	17	B	D県食肉衛生検査所	D県	前	vanN	6	1	9	8	14	58	6	27	6	669
10	123	2	17	B	D県食肉衛生検査所	D県	前	vanN										

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

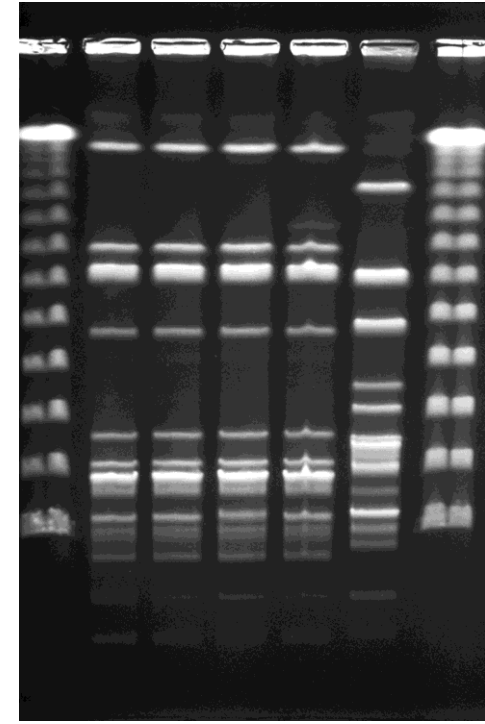
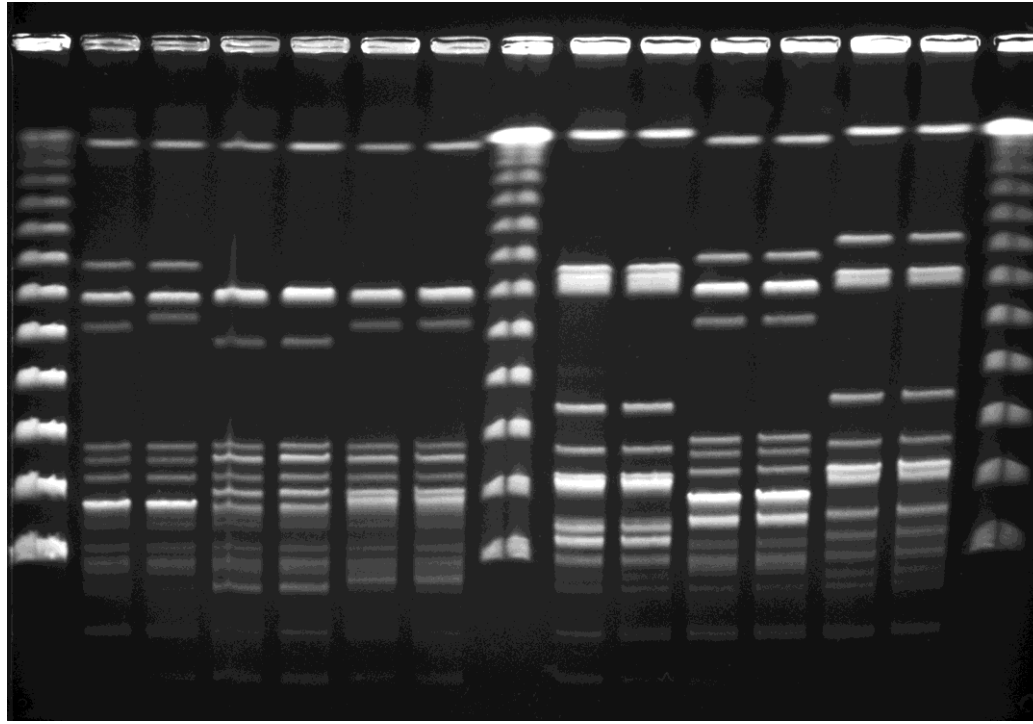
Year	Location	Strain	Allelic profile							ST
			<i>atpA</i>	<i>ddl</i>	<i>gdh</i>	<i>purK</i>	<i>gyd</i>	<i>pstS</i>	<i>adk</i>	
2008	France	UCN-71	25	13	9	33	10	19	6	240
2010	E県	AA-22	72	13	9	33	10	19	6	862
2012	E県	AA-80	9	8	14	58	6	27	6	669
2015	E県	AA-412	9	8	14	58	6	27	6	669
2015	D県	AA-413	9	8	14	58	6	27	6	669
2016	D県	AA-425	9	8	14	58	6	27	6	669
2016	D県	AA-423	9	8	14	58	6	27	6	669
2017	D県	105.1	9	8	14	58	6	27	6	669
2018	D県	92.1	9	8	14	58	6	27	6	669
2018	D県	97.1	9	8	14	58	6	27	6	669
2018	D県	101.1	9	8	14	58	6	27	6	669
2020	E県	2.1	9	8	14	58	6	27	6	669
2020	E県	7.1	9	8	14	58	6	27	6	669
2020	E県	12.1	72	13	9	33	10	19	6	862
2020	E県	21.1	9	8	14	58	6	27	6	669
2021	D県	17.1	9	8	14	58	6	27	6	669
2021	C県	26.1	72	13	9	33	10	19	6	862
2021	C県	27.1	9	8	14	58	6	27	6	669
2021	C県	39.1	9	8	14	58	6	27	6	669

図8. 国産鶏肉からのLRE株の分離とPCR法による耐性遺伝子 (*fexA*/*fexB*/*optrA*/*poxA*) の検出 (9検体17株)



No.	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	チラー前・後	採取年月日	送付年月日	受取年月日	処理年月日	<i>optrA</i>	<i>fexA</i>	
1	40	1	T2	農場D	B県T食肉衛生検査所	B県	前	令和4年2月7日	令和4年2月14日	令和4年2月16日	令和4年2月21日	+	+
2	40	2	T2	農場D	B県T食肉衛生検査所	B県	前	令和4年2月7日	令和4年2月14日	令和4年2月16日	令和4年2月21日	+	+
3	44	1	T4	農場F-1	B県T食肉衛生検査所	B県	前	令和4年2月8日	令和4年2月14日	令和4年2月16日	令和4年2月21日	+	+
4	44	2	T4	農場F-1	B県T食肉衛生検査所	B県	前	令和4年2月8日	令和4年2月14日	令和4年2月16日	令和4年2月21日	+	+
5	47	1	T5	農場F-2	B県T食肉衛生検査所	B県	前	令和4年2月10日	令和4年2月14日	令和4年2月16日	令和4年2月21日	+	+
6	47	2	T5	農場F-2	B県T食肉衛生検査所	B県	前	令和4年2月10日	令和4年2月14日	令和4年2月16日	令和4年2月21日	+	+
7	50	1	T8	農場G-2	B県T食肉衛生検査所	B県	前	令和4年2月11日	令和4年2月14日	令和4年2月16日	令和4年2月21日	+	+
8	50	2	T8	農場G-2	B県T食肉衛生検査所	B県	前	令和4年2月11日	令和4年2月14日	令和4年2月16日	令和4年2月21日	+	+
9	56	1	T10	農場I	B県T食肉衛生検査所	B県	前	令和4年2月12日	令和4年2月14日	令和4年2月16日	令和4年2月21日	+	+
10	56	2	T10	農場I	B県T食肉衛生検査所	B県	前	令和4年2月12日	令和4年2月14日	令和4年2月16日	令和4年2月21日	+	+
11	73	1	B-7	B	C県K食肉衛生検査所	C県	前	令和4年2月17日	令和4年2月17日	令和4年2月21日	令和4年3月3日	+	+
12	73	2	B-7	B	C県K食肉衛生検査所	C県	前	令和4年2月17日	令和4年2月17日	令和4年2月21日	令和4年3月3日	+	+
13	108	1	2	A	D県食肉衛生検査所	D県	前	令和4年3月4日	令和4年3月4日	令和4年3月4日	令和4年3月10日	+	+
14	108	2	2	A	D県食肉衛生検査所	D県	前	令和4年3月4日	令和4年3月4日	令和4年3月4日	令和4年3月10日	+	+
15	113	1	7	A	D県食肉衛生検査所	D県	前	令和4年3月4日	令和4年3月4日	令和4年3月4日	令和4年3月10日	+	+
16	113	2	7	A	D県食肉衛生検査所	D県	前	令和4年3月4日	令和4年3月4日	令和4年3月4日	令和4年3月10日	+	+
17	114	1	8	A	D県食肉衛生検査所	D県	前	令和4年3月4日	令和4年3月4日	令和4年3月4日	令和4年3月10日	+	+

図9. 国産鶏肉から分離されたLRE株のPFGE解析(9検体17株)



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17

No.	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	チラ一前・後	採取年月日	送付年月日	受取年月日	処理年月日	<i>optrA</i>	<i>fexA</i>	
1	40	1	T2	農場D	B県T食肉衛生検査所	B県	前	令和4年2月7日	令和4年2月14日	令和4年2月16日	令和4年2月21日	+	+
2	40	2	T2	農場D	B県T食肉衛生検査所	B県	前	令和4年2月7日	令和4年2月14日	令和4年2月16日	令和4年2月21日	+	+
3	44	1	T4	農場F-1	B県T食肉衛生検査所	B県	前	令和4年2月8日	令和4年2月14日	令和4年2月16日	令和4年2月21日	+	+
4	44	2	T4	農場F-1	B県T食肉衛生検査所	B県	前	令和4年2月8日	令和4年2月14日	令和4年2月16日	令和4年2月21日	+	+
5	47	1	T5	農場F-2	B県T食肉衛生検査所	B県	前	令和4年2月10日	令和4年2月14日	令和4年2月16日	令和4年2月21日	+	+
6	47	2	T5	農場F-2	B県T食肉衛生検査所	B県	前	令和4年2月10日	令和4年2月14日	令和4年2月16日	令和4年2月21日	+	+
7	50	1	T8	農場G-2	B県T食肉衛生検査所	B県	前	令和4年2月11日	令和4年2月14日	令和4年2月16日	令和4年2月21日	+	+
8	50	2	T8	農場G-2	B県T食肉衛生検査所	B県	前	令和4年2月11日	令和4年2月14日	令和4年2月16日	令和4年2月21日	+	+
9	56	1	T10	農場I	B県T食肉衛生検査所	B県	前	令和4年2月12日	令和4年2月14日	令和4年2月16日	令和4年2月21日	+	+
10	56	2	T10	農場I	B県T食肉衛生検査所	B県	前	令和4年2月12日	令和4年2月14日	令和4年2月16日	令和4年2月21日	+	+
11	73	1	B-7	B	C県K食肉衛生検査所	C県	前	令和4年2月17日	令和4年2月17日	令和4年2月21日	令和4年3月3日	+	+
12	73	2	B-7	B	C県K食肉衛生検査所	C県	前	令和4年2月17日	令和4年2月17日	令和4年2月21日	令和4年3月3日	+	+
13	108	1	2	A	D県食肉衛生検査所	D県	前	令和4年3月4日	令和4年3月4日	令和4年3月4日	令和4年3月10日	+	+
14	108	2	2	A	D県食肉衛生検査所	D県	前	令和4年3月4日	令和4年3月4日	令和4年3月4日	令和4年3月10日	+	+
15	113	1	7	A	D県食肉衛生検査所	D県	前	令和4年3月4日	令和4年3月4日	令和4年3月4日	令和4年3月10日	+	+
16	113	2	7	A	D県食肉衛生検査所	D県	前	令和4年3月4日	令和4年3月4日	令和4年3月4日	令和4年3月10日	+	+
17	114	1	8	A	D県食肉衛生検査所	D県	前	令和4年3月4日	令和4年3月4日	令和4年3月4日	令和4年3月10日	+	+

図10. 国産鶏肉検体由来LRE株の解析(過去の分離株との比較)

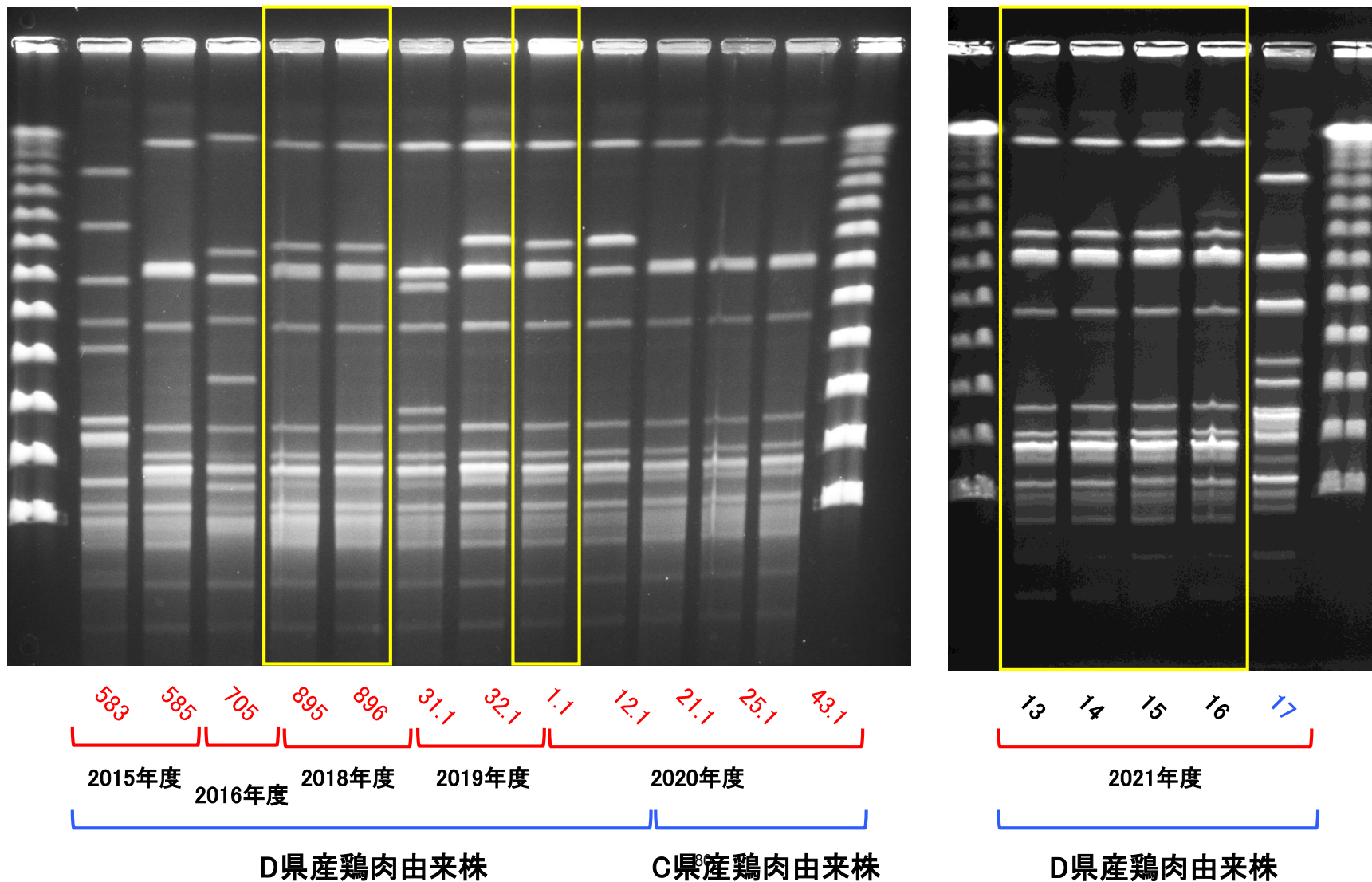
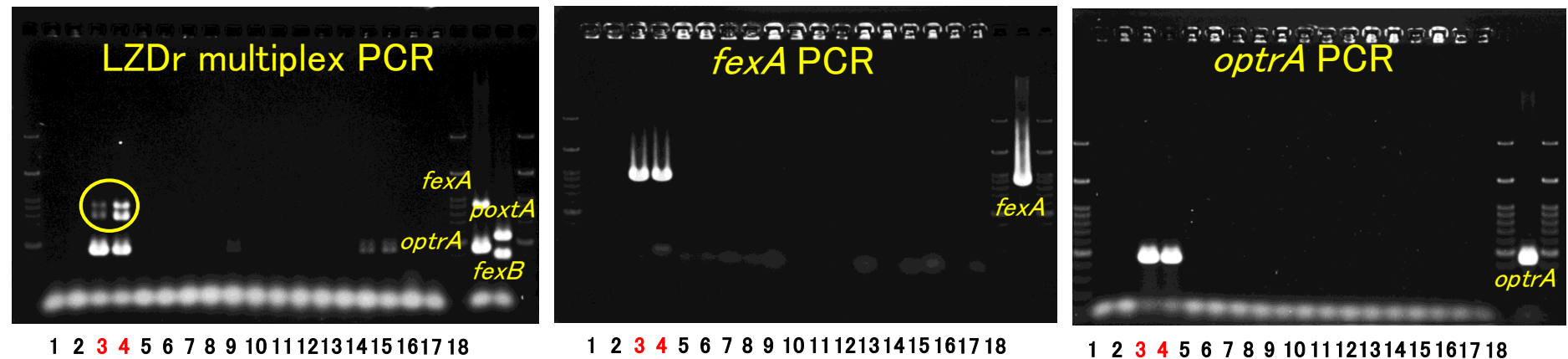


