

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（家畜含）、農業、食品、及び環境の各分野において薬剤耐性菌の動向を把握し、我が国のデータとして「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書」を公開することとした。また、WHOは加盟国の特定の病原菌に関するAMRデータを収集するGlobal Antimicrobial Resistance Surveillance 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。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  $\beta$ -ラクタマーゼ（ESBL）産生遺伝子、AmpC型  $\beta$ -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、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<sub>OXA</sub>*-

<sub>193</sub> (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  $\mu$ g/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<sub>TEM-1B</sub>*) 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<sub>Z</sub>* 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<sub>CTX-95</sub>* 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ただいているが、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。