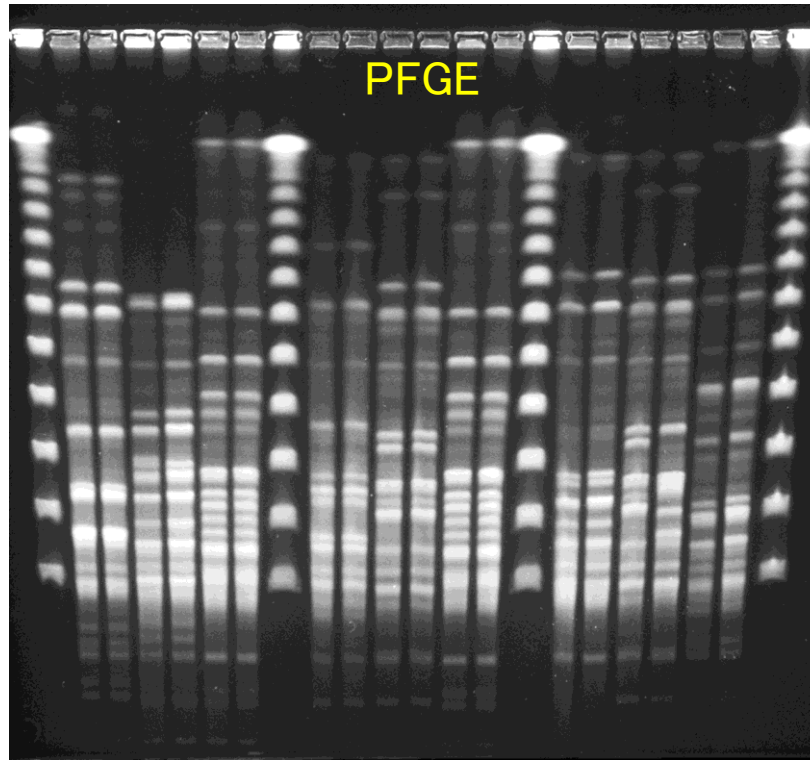
図11. 輸入鶏肉からのLRE株の分離とPCR法による耐性遺伝子 (*fexA*/*fexB*/*optrA*/*poxA*) の検出 (9検体18株)



#3と#4に非特異的なバンドを認めたため *fexA* と *optrA* のPCRを個別に行った

No.	No.	衛生検査所検体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	LZD mix	<i>optrA</i>	菌種
1	131	31362534	1 横浜検疫所	ブラジル	令和3年1月12日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	-	-	<i>E. faecalis</i>
2	131	31362534	2 横浜検疫所	ブラジル	令和3年1月12日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	-	-	<i>E. faecalis</i>
3	142	31366365	1 横浜検疫所	ブラジル	令和3年3月1日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	+	+	<i>E. faecalis</i>
4	142	31366365	2 横浜検疫所	ブラジル	令和3年3月1日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	+	+	<i>E. faecalis</i>
5	144	31366710	1 横浜検疫所	ブラジル	令和3年3月5日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	-	-	<i>E. faecalis</i>
6	144	31366710	2 横浜検疫所	ブラジル	令和3年3月5日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	-	-	<i>E. faecalis</i>
7	147	31367389	1 横浜検疫所	ブラジル	令和3年4月8日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	-	-	<i>E. faecalis</i>
8	147	31367389	2 横浜検疫所	ブラジル	令和3年4月8日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	-	-	<i>E. faecalis</i>
9	149	31368477	1 横浜検疫所	ブラジル	令和3年4月21日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	?	-	<i>E. faecalis</i>
10	149	31368477	2 横浜検疫所	ブラジル	令和3年4月21日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	?	-	<i>E. faecalis</i>
11	151	31369162	1 横浜検疫所	ブラジル	令和3年5月10日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	-	-	<i>E. faecalis</i>
12	151	31369162	2 横浜検疫所	ブラジル	令和3年5月10日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	-	-	<i>E. faecalis</i>
13	169	31383827	1 横浜検疫所	ブラジル		令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月21日	-	-	<i>E. faecalis</i>
14	169	31383827	2 横浜検疫所	ブラジル		令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月21日	-	-	<i>E. faecalis</i>
15	178	66412627	1 神戸検疫所	ブラジル	令和3年5月21日	令和4年3月1日	令和4年3月2日	令和4年6月23日	?	-	<i>E. faecalis</i>
16	178	66412627	2 神戸検疫所	ブラジル	令和3年5月21日	令和4年3月1日	令和4年3月2日	令和4年6月23日	?	-	<i>E. faecalis</i>
17	198	66424219	1 神戸検疫所	ブラジル	令和3年10月1日	令和4年3月1日	令和4年3月2日	令和4年6月23日	-	-	<i>E. faecalis</i>
18	198	66424219	2 神戸検疫所	ブラジル	令和3年10月1日	令和4年3月1日	令和4年3月2日	令和4年6月23日	-	-	<i>E. faecalis</i>

図12. 輸入鶏肉検体からのLRE株の分離とPFGE解析(9検体18株)



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18

No.	No.	衛生検査所検体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	LZD mix	<i>optrA</i>	菌種
1	131	31362534	1 横浜検疫所	ブラジル	令和3年1月12日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	-	-	<i>E. faecalis</i>
2	131	31362534	2 横浜検疫所	ブラジル	令和3年1月12日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	-	-	<i>E. faecalis</i>
3	142	31366365	1 横浜検疫所	ブラジル	令和3年3月1日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	+	+	<i>E. faecalis</i>
4	142	31366365	2 横浜検疫所	ブラジル	令和3年3月1日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	+	+	<i>E. faecalis</i>
5	144	31366710	1 横浜検疫所	ブラジル	令和3年3月5日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	-	-	<i>E. faecalis</i>
6	144	31366710	2 横浜検疫所	ブラジル	令和3年3月5日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	-	-	<i>E. faecalis</i>
7	147	31367389	1 横浜検疫所	ブラジル	令和3年4月8日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	-	-	<i>E. faecalis</i>
8	147	31367389	2 横浜検疫所	ブラジル	令和3年4月8日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	-	-	<i>E. faecalis</i>
9	149	31368477	1 横浜検疫所	ブラジル	令和3年4月21日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	?	-	<i>E. faecalis</i>
10	149	31368477	2 横浜検疫所	ブラジル	令和3年4月21日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	?	-	<i>E. faecalis</i>
11	151	31369162	1 横浜検疫所	ブラジル	令和3年5月10日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	-	-	<i>E. faecalis</i>
12	151	31369162	2 横浜検疫所	ブラジル	令和3年5月10日	令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月16日	-	-	<i>E. faecalis</i>
13	169	31383827	1 横浜検疫所	ブラジル		令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月21日	-	-	<i>E. faecalis</i>
14	169	31383827	2 横浜検疫所	ブラジル		令和4年2月14日	令和4年2月15日	令和4年6月21日	-	-	<i>E. faecalis</i>
15	178	66412627	1 神戸検疫所	ブラジル	令和3年5月21日	令和4年3月1日	令和4年3月2日	令和4年6月23日	?	-	<i>E. faecalis</i>
16	178	66412627	2 神戸検疫所	ブラジル	令和3年5月21日	令和4年3月1日	令和4年3月2日	令和4年6月23日	?	-	<i>E. faecalis</i>
17	198	66424219	1 神戸検疫所	ブラジル	令和3年10月1日	令和4年3月1日	令和4年3月2日	令和4年6月23日	-	-	<i>E. faecalis</i>
18	198	66424219	2 神戸検疫所	ブラジル	令和3年10月1日	令和4年3月1日	令和4年3月2日	令和4年6月23日	-	-	<i>E. faecalis</i>

表 1 5. *bcr*遺伝子陽性バシトラシン耐性腸球菌の検出

地域(検体数)	耐性菌陽性検体(%)	菌株数
A県 (36)	15 (42 %)	30
B県 (40)	23 (58 %)	46
C県 (30)	27 (90 %)	54
D県 (20)	9 (45 %)	18
国産 小計 (126)	74 (59 %)	148
ブラジル (59)	24 (41 %)	48
タイ (11)	4 (36 %)	8
米国 (4)	0 (0 %)	0
輸入 小計 (74)	28 (38 %)	56
合計 (200)	102 (51 %)	204

表16. 鶏肉検体由来耐性腸球菌株のMIC値

(上段: VCM耐性/中段: LZD耐性/下段: 主なBC耐性)

No.	Gu No.	衛生検査所検体No.	検体由来農場	検査所又は検査所	県	チラー・後	菌種	耐性遺伝子型	MIC																					
									ABPC	MEPM	TC	TGC	SM	KM	SPC	GM	VCM	TEIC	FFC	CP	EM	LCM	RFP	FA	LZD	CPFX	BC	FOM		
1	55	1	T9	農場C	B県T食肉衛生検査所	B県	前	<i>E. faecium</i> vanN	VCM	2	16	0.25	0.125	32	16	64	4	4	0.5	2	4	8	16	1	1	1	1	64	32	
2	55	2	T9	農場C	B県T食肉衛生検査所	B県	前	<i>E. faecium</i> vanN	VCM	2	16	0.25	0.125	32	16	64	4	4	0.5	2	4	8	16	2	1	1	1	64	32	
3	58	1	C-12	A-1	C県O食肉衛生検査所	C県	前	<i>E. faecium</i> vanN	VCM	2	16	0.25	0.125	32	16	64	4	4	0.5	2	4	8	16	2	1	1	1	64	32	
4	58	2	C-12	A-1	C県O食肉衛生検査所	C県	前	<i>E. faecium</i> vanN	VCM	2	16	0.25	0.125	32	16	64	4	4	0.5	2	4	8	16	2	1	1	1	64	32	
5	103	1	C-27	F-27-5	C県S食肉衛生検査所	C県	前	<i>E. faecium</i> vanN	VCM	2	16	0.25	0.125	32	16	64	4	8	0.5	2	4	8	16	2	1	1	1	64	32	
6	103	2	C-27	F-27-5	C県S食肉衛生検査所	C県	前	<i>E. faecium</i> vanN	VCM	2	16	0.25	0.125	32	16	64	4	8	0.5	2	4	8	16	2	1	1	1	64	32	
7	119	1	13	B	D県食肉衛生検査所	D県	前	<i>E. faecium</i> vanN	VCM	2	16	0.125	0.125	32	32	64	8	8	1	2	4	8	16	2	1	1	1	64	32	
8	119	2	13	B	D県食肉衛生検査所	D県	前	<i>E. faecium</i> vanN	VCM	2	16	0.125	0.125	32	32	64	8	8	1	2	4	8	16	2	1	1	1	64	32	
9	123	1	17	B	D県食肉衛生検査所	D県	前	<i>E. faecium</i> vanN	VCM	2	16	0.125	0.125	32	32	64	8	8	1	2	4	8	16	2	1	1	1	64	32	
10	123	2	17	B	D県食肉衛生検査所	D県	前	<i>E. faecium</i> vanN	VCM	2	16	0.125	0.125	32	32	64	8	8	1	2	4	8	16	2	1	1	1	64	32	
11	146	2	31367304		横浜検査所	ブラジル		<i>E. faecium</i> タイ	VCM	2	1	0.25	0.125	16	16	512	2	4	0.5	2	4	2	512	≤0.031	2	1	1	16	64	≥512
12	149	1	31368477		横浜検査所	ブラジル		<i>E. faecalis</i>	VCM	1	2	0.5	0.125	64	64	128	16	4	≤0.063	4	8	0.5	32	4	2	1	1	1	32	32
13	153	1	31369977		横浜検査所	ブラジル		<i>E. faecalis</i>	VCM	1	2	0.5	0.25	≥2048	64	≥2048	32	4	0.125	4	8	≥2048	1024	2	2	1	1	1	≥2048	16
14	153	2	31369977		横浜検査所	ブラジル		<i>E. faecalis</i>	VCM	1	4	0.5	0.25	≥2048	64	≥2048	32	4	0.25	4	8	≥2048	1024	2	2	1	1	1	≥2048	16
15	164	1	31374071		横浜検査所	タイ		<i>E. faecalis</i>	VCM	1	4	128	0.25	≥2048	64	128	16	4	0.25	4	4	0.5	64	1	2	1	2	64	16	
16	164	2	31374071		横浜検査所	タイ		<i>E. faecalis</i>	VCM	1	4	128	0.25	≥2048	64	128	16	4	0.25	2	4	0.5	64	1	2	1	2	64	16	
17	40	1	T2	農場D	B県T食肉衛生検査所	B県	前	<i>E. faecalis</i> optrA, flexA	LZD	1	4	256	0.25	64	1024	1024	256	1	≤0.063	64	128	≥2048	≥2048	0.5	2	2	2	64	32	32
18	40	2	T2	農場D	B県T食肉衛生検査所	B県	前	<i>E. faecalis</i> optrA, flexA	LZD	1	4	256	0.25	64	≥2048	1024	≥2048	1	1	0.125	64	128	≥2048	≥2048	1	2	2	64	32	32
19	44	1	T4	農場F-1	B県T食肉衛生検査所	B県	前	<i>E. faecalis</i> optrA, flexA	LZD	1	4	256	0.25	≥2048	≥2048	256	16	1	0.25	64	128	≥2048	≥2048	1	2	2	64	32	32	
20	44	2	T4	農場F-1	B県T食肉衛生検査所	B県	前	<i>E. faecalis</i> optrA, flexA	LZD	1	4	256	0.25	≥2048	≥2048	256	16	1	0.25	64	128	≥2048	≥2048	1	2	2	64	32	32	
21	47	1	T5	農場F-2	B県T食肉衛生検査所	B県	前	<i>E. faecalis</i> optrA, flexA	LZD	1	4	256	0.125	≥2048	≥2048	256	128	1	0.25	64	128	≥2048	≥2048	1	2	2	64	32	32	
22	47	2	T5	農場F-2	B県T食肉衛生検査所	B県	前	<i>E. faecalis</i> optrA, flexA	LZD	1	4	256	0.25	≥2048	≥2048	128	512	1	0.25	64	128	≥2048	≥2048	0.5	2	2	64	32	32	
23	50	1	T8	農場G-2	B県T食肉衛生検査所	B県	前	<i>E. faecalis</i>	LZD	1	4	8	0.125	≥2048	≥2048	64	16	1	0.25	4	8	2	32	1	2	1	1	32	32	
24	50	2	T8	農場G-2	B県T食肉衛生検査所	B県	前	<i>E. faecalis</i>	LZD	1	4	8	0.125	≥2048	≥2048	64	16	1	0.25	4	8	2	32	1	2	1	1	32	32	
25	56	1	T10	農場I	B県T食肉衛生検査所	B県	前	<i>E. faecalis</i> optrA, flexA	LZD	1	4	128	0.25	64	1024	1024	256	1	0.25	64	128	≥2048	≥2048	1	2	2	64	32	32	
26	56	2	T10	農場I	B県T食肉衛生検査所	B県	前	<i>E. faecalis</i> optrA, flexA	LZD	1	4	128	0.25	64	1024	1024	256	1	0.25	64	128	≥2048	≥2048	1	2	2	64	32	32	
27	73	1	C-7	B	C県K食肉衛生検査所	C県	前	<i>E. faecalis</i> optrA, flexA	LZD	0.5	4	128	0.25	≥2048	≥2048	1024	16	1	0.25	64	128	≥2048	≥2048	1	2	4	1	32	32	
28	73	2	C-7	B	C県K食肉衛生検査所	C県	前	<i>E. faecalis</i> optrA, flexA	LZD	0.5	4	128	0.25	≥2048	≥2048	1024	16	1	0.25	64	128	≥2048	≥2048	1	2	4	0.5	32	32	
29	108	1	2	A	D県食肉衛生検査所	D県	前	<i>E. faecalis</i> optrA, flexA	LZD	1	4	128	0.25	64	1024	1024	16	1	0.5	64	128	≥2048	≥2048	4	2	4	2	32	32	
30	108	2	2	A	D県食肉衛生検査所	D県	前	<i>E. faecalis</i> optrA, flexA	LZD	1	4	128	0.25	64	1024	1024	16	1	0.25	64	128	≥2048	≥2048	2	2	4	2	32	32	
31	113	1	7	A	D県食肉衛生検査所	D県	前	<i>E. faecalis</i> optrA, flexA	LZD	1	4	128	0.25	64	≥2048	1024	1024	2	0.5	64	128	≥2048	≥2048	2	2	4	2	64	32	
32	113	2	7	A	D県食肉衛生検査所	D県	前	<i>E. faecalis</i> optrA, flexA	LZD	1	4	128	0.25	64	≥2048	1024	1024	2	0.25	64	128	≥2048	≥2048	4	2	4	2	64	32	
33	114	1	8	A	D県食肉衛生検査所	D県	前	<i>E. faecalis</i>	LZD	1	4	32	0.25	64	64	64	16	2	0.25	8	16	4	128	4	2	2	2	64	32	
34	131	1	31362534		横浜検査所	ブラジル		<i>E. faecalis</i>	LZD	1	4	0.5	0.125	64	64	64	16	1	0.25	8	16	2	64	2	2	2	2	64	32	
35	131	2	31362534		横浜検査所	ブラジル		<i>E. faecalis</i>	LZD	1	4	0.5	0.125	64	64	64	16	1	0.25	16	16	2	64	2	2	2	2	16	32	
36	142	1	31366365		横浜検査所	ブラジル		<i>E. faecalis</i> optrA, flexA	LZD	1	4	128	0.25	64	≥2048	≥2048	≥2048	4	0.25	128	64	≥2048	128	2	2	4	2	≥2048	32	
37	142	2	31366365		横浜検査所	ブラジル		<i>E. faecalis</i> optrA, flexA	LZD	1	4	128	0.25	64	≥2048	≥2048	≥2048	4	0.25	128	64	≥2048	128	1	2	4	0.5	≥2048	32	
38	144	1	31366710		横浜検査所	ブラジル		<i>E. faecalis</i>	LZD	1	4	64	0.25	64	64	64	16	1	0.125	32	32	1	128	2	2	8	2	≥2048	32	
39	144	2	31366710		横浜検査所	ブラジル		<i>E. faecalis</i>	LZD	1	4	64	0.25	64	64	64	16	1	0.125	32	32	1	128	2	2	8	2	≥2048	32	
40	147	1	31367389		横浜検査所	ブラジル		<i>E. faecalis</i>	LZD	1	4	0.5	0.25	64	64	64	16	2	0.25	8	16	4	128	1	2	2	1	16	32	
41	147	2	31367389		横浜検査所	ブラジル		<i>E. faecalis</i>	LZD	1	4	0.5	0.25	64	64	64	16	2	0.5	32	64	4	128	1	2	8	1	16	32	
42	149	1	31368477		横浜検査所	ブラジル		<i>E. faecalis</i>	LZD	1	4	0.5	0.25	64	64	64	16	1	0.25	8	16	4	128	4	2	2	2	32	32	
43	149	2	31368477		横浜検査所	ブラジル		<i>E. faecalis</i>	LZD	1	4	0.5	0.25	64	64	64	16	1	0.25	8	16	4	128	4	2	2	2	32	32	
44	151	1	31369162		横浜検査所	ブラジル		<i>E. faecalis</i>	LZD	1	4	64	0.25	64	64	64	16	1	0.125	4	16	1	128	2	2	2	2	≥2048	32	
45	151	2	31369162		横浜検査所	ブラジル		<i>E. faecalis</i>	LZD	1	4	64	0.25	64	64	64	16	1	0.125	4	16	1	128	2	2	2	2	≥2048	32	
46	169	1	31383827		横浜検査所	ブラジル		<i>E. faecalis</i>	LZD	1	4	0.5	0.25	64	64	64	16	1												

厚生労働科学研究費補助金
(食品の安全確保推進研究事業)
分担研究報告書

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)

研究協力者 : 佐々木貴正 (国立医薬品食品衛生研究所/帯広畜産大学)

研究要旨

Food Chain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。鶏肉におけるESBL産生菌の汚染や豚とその生産物に分布する家畜関連黄色ブドウ球菌 (LA-MRSA) の実態を把握して、人への健康危害の検討に資することを目的に検討した。国内で生産された豚と市販豚肉からLA-MRSAが分離されたが、国内生産豚に比べて市販豚肉の汚染は程度であることが示された。また、鶏肉においてESBL産生大腸菌の汚染に季節変動は認められなかったが、依然として国内産と外国産に関わらずESBL産生大腸菌を含む第3世代セファロスポリン耐性大腸菌に汚染していることが示された。その他、国内で飼育される採卵鶏における薬剤耐性大腸菌、国内で飼育される肉用鶏における薬剤耐性サルモネラ、外国産鶏肉の薬剤耐性サルモネラの実態を調査した。

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、Food Chain 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3世代セファロスポリン耐性大腸菌が分

離されるが、その存在比率は低い (1%未満) こと (Suzuki et al, 2019) や、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産生大腸菌汚染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、枝肉のMRSA率は低い (0.4%) 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。また、2012 年に孵化場における第 3 世代セファロスポリン使用を中止し、その後、肉用鶏から分離される大腸菌やサルモネラの第 3 世代セファロスポリン耐性は低下しているが、鶏肉の状況に関する情報は少なく、また、外国産鶏肉に関する情報も少ない。

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、2 年目に肉用鶏及び豚における薬剤耐性菌の汚染実態を継続調査した。

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、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。分離された CTX 耐性大腸菌の bla グループ型を PCR 法で決定し、薬剤感受性を実施した。

（2）国内の出荷豚における LA-MRSA の実態調査

2022 年度は、近畿地方のと畜場において西日本の延べ 22 農場からの出荷豚 110 頭（各ロット 5 頭）を調査対象として、各豚の耳丸ごとを 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）100mL 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

昨年度実施できなかった 3 地域（北海道・東北、関西、九州）のスーパーマーケットで豚肉を購入し、LA-MRSA の汚染実態調査を継続して行った。豚肉 25g をビニール袋に入れ、6.5% 塩化ナトリウム加ミューラーヒントン培地（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。市販キットを用いた POT 法により分離株を解析した。

（4）産卵中の鶏糞由来大腸菌における薬剤耐性

10 農場から採卵鶏の糞便（19～101 週齢、産卵開始済み、最大 5 検体/農場）48 検体を収集した。CL 0.1 μ g/mL 含有 TBX 培地を用いて、1 検体あたり最大 10 株を分離した。大腸菌の同定は、大腸菌特異的プライマーを用いた PCR 法で同定した。薬剤感受性試験は、フローズプレートを用いた微量液体希釈法で MIC を決定した。

（5）東北地方及び九州地方の肉用鶏群のサルモネラの薬剤耐性状況調査

東北地方の食鳥処理場 1 施設及び九州地方の食鳥処理場 6 施設から計 46 鶏群の盲腸内容物と胸肉（各群 2 kg 胸肉パック 1 袋）を入手し、サルモネラの薬剤耐性状況と抗菌剤の使用状況との関連性を調査した。各食鳥作業日の最初に食鳥処理された鶏群（各 5 羽）の盲腸内容物 1g を 9mL の緩衝ペプトン水（BPW）に入れ、37°C で 1 日間培養した。培養後の BPW の 1mL または 0.1 mL をそれぞれハーナ・テトラチオン液体培地 10mL またはラバポート・バシリアディス液

体培地 10mL と混合し、1 日間 42°C で増菌培養した。その後、培養後の培養液の 1 白金耳をクロモアガー・サルモネラ培地および XLD 培地に塗布し、1 日間 37°C で選択培養した。培養したハーナ・テトラチオン液体培地は、さらに室温で 5~7 日間放置後に増菌培養および選択培養を実施した（遅延二次増菌培養法）。胸肉については、各袋の 4 胸ブロックから皮を各 30g（計 120g）切り取り、滅菌ストマック袋に投入後、120 mL の BPW を加え 1 分間ストマック処理し、50 mL を 1 日間 37°C で前増菌培養し、その後は盲腸内容物と同様に分離試験を実施した。選択培地上にサルモネラを疑う集落が形成された場合には、各検体最大 2 集落を釣菌し、サルモネラ免疫血清を用いて血清型を同定した。サルモネラ免疫血清で凝集が認められなかった株は、PCR 法を用いてサルモネラかどうか判定した。1 羽でも盲腸内容物からサルモネラが分離された鶏群を保菌群とし、5 羽すべての盲腸内容物からサルモネラが分離されなかった鶏群を非保菌群とした。各鶏群の盲腸内容物検体および胸肉検体から分離された各検体の 1 血清型 1 株について薬剤感受性試験を実施した。

（6）外国産鶏肉のサルモネラ汚染状況調査

関東地方の小売店で販売されていた外国産鶏肉（食鳥処理場真空包装のモモ肉）を 50 袋購入し、サルモネラの分離及び薬剤耐性状況を調査した。サルモネラ分離及び性状解析は上述の胸肉と同一の方法を用いた。

（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

2022 年 1~8 月において鶏肉から CTX 耐性菌は、91 検体中 47 検体（51.6%）から分離された。国産 36 検体中 21 検体（58.3%）、銘柄 36 検体中 19 検体（52.7%）、輸入 19 検体中 7 検体

（36.8%）の順であった（表 1）。店舗別に MPN 法で推定した g 当たりの菌数は、大部分の検体で 20/g 以下であったが、S 店で購入した銘柄肉の 6 月（24/g）と 7 月（160/g）、K 店で購入した銘柄肉の 6 月（160/g）で 20 以上を示した（図 1）。CTX 耐性株の産生する β -ラクタマーゼ型では、国産と銘柄ともに CTX-M-2G が最も多く、外国産では CIT 型が最も多かった。CTX-M-8/25G は外国産のみで認められた（表 2）。CTX 耐性株の薬剤感受性に関して、国産・銘柄肉では KM、TC、NA および CP 耐性の割合が高く、外国産肉では CPFX および ST 耐性の割合が高かった（図 2）。

（2）国内の出荷豚における LA-MRSA の実態調査

近畿地方のと畜場で実施した調査については、延べ 22 農場中 18 農場（81.8%）からの出荷豚 48 頭（43.6%）から MRSA が分離された。陽性ロットにおけるロット内 MRSA 陽性率の分布は 2 分されていた（図 3）。

（3）市販豚肉における LA-MRSA の汚染実態調査

MRSA は 176 検体中 3 検体（1.6%）から分離され、内訳は国産肉 108 検体中 2 検体、外国産肉 68 検体中 1 検体（1.5%）であった（表 4）。北海道・東北で 64 検体中 2 検体（3.1%）、関西で 49 検体中 1 検体（2.0%）から分離された MRSA は全て CC398 であった。外国産肉の産地はスペインであった。

2021 年度と 2022 年度に市販豚肉から分離された MRSA ST398 12 株を POT 法で解析したところ、POT 型 64-0-0 と 64-144-65 が複数検体から分離され、64-16-5、64-208-65、64-128-69、64-46-64、64-0-5 が各 1 検体から分離された（表 5）。POT 型 64-0-0 の MRSA は鹿児島県産 3 検体と国産肉（産地不明）2 検体、POT 型 64-144-65 株は北海道産 1 検体と茨城県産 1 検体から分離された。2017 年に東北のと畜場で分離さ

れた MRSAST398 13 株では、POT 型 64-144-117 (3 株)、64-144-101 (3 株)、64-192-101、64-114-117、104-64-33、104-0-0、104-0-1 (各 1 検体) に型別された。また、2018 年に関東のと畜場で分離された MRSA ST398 7 株は、全て POT 型 104-0-0 であった。

(4) 産卵中の鶏糞便由来大腸菌における薬剤耐性

大腸菌は、10 農場で収集した糞便 48 検体から 456 株を分離した。薬剤感受性試験の結果、TC 耐性が最も高く (24.3%)、次いで ST 耐性 (19.1%)、NA 耐性 (11.6%)、ABPC 耐性 (11.4%) の順であった (表 6)。その他の薬剤に対する耐性は 5%未満であったが、CTX および CPFX 耐性が認められた。MEPM、GM および CL 耐性は認められなかった。

農場別では、H2 農場のみで GEZ, CTX 耐性、記載なし農場のみで KM, CPFX 耐性が認められた。また、YK 農場は ABPC 耐性のみ認められた (図 5)。週齢別では、ABPC, TC, NA, ST 耐性は週齢に関わらず広く分布していた。TC, NA, ST 耐性は 71~97 週で多く分布し、GEZ, CTX, CP 耐性は 17~43 週齢のみで分布した (図 6)。

(5) 東北地方及び九州地方の肉用鶏群のサルモネラの薬剤耐性状況調査

調査 46 群中 37 群 (80.0%) の盲腸内容物からサルモネラが分離され、サルモネラ保菌 37 群中 36 群から *Salmonella* Schwarzengrund, 3 群から *S. Manhattan*, 1 群から同定不能株が分離された (表 7)。薬剤耐性については、*S. Schwarzengrund* ではカナマイシン (97.2% : 35/36)、ストレプトマイシン (66.7% : 24/36)、テトラサイクリン (63.9% : 23/36)、トリメトプリム (41.7% : 15/36)、ナリジクス酸 (22.2% : 8/36) の順に高かった。*S. Schwarzengrund* の 61.1% (22 株) は、ストレプトマイシン、カナマイシンおよびテトラサイクリンの 3 抗菌薬に耐性を示したが、*S. Manhattan*

3 株はストレプトマイシンおよびテトラサイクリンの 2 抗菌薬に耐性を示した。同定不能株はストレプトマイシンのみに耐性を示した。アンピシリン、セファゾリン、セフォタキシム、ゲンタマイシン、クロラムフェニコール、コリスチンまたはシプロフロキサシンに耐性を示した株はなかった。11 鶏群 (23.9%) に対し抗菌薬が投与され、最も使用されていたのはフルオロキノロン系で 9 群 (19.6%) で、次いでペニシリン系 (13.0%) が多かった。フルオロキノロン系抗菌薬が使用された 11 鶏群中 1 鶏群 (9.1%) で NA 耐性サルモネラが認められたが、フルオロキノロン未使用鶏群 37 鶏群中 8 鶏群 (21.6%) において NA 耐性サルモネラが認められた。NA 耐性株の分離率については、素ビナが自社の種鶏場に由来する食鳥処理場 4 施設 (A~D) では 4.3% (1/23) であったが、素ビナを他社から購入している食鳥処理施設 3 施設 (E~G) では 30.4% (7/23) と高率であった (フィッシャーの正確確率検定 : $p < 0.05$)。さらに、胸肉由来株では、素ビナが自社の種鶏場に由来する食鳥処理場では 4.3% (1/23) であったのに対し、素ビナを他社から購入している食鳥処理施設 3 施設 (E~G) では 52.2% (12/23) とその差がさらに大きくなった。

(6) 外国産鶏肉のサルモネラ汚染状況調査

調査 50 検体中 14 検体 (28.0%) からサルモネラが分離された。分離率は国間で大きく異なり、タイ産が最も高く (60.0% : 9/15)、次いでブラジル (16.1% : 5/31) であった。タイ産鶏肉から分離された 9 株は *S. Agona* (3 株) の他、6 血清型に分類された。ブラジル産鶏肉では 5 検体中 3 検体から *S. Minnesota* が分離された (表 8)。薬剤耐性については、アンピシリン耐性率が最も高く (64.3% : 9/14)、次いでテトラサイクリン (57.1% : 8/14) とストレプトマイシン (57.1% : 8/14) であった。国産鶏肉で最も高率であったカナマイシン耐性率は 14.3% (2/14) であった。一方で、国産鶏肉では認め

られなかったセフトキシム耐性 (21.4%: 3/14) とシプロフロキサシン耐性 (7.1%: 1/14) が認められた。

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、2 年目は継続調査を実施するとともに、疫学解析を実施した。

(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

CTX 耐性大腸菌は、2021 年 10 月～2022 年 9 月に鶏肉から分離されつづけ、全体で 51.6% (47/91) の鶏肉から分離され、鶏肉の CTX 耐性大腸菌汚染は高率に維持されていた。国産肉 (不明、58.3%及び銘柄鶏肉、52.7%) の汚染は輸入肉 (36.8%) に比べて高率で、これまでの報告と同様であった。また、汚染菌量は 20 MPN/g 未満が大部分で、鶏肉の汚染菌量は少ないことが示された。MPN で推定した菌数は 6 月と 7 月に各 1 店舗で購入した銘柄鶏肉で高い汚染 (160 MPN/g) が認められたが、他店では同様の傾向は認められていないことから季節変動はないことが示唆された。以前の調査では AmpC 型 β -ラクタマーゼ産生大腸菌が高頻度に分離されていたが、国産鶏肉の CTX 耐性大腸菌の大部分は CTX-M 型 ESBL を産生していた。ブロイラー農場の汚染状況が変動したかについて、今後検討していく必要がある。

(2) 国内の出荷豚における LA-MRSA の実態調査

近畿地方の出荷豚で実施した耳丸ごとを検体とした調査では、81.8%の農場、出荷豚の 43.6%から MRSA が分離され、出荷ロット内の MRSA 陽性率の分布は低率な場合と高率な場合に 2 分 (2 峰性) され、中程度の汚染であったロットは限られていた。この 2 峰性分布は株の伝播力の違いによるものなのか、今後分離株の性

状解析等により明らかにしていく予定である。また、耳裏スワブと耳丸ごとでは分離率が大きく異なり、地域性というよりは検体によって分離率に大きな違いが生じている可能性が高いと考えられる。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

2021 年度と 2022 年度に北海道・東北～九州までの 5 地域で 385 検体 (国産 268 検体と外国産 117 検体) を対象に MRSA を調査した。国産肉の 4.1% (11 検体) と外国産肉 0.9% (1 検体) から分離され、全て ST398 であった。これまでの、と場の調査結果 (Sasaki ら 2020; 2021; 2022、本研究班) および東京都の市販肉調査 (下島ら 2020) に比べて市販肉の MRSA の分離率は低率であった。このことは、と畜過程での汚染低下や枝肉汚染頻度が低いことと一致している (C. Narvaez-Bravo ら 2015; Sasaki ら 2021)。産地別では、鹿児島、茨城、千葉、北海道で生産されていたことから、広範囲の飼育豚に MRSA が浸潤していることが示唆された。今回 POT 法による株間の比較を行ったが、一致する POT 型株が異なる地域の複数の店舗で購入した豚肉から分離されたが一部の検体で産地が一致した。また、既報の出荷豚由来 ST398 株を解析したところ、豚肉由来株の POT 型と一致せず、国内は多様な株で汚染している実態が明らかとなった。今後、遺伝子解析を継続してコアゲノム解析による株間の比較、SCCmec 型や spa 型を決定していく予定である。

(4) 産卵中の鶏糞由来大腸菌における薬剤耐性

採卵鶏由来大腸菌における薬剤耐性の割合は豚や肉用鶏に比べ低率で、また、個体中の薬剤耐性大腸菌の分布は一率ではなく、産卵中の採

卵鶏に抗菌薬が使用されないことと関連すると考えられた。薬剤耐性大腸菌の分布は農場ごとに異なり、育雛期間（産卵前）において使用される薬剤や種鶏場の耐性菌汚染状況が影響することが推察された。一方、70週齢以降で一過性に耐性菌の割合が上昇したが、強制換羽後の時期と一致したことから、強制換羽の影響について調査する必要があると考えられた。

別研究で食鳥（採卵鶏）処理場の污水からプラスミド性コリスチン耐性遺伝子（MCR）保有大腸菌が分離されたことから、CL（0.1mg/ml）添加TBX培地を利用して大腸菌を分離したがCL耐性大腸菌は分離されなかった。食肉や污水を検体とした場合はCL耐性大腸菌が分離されることから、糞便を検体としてCL耐性菌を分離する方法を再検討する必要がある。

（5）東北地方及び九州地方の肉用鶏群のサルモネラの薬剤耐性状況調査

2012年の孵化場における第3世代セファロスポリン使用中止から10年が経過し、鶏肉生産の主産地である東北地方および九州地方の肉用鶏群およびその鶏肉から第3世代セファロスポリン耐性サルモネラは分離されておらず、大腸菌と比べサルモネラに対する中止効果が高いことが確認された。特に、今回調査した3施設（C、DおよびE）は、2007～2010年の間にも肉用鶏群のサルモネラ調査を実施しており、当時、約20%のサルモネラ株が第3世代セファロスポリンに耐性であり、E施設の孵化場では、抗菌薬を第3世代セファロスポリンからジヒドロストレプトマイシンに変更したことが確認された。本調査では、テトラサイクリン系およびフルオロキノロン系を使用していた2鶏群を除いて、使用抗菌薬に対する耐性株は認められず、調査鶏群に対する抗菌剤使用と薬剤耐性との関連は低いことが示唆された。NA耐性株の分離率については、素ビナが自社の種鶏場に由来する食鳥処理場4施設（A～D）の鶏群（4.3%）に比べ、素ビナを他社から購入している食鳥処理施設3

施設（E～G）の鶏群（30.4%）で有意に高率で、胸肉由来株では、両者の違いがさらに大きくなった。このことから、薬剤耐性サルモネラ保菌鶏群の汚染は食鳥処理により増幅されることが示唆された。

（6）外国産鶏肉のサルモネラ汚染状況調査

本研究によって、外国産鶏肉のサルモネラ汚染状況および薬剤耐性状況は、国間で大きく異なることが明らかとなった。国産鶏肉から最もよく分離される *S. Schwarzengrund* は全く分離されず、タイ産では *S. Agona* が多く、ブラジル産では *S. Minnesota* が多かった。また、養鶏団体がセフトオフルの使用を自主規制した後、国産鶏肉からほぼ分離されなくなった第3世代セファロスポリン耐性株だけではなく、フルオロキノロン耐性株も確認されたため、来年度はさらに検体数を増やし、外国産鶏肉における薬剤耐性サルモネラ汚染実態を明らかにしていく必要がある。

E. 結論

本研究で、国内産豚肉のメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）汚染が低度であること、鶏肉中のESBL産生大腸菌の分布に季節変動がないことを明らかにした。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. 富山満里奈、市川 隆、村松智恵子、浅井鉄夫 東海地方の家畜からの *Escherichia albertii* の分離と性状解析 日獣会誌

75:e107-e113, 2022.

2. Sasaki, Y., Asakura, H., Asai, T. Prevalence and fluoroquinolone resistance of *Campylobacter* spp. isolated from beef cattle in Japan. *Animal Diseases* 2: 15, 2022.
3. Sasaki Y., Aoki K, Ishii Y, Tamura Y, Asai T. First isolation of ST398 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying staphylococcal cassette chromosome mec type IVd from pig ears in Japan. *J Vet Med Sci.* 84(9):1211-1215, 2022.
4. Sasaki Y., Yonemitsu K, Uema M, Asakura H, Asai T. Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter* and *Salmonella* in layer flocks in Honshu, Japan. *J Vet Med Sci.* 84(11):1502-1507, 2022.

2. 学会発表

杉浦 萌香、佐々木 貴正、杉山 美千代、浅井 鉄夫 豚肉由来家畜関連型 MRSA の薬剤感受性と遺伝学的性状 2022年9月6～8日 WEB開催
第165回日本獣医学会学術集会

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 (%)		
	国産	輸入	銘柄
2021/10	3/4	0/3	2/4
2021/11	3/4	0/2	1/4
2021/12	3/4	1/3	0/4
2022/1	3/4	1/3	3/4
2022/2	3/4	1/2	2/4
2022/3	3/4	2/2	2/4
2022/4	3/4	1/2	3/4
2022/5	2/4	0/2	1/4
2022/6	2/4	1/2	2/4
2022/7	1/4	0/2	2/4
2022/8	2/4	0/2	2/4
2022/9	2/4	1/2	2/4
(2022/1~9計)	(21/36, 58.3%)	(7/19, 36.8%)	(19/36, 52.7%)
計	30/48 (62.5)	8/27 (29.6)	22/48 (45.8)

- CTX耐性大腸菌：
国産 > 銘柄 > 輸入？

図 1 4 店舗で購入した鶏肉の菌数 (MPN/g)

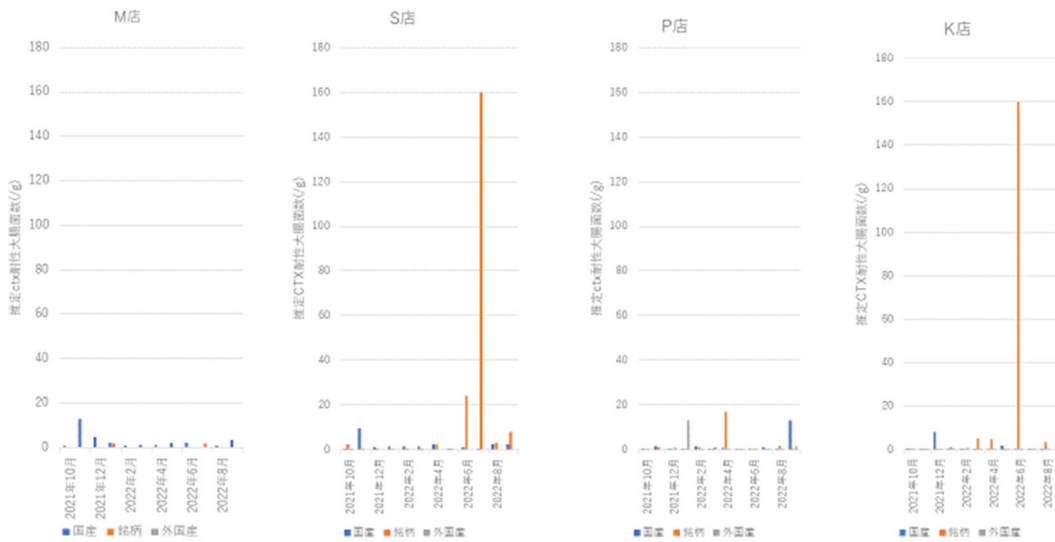


表 2

CTX耐性株の産生する β -ラクタマーゼ型

	国産	銘柄	外国産	計
CIT	5	4	13	22
CTX-M-1G	16	17	3	36
CTX-M-2G	37	33	0	70
CTX-M-9G	28	7	0	35
CTX-M-8/25G	0	0	5	5
SHV	0	5	0	5
不明	6	0	0	6
計	92	66	21	179

図 2

区分別CTX耐性株の薬剤感受性

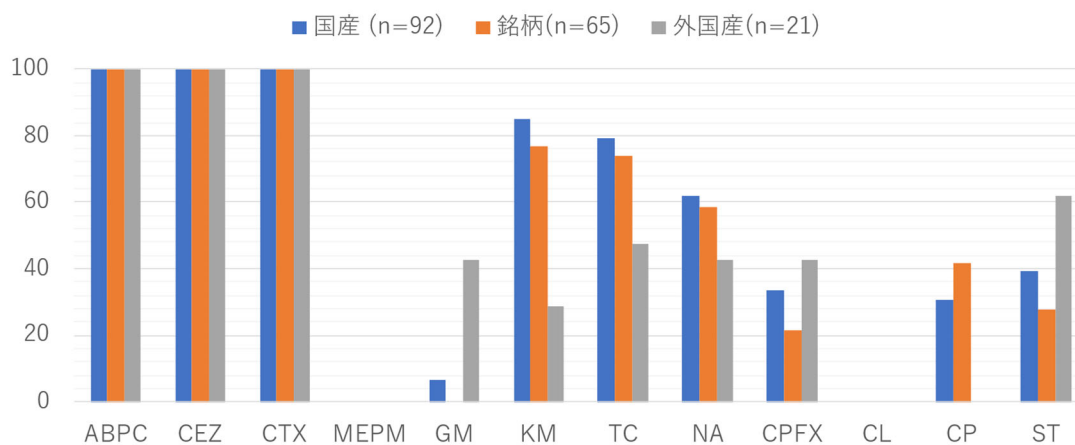


図 3

図 豚農場のロット内MRSA陽性率の分布

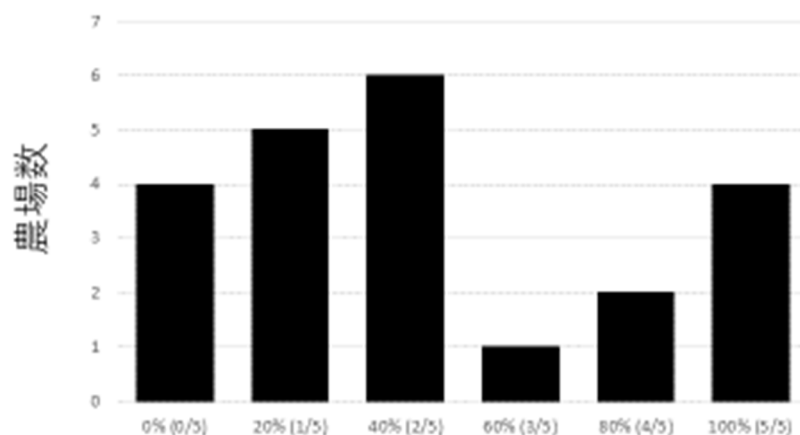


表 3 と畜場および市販肉から分離した MRSA の薬剤感受性

薬剤	と畜場(n=19)		食肉由来(n=12)			
			国産(n=11)		外国産(n=1)	
	MIC範囲	耐性株数(%)	MIC範囲	耐性株数(%)	MIC範囲	耐性株数(%)
CEZ	2-32		1-32		2	
FMOX	1-8		2-8		2	
CMZ	4-16		4-8		4	
IPM	≦0.25		≦0.25-1		≦0.25	
MINO	≦0.12-4		2-4		2	
TC	≦0.5-64<	16(84.2)	32-64<	11(100)	64	1(100)
VCM	0.5-1		0.5-1		0.5	
TEIC	≦0.25		≦0.25		≦0.25	
LZD	1		1-2		1	
ABK	1-2		1-2		2	
TZD	≦0.12-0.25		≦0.12-0.25		≦0.12	
DAP	0.25-5		0.25-0.5		0.25	
RFP	≦1		≦1		≦1	
MPIPC	>4	19(100)	4-4<	11(100)	>4	1(100)
MUP	≦0.06		≦0.06		≦0.06	
EM	1-128<	15(78.9)	0.5-128<	5(45.6)	>128	1(100)
CLDM	0.25-128<	17(89.5)	0.12-128<	5(45.6)	>128	1(100)
GM	0.5-2		0.5-32	1(9.09)	1	
LVFX	0.12-8	1(5.26)	0.12-8	3(27.3)	0.25	
ST	≦4.75/0.25		≦4.75/0.25 -19/1		≦4.75/0.25	
FOM	≦0.25-2		≦0.25-0.5		≦0.25	
CFX	8-8<	19(100)	8-8<	11(100)	8	1(100)
CP	4-64	5(26.3)	4-64	7(63.6)	4	
	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	
		国産	外国産
TC,MPIPC,EM,CLDM,GM,LVFX,CFX,CP	0	1*	0
TC,MPIPC,EM,CLDM,LVFX,CFX,CP	0	2*	0
TC,MPIPC,EM,CLDM,GM,CFX,CP	0	0	0
TC,MPIPC,EM,CLDM,LVFX,CFX	0	0	0
TC,MPIPC,EM,CLDM,CFX,CP	1	0	0
TC,MPIPC,EM,CLDM.CFX	11	2*	1*
TC,MPIPC,CLDM,CFX,CP	4*	0	0
TC,MPIPC,CFX,CP	0	4*	0
MPIPC,EM,CLDM,CFX	1	0	0
MPIPC,EM,LVFX,CFX	1	0	0
TC,MPIPC,CFX	0	2*	0
MPIPC,EM,CFX	1	0	0

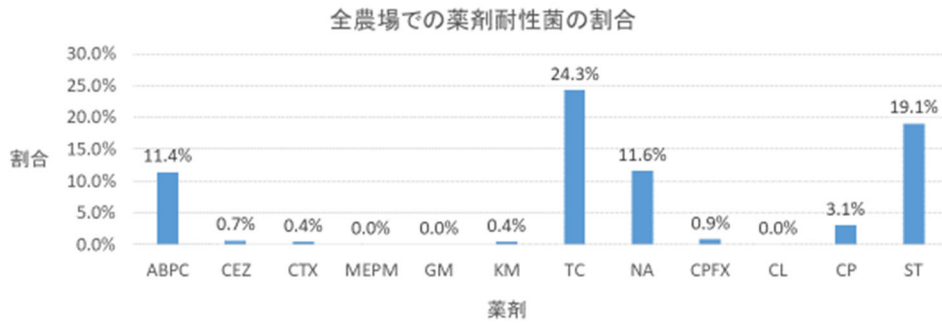
*:CC398

表 5 食肉由来株とと場分離株の POT 型の比較

調査時期 (出典)	論文株No	ST	<i>spa</i>	SCC <i>mec</i>	POT型	産地
2021-2022年 (今年度の本研究)	M33	398	*	VII(5C1)	64-0-0	鹿児島県
	M53	398	t571	V(5C2)	64-16-5	国産
	M63	398	*	Vc(5C2&5)	64-144-65	茨城県
	M75	398	*	unknown	64-0-0	鹿児島県
	M86	398	*	不明	64-0-0	鹿児島県
	M88	398	*	不明	64-208-65	スペイン
	M89	398	*	Vc(5C2&5)	64-144-65	北海道
	KN7	398	t16964	V(5C2&5)	64-128-69	国産
	KN8	398	t034	V(5C2&5)	64-46-64	国産
	KN26	398	t571	Vc(5C2&5)	64-0-5	千葉県
	KN53	398	*	unknown	64-0-0	国産
KN54	398	t571	VII(5C1)?	64-0-0	国産	
2017+和田と畜場 (Sasakiら, JVMS, 2020)	f-1	398	t034	IVa	104-64-33	
	f-2	398	t034	IVa	104-0-0	
	a-1	398	t034	V	64-192-101	
	b-1	398	t034	V	64-144-117	
	b-2	398	t034	V	64-144-101	
	c-1	398	t011	V	64-64-33	
	c-2	398	t011	V	64-64-33	
	d-1	398	t034	V	64-144-117	
	g-1	398	t034	V	64-144-101	
	g-2	398	t034	V	64-144-101	
	e-1	398	t034	V	64-114-117	
h-1	398	t034	IVa	104-0-1		
i-1	398	t034	V	64-144-117		
2018芝浦と畜場 (Sasakiら, JVMS, 2022)	a-1	398	t011	IVd	104-0-0	
	a-2	398	t011	IVd	104-0-0	
	f-1	398	t011	IVd	104-0-0	
	g-1	398	t011	IVd	104-0-0	
	h-1	398	t011	IVd	104-0-0	
	j-1	398	t011	V	64-0-0	
	l-1	398	t011	IVd	104-0-0	
	m-1	398	t011	IVd	104-0-0	
* 検討中						

図 4

採卵鶏農場由来大腸菌における薬剤耐性菌の割合



ABPC,TC,NA,ST耐性菌が多い
MEPM,GM,CL耐性菌はどの農場でも見られなかった

図 5

農場ごとの薬剤耐性菌の分布状況

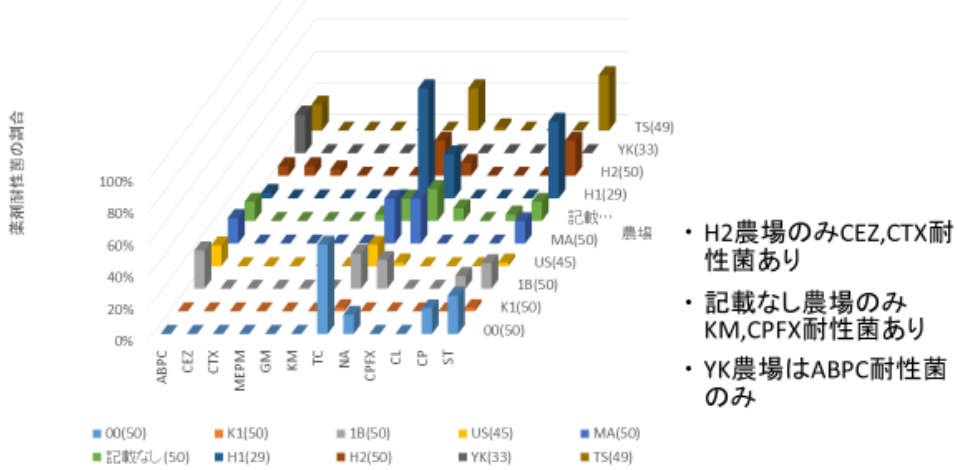


図 6

鶏の週齢ごとの薬剤耐性菌の割合

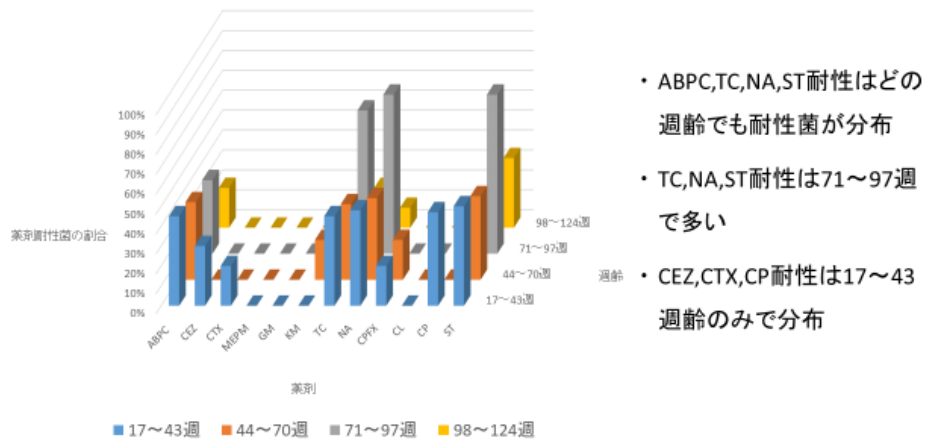
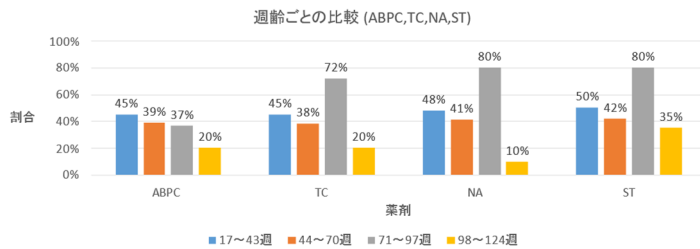


図 7

ABPC,TC,NA,STにおける週齢ごとの比較



ABPC耐性菌は若齢から高齢になるにつれ薬剤耐性菌の割合が減少しているのに対し、TC,NA,ST耐性菌は17~43週から44~70週にかけて減少し44~70週から71~97週にかけて急増しているという違いが見られた

表 6

表. 肉用鶏群の盲腸内容物、胸肉サルモネラ汚染状況と抗菌薬使用											
施設	群	採材		盲腸内容物		胸肉		使用抗菌薬			
		年	月	陽性数	血清型 (薬剤耐性パターン)	血清型 (薬剤耐性パターン)	PC系	FQ系	TC系	ML系	ST合剤
A	A1	R4	6	3	S (SM+KM+TC+TMP)	S (SM+KM+TC+TMP)	-	-	-	-	-
	A2	R4	7	2	S (SM+KM+TC)	S (SM+KM+TC)	-	-	-	-	-
	A3	R4	8	2	S (KM)	S (SM+KM+TC+TMP), I (SM+KM+TC+TMP)	-	-	-	-	-
	A4	R4	8	0	-	-	-	-	-	-	-
	A5	R4	9	2	S (SM+KM+TC+TMP)	S (SM+TC+TMP)	-	-	-	-	-
	A6	R4	10	4	S (SM+KM+TC)	S (SM+KM+TC)	-	-	-	-	-
B	B1	R4	6	0	-	S (SM+KM+TC+TMP)	○	○	-	-	○
	B2	R4	7	0	-	-	○	○	-	-	○
	B3	R4	8	0	-	S (KM+TC)	○	○	-	-	○
	B4	R4	9	2	S (SM+KM+TC+TMP)	-	-	-	-	-	-
	B5	R4	9	1	S (SM+KM+TC+TMP)	S (SM+KM+TC+NA)	-	-	-	-	-
C	C1	R4	6	3	S (SM+KM+TC+TMP)	S (SM+KM+TC+TMP)	-	-	-	-	-
	C2	R4	7	0	-	S (SM+KM+TC+TMP)	-	-	-	-	-
	C3	R4	8	2	S (SM+KM+TC+TMP)	S (SM+KM+TC+TMP)	-	-	-	-	-
	C4	R4	9	1	S (SM+KM+TMP)	M (SM+TC)	-	-	-	-	-
	C5	R4	9	5	S (SM+KM+TC), UT (SM)	UT (感受性)	-	-	-	-	-
D	D1	R4	6	4	S (SM+KM+TC), M (SM+TC)	S (SM+KM+TC)	-	-	-	-	-
	D2	R4	7	3	S (SM+KM+TC+NA+TMP)	S (SM+KM+TC+TMP)	-	-	-	-	-
	D3	R4	7	3	M (SM+TC)	M (SM+TC)	-	-	-	-	-
	D4	R4	8	0	-	-	-	-	-	-	-
	D5	R4	9	2	S (感受性)	S (SM+TC), M (SM+TC)	-	-	-	-	-
	D6	R4	10	1	S (SM+KM+TC)	S (KM)	-	-	-	-	-
	D7	R4	11	0	-	M (SM+TC)	-	-	-	-	-
E	E1	R4	6	4	S (SM+KM+TC+NA+TMP)	S (SM+KM+TC+NA+TMP)	-	○	-	○	-
	E2	R4	7	0	-	S (SM+KM+TC+NA+TMP)	○	-	-	-	-
	E3	R4	8	3	S (SM+KM+TC+TMP)	S (SM+KM+TC+TMP)	-	-	-	-	-
	E4	R4	9	3	S (SM+KM+TC+NA+TMP)	S (SM+KM+TC+NA+TMP)	-	-	○	-	-
	E5	R4	9	1	S (SM+KM+TC+NA)	-	-	-	-	-	-
	E6	R4	10	4	S (SM+KM+TC+NA+TMP)	S (SM+KM+TC+NA+TMP)	-	-	-	-	-
F	F1	R4	6	2	S (KM+TMP), M (SM+TC)	S (KM+TMP)	-	-	-	-	-
	F2	R4	7	2	S (SM+KM+TC+NA)	S (SM+KM+TC+NA)	-	-	-	-	-
	F3	R4	7	1	S (SM+KM+TC+TMP)	S (SM+KM+TC+TMP)	-	-	-	-	-
	F4	R4	8	3	S (SM+KM+TC)	S (SM+KM+TC)	-	-	-	-	-
	F5	R4	9	1	S (SM+KM+TC+TMP)	S (SM+KM+TC+TMP)	-	○	-	-	-
	F6	R4	9	2	S (SM+KM+TC+TMP)	S (SM+KM+TC+NA)	-	-	-	-	-
G	G1	R3	10	3	S (KM)	S (KM+NA)	-	-	-	-	-
	G2	R4	3	4	S (SM+KM)	S (SM+KM+NA)	-	○	-	-	-
	G3	R4	4	2	S (KM)	S (KM)	-	-	-	-	-
	G4	R4	4	5	S (KM)	S (SM+KM+NA)	-	-	-	-	-
	G5	R4	4	5	S (KM+NA)	S (NA)	-	-	-	-	-
	G6	R4	5	4	S (KM)	S (KM)	○	○	-	-	-
	G7	R4	5	5	S (KM)	S (KM)	-	-	-	-	-
	G8	R4	6	4	S (KM)	S (KM+NA)	-	○	-	-	-
	G9	R4	6	1	S (KM)	S (KM+NA)	-	-	-	-	-
	G10	R4	8	0	-	-	○	○	-	-	-
	G11	R4	11	2	S (KM+NA)	S (KM)	-	-	-	-	-

1) ABPC: アンピシリン, KM: カナマイシン, NA: ナリジクス酸, SM: ストレプトマイシン, TC: テトラサイクリン, TMP: トリメトプリム, PC系: ペニシリン系, FQ系: フルオロキノロン系, TC系: テトラサイクリン系, ML系: マクロライド系, ST合剤, サルファ剤複合製剤

2) M: *S. Manhattan*, S: *S. Schwarzengrund*, UT: Untypeable.

表 7

外国産鶏肉から分離されたサルモネラ株の血清型および薬剤耐性パターン

O群 (株数)	血清型	薬剤耐性パターン(輸出国)	株数
O:4 (6)	Agona (3)	ABPC, CEZ, CTX, SM, TC, NA, TMP (タイ)	1
		ABPC, SM, TC, NA, TMP (タイ)	1
		SM, TC, TMP (タイ)	1
	Saintpaul (1)	ABPC, SM (タイ)	1
	Typhimurium monophasic variant (2)	ABPC, SM, TC (タイ)	1
		ABPC, SM (ブラジル)	1
O:7 (1)	Oslo (1)	susceptible (タイ)	1
O:8 (3)	Albany (1)	ABPC, SM, GM, KM, NA (タイ)	1
	Kentucky (1)	ABPC, SM, GM, TC, NA, CPFX (タイ)	1
	Newport (1)	NA (ブラジル)	1
O:9 (1)	Enteritidis (1)	CL (タイ)	1
O:21 (3)	Minnesota (3)	ABPC, CEZ, CTX, TC, NA (ブラジル)	2
		KM, TC, NA (ブラジル)	1

ABPC: アンピシリン、CEZ: セファゾリン、CTX: セフォタキシム、SM: ストレプトマイシン、GM: ゲンタマイシン、KM: カナマイシン、TC: テトラサイクリン、NA: ナリジクス酸、CPF: シプロフロキサシン、CL: コリスチン、TMP: トリメトプリム

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

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

研究協力者 青木 弘太郎、小森 光二、三浦 将太、山口 哲央

東邦大学医学部微生物・感染症学講座

研究要旨

本研究では、食用豚から分離されるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) がヒトに与える影響を解析することを目的とした。21農場に由来する豚の豚耳から80株、113の医療施設を受診した重複のない患者の皮膚検体から259株のMRSAを分離・収集した。臨床材料由来および豚耳由来の菌株における薬剤耐性率はそれぞれレボフロキサシンでは76%および5%、クリンダマイシンでは12%および95%、テトラサイクリンではそれぞれ11%および88%と大きな差異があった。また、ドラフト全ゲノム解析が完了した一部の菌株におけるmultilocus sequence typing (MLST)により明らかになった優勢に分離されたclonal complex (CC) は、臨床材料由来ではCC8 (25株)、CC1 (13株)、およびCC22 (5株)だったのに対し、豚耳由来ではCC398 (62株)、CC5 (7株)、CC188 (4株)だった。上述のように、同時期に分離された臨床由来および豚耳由来MRSAを比較解析したところ、関連のある菌株は検出されなかった。しかしながら、ドラフト全ゲノム解析が完了していない菌株の解析結果ならびに今後の菌株の分離動向に引き続き注目する必要がある。

A. 研究目的:

本研究では、関東地方の食肉処理場で処理された家畜サンプルから分離されたメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) の分子疫学的特徴を明らかにする。また、同時期に医療関連施設で検出されたMRSAとゲノムレベルで比較することで、家畜由来MRSAがヒトに及ぼす影響を検討する。

B. 研究方法:

臨床分離MRSAとして、2021年11月から2022年10月の間に26都道府県の医療施設を受診した外来患者の皮膚から分離されたMRSAを収集した。これらの菌株は各施設が株式会社SRLへ検体を送付して行われた外注検査で分離され、それらの分与を受けた。また、食用豚由来MRSAとして、2021年11月から2022年2月の間に関東地方のと場と畜された豚の耳を1養豚場につき5匹(1匹につき1つの耳)を材料としてMRSAの分離を行った。豚耳全体を6.5%NaCl添加MHBで増菌後、ポアメディアMRSA分離培地II(栄研化学)を用いてMRSAを選択的に培養した。薬剤感受性検査は23薬剤についてフローズンプレート(栄研化学)を用いた微量液体希釈法により行った。イルミナシークエンサーによるドラフト全ゲノム解析は国立

感染症研究所薬剤耐性研究センターに依頼した。

(倫理面への配慮)

本研究は東邦大学医学部倫理委員会の承認を得て行った(承認番号:A21075)。

C. 研究結果:

皮膚由来MRSAは113施設の重複のない患者から分離された259株が収集された。21農場の豚耳から80株のMRSAが分離された。臨床由来株と豚由来MRSAの薬剤感受性検査成績を比較したとき、レボフロキサシンの耐性率がそれぞれ76%および5%と大きく異なった。同様に、クリンダマイシンでは12%および95%、テトラサイクリンではそれぞれ11%および88%だった。臨床材料由来MRSAのうち全ゲノム解析が完了した菌は53株であり、multilocus sequence typing (MLST)によるclonal complex (CC)は属した菌株が多い順にCC8 (25株)、CC1 (13株)、CC22 (5株)、CC5 (3株)、CC121 (3株)、CC89 (2株)だった。2株は*mecA*陰性だった。豚耳由来MRSAが属したCCは同様に、CC398 (62株)、CC5 (7株)、CC188 (4株)であり、2株は*mecA*が陰性だった。なお、両材料から分離されたCC5に属する菌株は、臨床材料由来がST764、ST1524、および新規STであり、豚耳

由来が ST5 であった。

D. 考察:

同時期に臨床由来および豚耳由来 MRSA の薬剤感受性の差異は効率に分離される系統の違いが原因であると考えられた。両材料から分離された CC5 に属する菌株は ST が異なったため、遺伝的関連のある菌株は検出されなかった。ただし、本報告書作成時点では収集した菌液の一部の全ゲノム解析結果に留まる。

E. 結論

全ゲノム解析を完了した臨床材料由来菌株に豚耳由来株と遺伝的関連のある菌株は検出されなかった。しかし、全ゲノム解析が完了していない菌株が残っている点、引き続き臨床材料の菌株を収集している点から、今後の解析結果ならびに分離動向を注視する必要がある。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

該当なし。

2. 学会発表

該当なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし。

2. 実用新案登録

該当なし。

3. その他

該当なし。

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：川西 路子（農林水産省動物医薬品検査所）
研究協力者：関口 秀人（農林水産省動物医薬品検査所）
研究協力者：小澤 真名緒（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：平岡 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）
研究協力者：熊川 美旺（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（令和元年度及び令和2年）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、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 (*Campylobacter jejuni*) については牛では ST806 が、鶏では ST918 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。また、MRSA の cgMLST による解析では、過去の病気の豚から分離されたメチシリン感受性黄色ブドウ球菌 (MSSA) (ST398) 株は、現在国内の豚から検出される MRSA (ST398) と遺伝的な関連性は低いと考えられた。

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2年度にと畜場及び食鳥処理場で分離された大腸菌及びサルモネラのうち、コリスチンの最小発育阻止濃度 (MIC) が $2 \mu\text{g/mL}$ 以上の株についてコリスチン耐性遺伝子 (*mcr-1*~*mcr-10*) の保有状況を確認したところ、大腸菌から *mcr-1* 遺伝子、*mcr-5* 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。2010年から2015年に健康家畜（牛、豚、鶏）から分離された大腸菌の *mcr-5* が乗っている環状プラスミドの配列を比較したところ、*mcr-5* 保有プラスミドの中には、動物種に特異的なものもある可能性が示唆された。

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 (感疫研) 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ドラフトゲノム配列を取得し、血清型別や遺伝子型別を行うとともに、薬剤耐性遺伝子の検出を行った。さらに、MRSA について、cgMLST 解析による分子疫学的関係を分析した。

また、ヒト用医薬品として注射剤が承認され、医療上重要な抗菌性物質として再認識されているコリスチンについては、伝達性耐性遺伝子 *mcr* 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 185 株 (鶏由来のみ) 及びカンピロバクター 311 株 (牛由来: 227 株、鶏由来 84 株) (令和元年度及び令和 2 年度) について、DNA を抽出し、感疫研において、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 2 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 7 株及び食鳥処理場由来サルモネラ属菌 107 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 法によって検出した。

(3) *mcr* 遺伝子を保有したプラスミドの解析

2010 年から 2015 年に健康家畜 (牛、豚、鶏) から分離された大腸菌のうち、*mcr-5* 遺伝子を保有する 26 株についてハイブリッドアセンブルによって *mcr-5* が乗っている環状プラスミドの配列を取得し、そこに乗っている耐性遺伝子の検出及び Inc 型の決定を行った。

(4) 豚由来 MRSA の遺伝子解析

2022 年に食肉処理場の豚から分離された MRSA40 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、その配列を用いて MLST 型別、*spa* 型別、SCC*mec* 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、過去の病気の豚から分離された MSSA (ST398) 株との cgMLST 型別による分子疫学的解析を実施した。

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 (76.8%) が一番多く、次いで Infantis (21.1%) が多かった (図 1)。ST は ST241 (74.1%) が最も多く、次いで ST32 (20.5%) 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* (71.4%) 及び *aph(3')-Ia* (73.5%)、テトラサイクリン耐性遺伝子である *tet(A)* (72.4%)、サルファ剤耐性遺伝子である *sul1* (71.4%)、トリメトプリム耐性遺伝子である *dfrA14* (61.1%) 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

牛由来では、ST806 (25.6%)、次いでST21 (17.6%)が多かった(図4)。鶏由来ではST918 (8.3%)が最も多く、次いでST4389 (7.2%)が多かった(図5)。耐性遺伝子は、牛由来、鶏由来ともにβ-ラクタマーゼ遺伝子である *bla*_{OXA-193} (牛: 71.0%、鶏: 50.0%) 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) (牛: 69.6%、鶏 31.0%)が多かった(図6、7)。牛由来及び鶏由来ともに、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。

(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8)

大腸菌について、*mcr-1*、*mcr-3* 及び *mcr-5* 遺伝子のみ検出された。*mcr-1* が豚から5株(4.3%: 割合は、各年の各動物種由来株全株に対するもの)、鶏から1株(0.6%)、*mcr-3* が豚から1株(0.8%)、*mcr-5* が牛由来から1(0.3%)株検出された。なお、豚由来の *mcr-3* は、*mcr-1* 保有株から検出された。一方サルモネラからはいずれの *mcr* 遺伝子も検出されなかった。

(3) 健康家畜由来大腸菌におけるコリスチン耐性遺伝子(*mcr-5*)保有プラスミドの解析(表)

プラスミドに乗っている耐性遺伝子の数は1から11とバリエーションがあったが、*mcr-5* のみが載っているサイズが60Kbから77KbでIncFIIのプラスミドが牛由来株9株及び豚由来株1株から検出された。また、*mcr-5* 及び *bla*_{TEM-1B} が載ったIncFIIのプラスミド牛由来株2株及び豚由来株1株から、*mcr-5* の他に *tet*(A)、*qnrS1* 等が載っているサイズが127Kbから130KbでIncFIBのプラスミドが鶏由来株5株から検出された。

(4) 豚由来メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)の解析

MRSAについては、ST398 (82.5%) が最も多く、次いでST5 (15.0%)であった(図9)。*spa* 型は、t034 (65.0%) が最も多く、SCC*mec* 型は Vc 型 (62.5%)が多かった(図10)。また、全体の67.5%の株が、亜鉛耐性遺伝子である *czrC* を保有していた。

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

blaZ 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 (70.0%)、テトラサイクリン耐性遺伝子である *tet*(M) (82.5%) 及び *tet*(K) (80.0%) が認められた(図11)。

cgMLSTの結果では、以前に病畜から分離されたMSSA (ST398) の6株は、国内の豚由来のMRSA ST398/t034株と異なるクラスターを形成した。また西日本、東日本由来株だけで形成されるクラスターも確認された(図12)

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、ヒト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。牛由来株において、最も多いST型の一つであるST806は、以前牛の胆のうやヒト臨床由来株からの分離も報告されている型であった。ヒトのカンピロバクター感染症では、基本的に抗菌剤は使用されないが、重症事例の治療のためにマクロライド系薬剤が使用される。今回解析した株からは、マクロライド系薬剤の耐性遺伝子は検出されておらず、治療に影響を及ぼす懸念は小さいものと考えられた。

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*、*mcr-3* 及び *mcr-5* 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-5*

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、*mcr-5* 保有プラスミドの中には、動物種に特異的なものもある可能性が示唆された。コリスチンは平成 30 年に飼料添加物としての指定が取消され、動物用医薬品としては第二次選択薬に指定され限定的に使用されている。鶏用の動物用医薬品は販売されておらず、現在はコリスチンの選択圧はないが、コリスチン耐性遺伝子がテトラサイクリン耐性遺伝子と同じプラスミド上にあることから、テトラサイクリンの使用によって、コリスチン耐性が共選択され、消失せずに検出されている可能性も考えられた。したがって、第二次選択薬としてのコリスチンはもちろん、その他の抗菌剤も含めた抗菌剤の慎重使用の徹底や抗菌剤の使用機会の低減につながる飼養衛生管理の向上、ワクチンによる感染防御等の取組の推進が重要である。

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。テトラサイクリン耐性遺伝子、アミノグリコシド耐性遺伝子や亜鉛耐性遺伝子等を高率に保有していることから、MRSA の選択圧を下げるためには、テトラサイクリンやアミノグリコシド系抗菌剤のより一層の慎重使用の徹底、亜鉛の使用は栄養成分として必要な最小限とすることが重要であると考えられた。

また、分子疫学的な解析の結果、過去の病気の豚から分離された MSSA (ST398) 株は、現在国内の豚から検出される MRSA (ST398) と遺伝的な関連性は低いと考えられ、これらの日本に存在していた MSSA (ST398) 株が国内で *mecA* 遺伝子を獲得し、MRSA として拡散したのではないものと考えられた。なお、MRSA は日本の広い範囲で分離される株と一部の地域でのみ分離される株があることが示唆されたが、母豚の入手経路や、肥育豚流通などが影響している可能性も考えられ、それらを考慮した検討が必要である。

現在のところ、国内において豚から分離される MRSA とヒトから分離される MRSA では遺伝子型等が異なり、豚からヒトに感染した事例はないと考えられるが、海外では豚からヒトへの直接接触による感染事例も報告されていることから、豚の生産者等

において直接感染を防ぐための、手洗い等を徹底するとともに、豚における MRSA の保有状況や遺伝学的状況を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。

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、ヒト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。

今回の結果からは、家畜由来の薬剤耐性菌が、ヒトの感染症の治療に影響を及ぼす懸念を示す明らかな知見は確認されなかったが、今後も薬剤耐性菌が増加することのないよう、動物分野における抗菌剤の慎重使用の徹底、抗菌剤の使用機会の低減などの薬剤耐性対策を引き続き推進していく必要がある。

F. 健康危害情報

なし

G. 研究発表

1.論文発表

- (1) 1. 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 *Staphylococcus aureus* isolated from pigs in Japan. *Vet Microbiol.* 2022 ;273:109523. doi: 10.1016/j.vetmic.2022.109523.

2.学会発表

- (1)川西路子、小澤真名緒、古谷ゆかり、森谷このみ、松田真理、赤間亮子、熊川実旺、首藤江梨奈、関口秀人、嶋崎洋子「健康鶏由来サルモネラにおける薬剤感受性試験結果と全ゲノム解析による薬剤耐性遺伝子の有無の相関について」第 165 回日本獣医学会学術集会

3.業界関係者向け説明会

なし

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

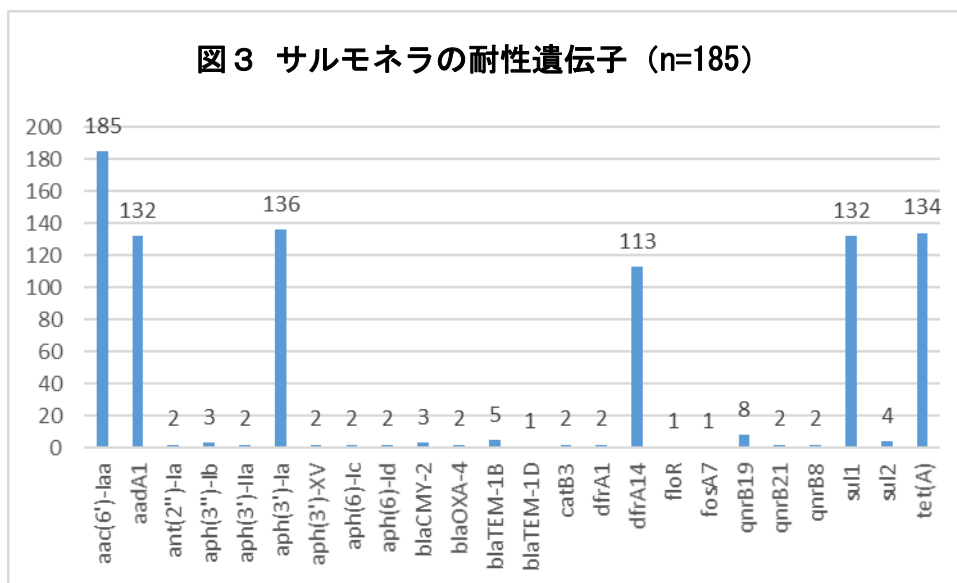
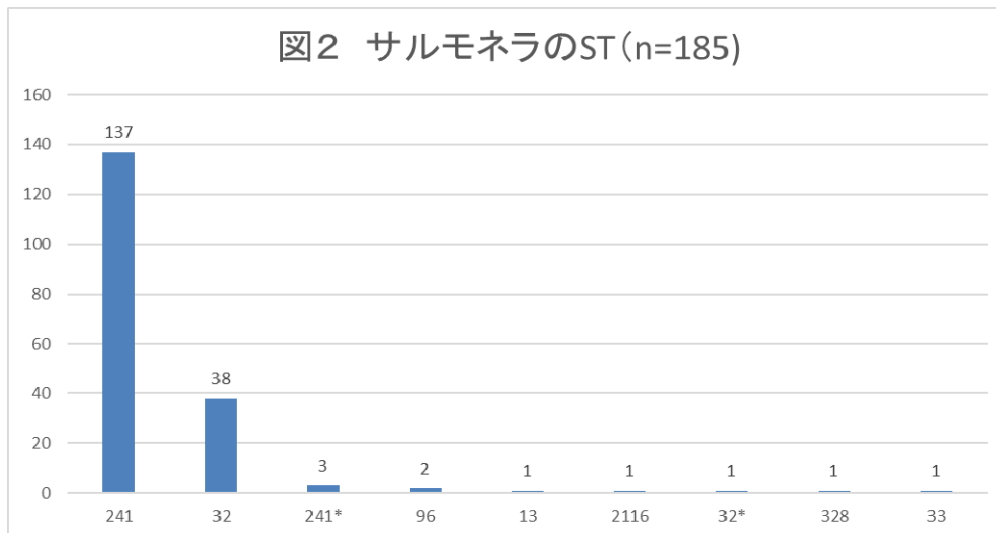
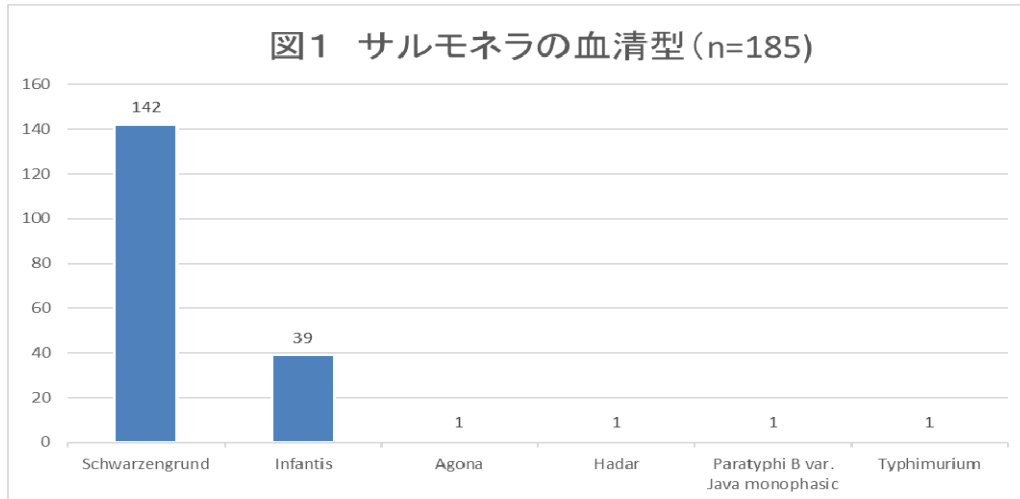


図4 牛由来 *C. jejuni* の ST (n=227)

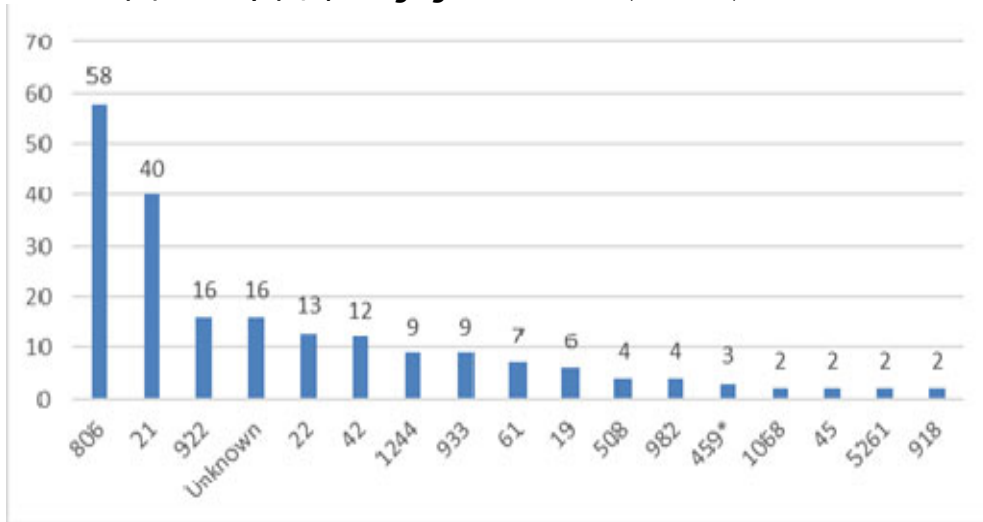


図5 鶏由来 *C. jejuni* の ST (n=84)

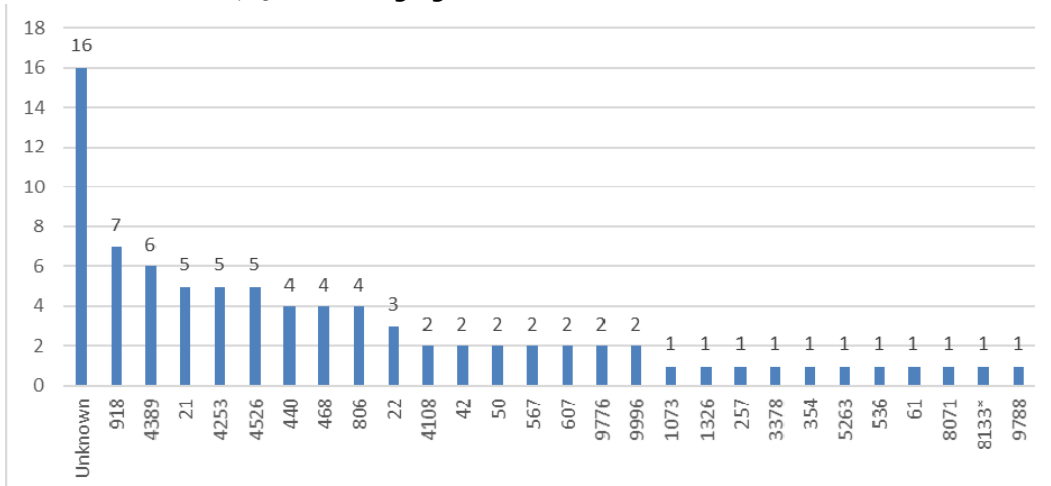


図6 牛由来 *C. jejuni* の耐性遺伝 (n=227)

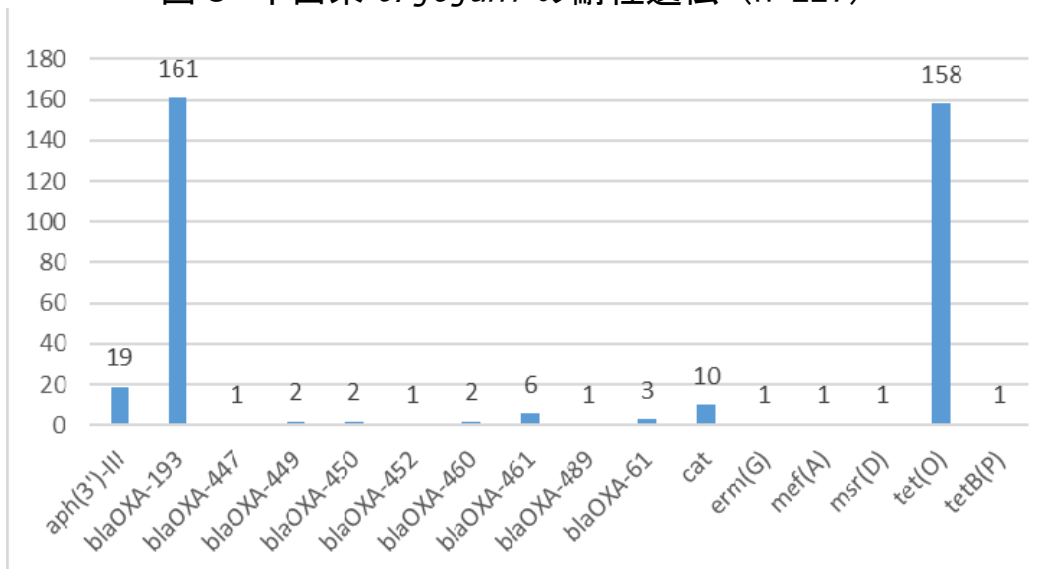


図7 鶏由来 *C. jejuni* の耐性遺伝子 (n=84)

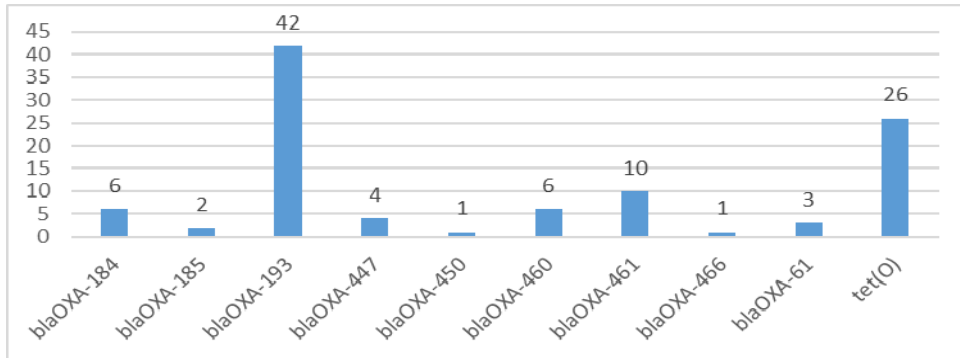


図8 と畜場及び食鳥処理場由来大腸菌
コリスチン耐性遺伝子 (*mcr1*~*mcr10*) の検出

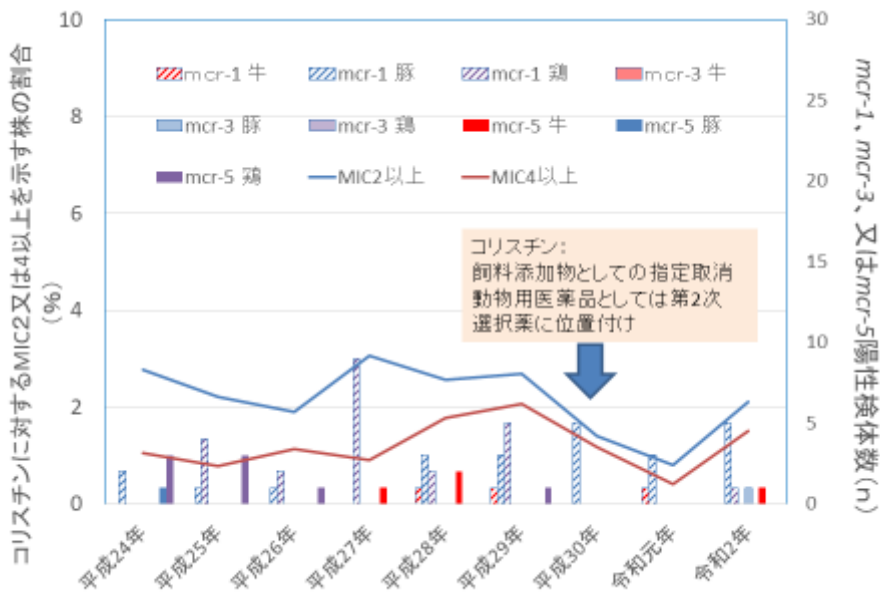


表 *mcr-5* 遺伝子保有プラスミド

Isolates	Contig length	Resistance genes	Plasmid types	No. of resistance genes
23-Ec-B-230	11623	<i>mcr-5.1</i>	CoRNAL1	1
24-Ec-P-72	45345	<i>mcr-5.1</i>	IncX1	1
27-Ec-B-117	60037	<i>mcr-5.1</i>	IncFII(pOco)	1
23-Ec-B-2	63337	<i>mcr-5.1</i>	IncFII(pOco)	1
25-Ec-B-35	68021	<i>mcr-5.1</i>	IncFII(pOco)	1
23-Ec-B-245	70101	<i>mcr-5.1</i>	IncFII(29)	1
23-Ec-B-111	70125	<i>mcr-5.1</i>	IncFII(29)	1
26-Ec-B-185	70554	<i>mcr-5.1</i>	IncFII(29)	1
27-Ec-P-20	74286	<i>mcr-5.1</i>	IncFII(29)	1
22-Ec-B-66	75139	<i>mcr-5.1</i>	IncFII(29)	1
26-Ec-B-19	77816	<i>mcr-5.1</i>	IncFII(29)	1
23-Ec-B-216	77825	<i>mcr-5.1</i>	IncFII(pHNTAB)	1
22-Ec-B-4	100633	<i>mcr-5.1</i>	IncFII(AP001918),IncFII(p-HNTAB)	1
24-Ec-B-164	21222	<i>mcr-5.1,mcr-5.2</i>	ND	2
22-Ec-P-33	66256	<i>blaTEM-1a,mcr-5.1</i>	IncFII_1	2
24-Ec-B-164	70418	<i>blaTEM-1a,mcr-5.1</i>	IncFII(pOco)	2
24-Ec-B-162	73079	<i>blaTEM-1a,mcr-5.1</i>	IncFII(pOco)	2
23-Ec-C-40	128849	<i>mcr-5.1,catA1</i>	IncFII(AP001918),I	2
27-Ec-P-94	73426	<i>aph(3'')-Ib,aph(3'')-Ib,mcr-5.1,blaF</i>	IncFII(pOco)	4
27-Ec-P-95	73432	<i>aph(3'')-Ib,aph(3'')-Ib,mcr-5.1,blaF</i>	IncFII(pOco)	4
24-Ec-C-191	127138	<i>catA1,mcr-5.1,qnrS1,blaABCD</i>	IncFII(AP001918)	4
22-Ec-C-148	127186	<i>catA1,mcr-5.1,qnrS1,blaABCD</i>	IncFII(AP001918)	4
23-Ec-C-90	128475	<i>catA1,mcr-5.1,qnrS1,blaABCD</i>	IncFII(AP001918)	4
24-Ec-C-143	130648	<i>aph(3'')-Ib,catA1,mcr-5.1,blaABCD</i>	IncFII(AP001918)	4
25-Ec-C-96	128772	<i>catA1,mcr-5.1,qnrS1,blaABCD,blaA14</i>	IncFII(AP001918)	5
24-Ec-P-72	142733	<i>aaa47,aaa42,blaTEM-1a,catA1,mcr-5.1,catA1,catA12</i>	IncFII(AP001918)	8
26-Ec-B-209	211953	<i>aph(3'')-Ib,aph(3'')-Ib,aph(3'')-Ib,blaTEM-1a,blaTEM-1a,catA1,catA12,catA1,catA12</i>	IncHI1(BR27)1_R27	9
22-Ec-P-12	155101	<i>aaa47,aaa42,aph(3'')-Ib,aph(3'')-Ib,catA1,catA12,mcr-5.1,catA1,catA12,catA12</i>	IncFII(pOco)_pOco,IncH1,IncX1_J	11

図9 と畜場の豚由来 MRSA の MLST 型別及び spa type

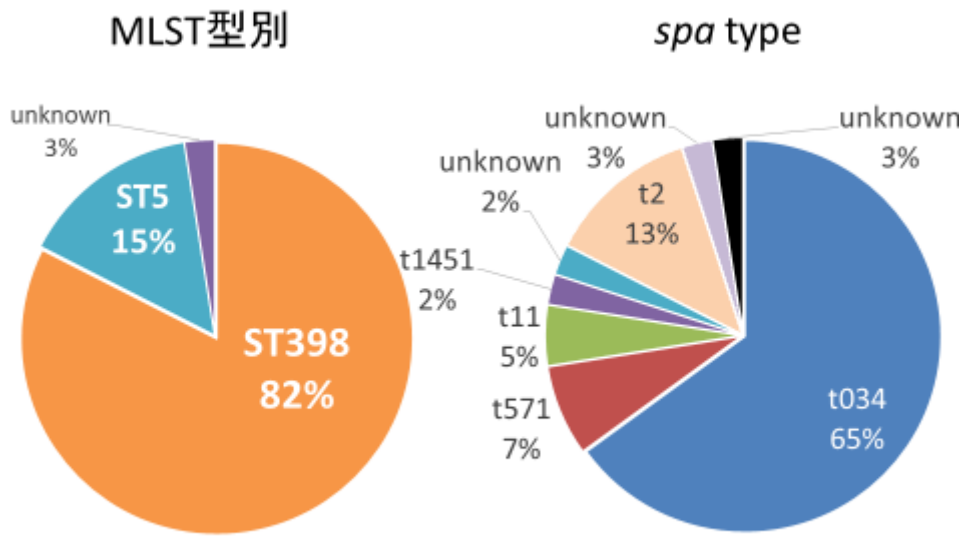


図10 と畜場の豚由来 MRSA の亜鉛耐性遺伝子及び SCCmec 型別

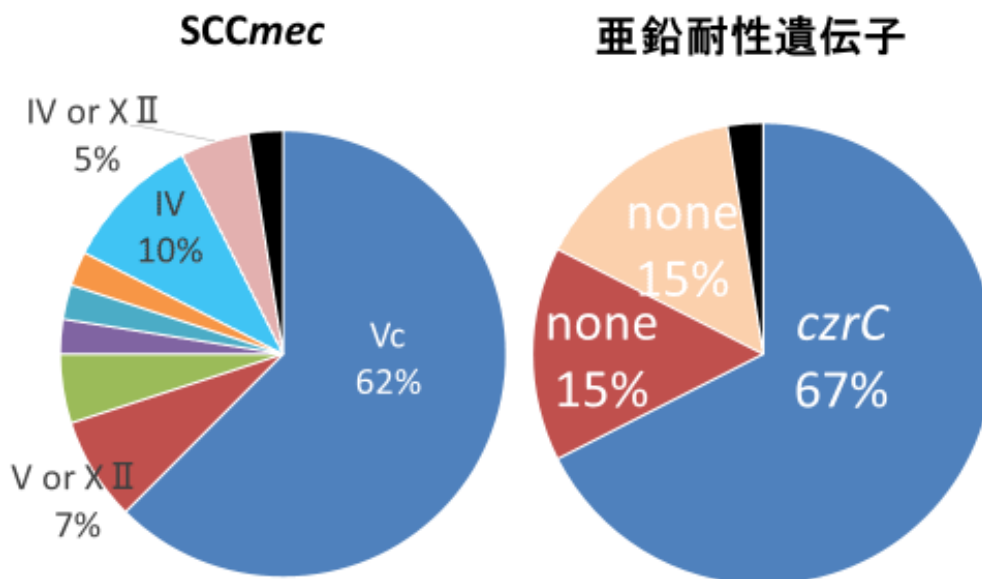


図 11 と畜場の豚由来 MRSA の薬剤耐性遺伝子保有割合 (n=40)

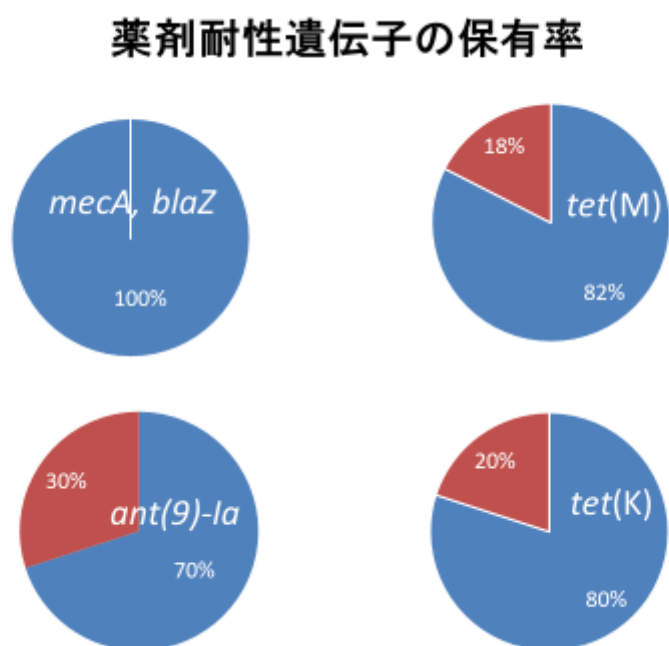
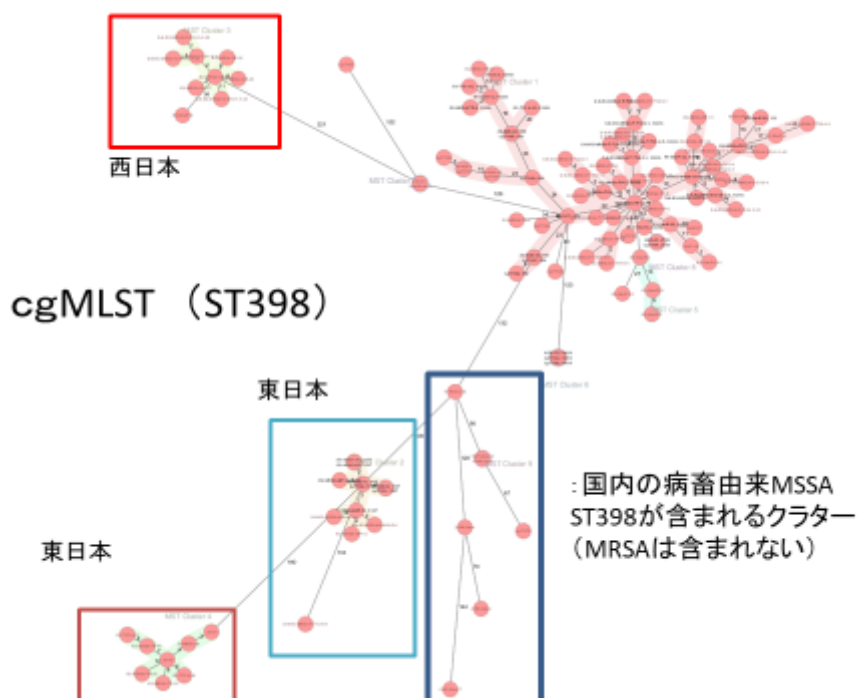


図 12 豚由来 MRSA の cgMLST



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4年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 菅井 基行

令和5（2023）年 5月

目 次

I. 令和4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4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-----	32
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-----	40
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-----	51
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-----	85
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-----	100
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-----	102
研究分担者 川西 路子 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 -----	112

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
菅井基行、蟹江亜希子	食品の薬剤耐性動向調査への取り組み	畜産コンサルタント	9	22-28	2022
富山満里奈、市川隆、村松智恵子、浅井鉄夫	東海地方の家畜からの <i>Escherichia albertii</i> の分離と性状解析	日獣会誌	75	e107-e113	2022
Hirakawa H, Suzue K, Uchida M, Takita A, Kamitani W, <u>Tomita H.</u>	A Macroporous Magnesium Oxide-Templated Carbon Adsorbs Shiga Toxins and Type III Secretory Proteins in Enterohemorrhagic <i>Escherichia coli</i> , Which Attenuates Virulence.	Front Microbiol.	13	883689	2022
Hirakawa H, Kimura A, Takita A, Chihara S, Tanimoto K, <u>Tomita H.</u>	Adsorption of extracellular proteases and pyocyanin produced by <i>Pseudomonas aeruginosa</i> using a macroporous magnesium oxide-templated carbon decreases cytotoxicity.	Curr Res Microb Sci.	3	100160	2022
Kurushima J, <u>Tomita H.</u>	Advances of genetic engineering in streptococci and enterococci.	Microbiol Immunol.	66(9)	411-417	2022
Suzuki M, Hashimoto Y, Hirabayashi A, Yahara K, Yoshida M, Fukano H, Hoshino Y, Shibayama K, <u>Tomita H.</u>	Genomic Epidemiological Analysis of Antimicrobial-Resistant Bacteria with Nanopore Sequencing.	Methods Mol Biol.	2632	227-246	2023

Hashimoto Y, Suzuki M, Kobayashi S, Hirahara Y, Kurushima J, Hirakawa H, Nomura T, Tanimoto K, Tomita H.	Enterococcal Linear Plasmids Adapt to Enterococcus faecium and Spread within Multidrug-Resistant Clades.	Antimicrob Agents Chemother.	67(4)	e0161922	2023
Sasaki, Y., <u>Asakura, H.</u> , <u>Asai, T.</u>	Prevalence and fluoroquinolone resistance of <i>Campylobacter</i> spp. isolated from beef cattle in Japan.	Animal Diseases	2	15	2022
Sasaki Y, Aoki K, <u>Ishii Y</u> , Tamura Y, <u>Asai</u>	First isolation of ST398 methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> carrying staphylococcal cassette chromosome mec type IVd from pig ears in Japan.	J Vet Med Sci.	84(9)	1211-1215	2022
Sasaki Y, Yonemitsu K, Uema M, <u>Asakura H</u> , <u>Asai T</u> .	Prevalence and antimicrobial resistance of <i>Campylobacter</i> and <i>Salmonella</i> in layer flocks in Honshu, Japan.	J Vet Med Sci.	84(11)	1502-1507	2022
Ozawa M, Furuya Y, Akama R, Harada S, Matsuda M, Abo H, Shirakawa T, <u>Kawanishi M</u> , Yoshida E, Furuno M, Fukuhara H, Kasuya K, Shimazaki Y.	Molecular epidemiology of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> isolated from pigs in Japan.	Vet Microbiol.	273	109523	2022
<u>Konishi N</u> , Obata H, Yokoyama K, Sadamasu K, Kai A	Comparison of the serovers and the characteristics of <i>Salmonella</i> isolated from human feces and foods in the 1990s and the 2010s in Tokyo.	Jpn J Infect Dis.	76	14-16	2023

Kutsuno S, Hayashi I, Yu L, Yamada S, Hisatsune J, <u>Sugai</u> <u>M.</u>	Non-deacetylated poly- <i>N</i> - acetylglucosamine- hyperproducing <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> undergoes immediate autoaggregation upon vortexing.	Front Microbiol.	13	1101545	2023
L Yu, J Hisatsune, S Kutsuno, <u>M</u> <u>Sugai.</u>	New molecular mechanism of super- biofilm elaboration in a <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> clinical strain.	Microbiol Spectr.	11(2)	e0442522	2023

令和5年4月3日

厚生労働大臣 殿

機関名 国立感染症研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 脇田 隆字

次の職員の令和4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) 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 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。

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学院長)

機関名 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(元号)4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 (所属部署・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	<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5年3月30日

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 合田 幸広

次の職員の令和4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。

厚生労働大臣
(国立医薬品食品衛生研究所長) 殿
(国立保健医療科学院長)

機関名 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 4 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 (所属部署・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
—(国立医薬品食品衛生研究所長)— 殿
—(国立保健医療科学院長)—

機関名 国立大学法人群馬大学

所属研究機関長 職 名 学長

氏 名 石崎 泰樹

次の職員の令和4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 (所属部署・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5年4月3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4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 (所属部署・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・あさい てつお

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。

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4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 (所属部署・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。

令和5年4月17日

厚生労働大臣 殿

機関名 農林水産省動物医薬品検査所

所属研究機関長 職名 所長

氏名 嶋崎 智章

次の職員の令和4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 (所属部署・職名) 検査第二部・上席主任研究官

(氏名・フリガナ) 川西 路子・カワニシ ミチコ

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

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。

・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。