

令和5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)

分担研究報告書

食品由来薬剤耐性菌の薬剤耐性獲得動向に関するサーベイランス

研究分担者 大屋賢司 国立医薬品食品衛生研究所衛生微生物部

研究協力者 石原加奈子 東京農工大学大学院農学研究院獣医公衆衛生学

研究協力者 佐々木貴正 帯広畜産大学獣医学研究部門

研究要旨

食品を介して人に伝播する病原細菌や薬剤耐性菌を検証するためのデータ取得を目的に、国内で生産加工される鶏肉における、サルモネラ、カンピロバクター及び基質拡張型βラクタマーゼ(ESBL)産生大腸菌の汚染状況調査と分離株の薬剤感受性試験を行っている。サルモネラの調査では、最も優勢な血清型*Salmonella Schwarzengrund*の分離頻度に季節性があること、分離されたサルモネラ株の薬剤耐性パターンに明確な地域性があることが明らかとなった。カンピロバクターについては、*Campylobacter jejuni*にはフルオロキノロン耐性株は認められるものの第一選択薬であるマクロライド系耐性株は検出されなかったこと、*C. coli*ではマクロライド系耐性株が検出されたことなど、汚染状況、薬剤耐性状況ともに例年の調査と同様の結果であった。大腸菌を含む腸内細菌科の中で、第3世代セファロスポリンであるセフトキシムに中間以上の耐性を示した株の約40%がβラクタマーゼ阻害剤の影響をうけることから、これらはESBL産生株であることが示唆された。分離された株は薬剤耐性研究センターでゲノム配列を取得中である。ゲノムデータを用いて詳細な系統解析、薬剤耐性と薬剤耐性遺伝子保有状況の関連性、他由来株との比較解析が可能となり、食品から人への伝播可能性のリスク解析が可能となることが期待される。

A. 研究目的：

鶏肉は、細菌性食中毒の主要な原因であるサルモネラ及びカンピロバクターに高率に汚染されており、人への感染源となることが知られる。畜産現場における抗生物質の治療及び添加物としての利用は、畜産物の安定供給のために必要であるが、薬剤耐性菌による畜産物の汚染を助長させる危険性があり、実際に鶏肉を汚染する病原細菌も薬剤耐性を獲得していることが知られていた。そのため、2012年に孵化場における第3世代セファロスポリン使用が自主的に中止され、2018年にはコリスチンの飼料添加物としての使用禁止と動物用治療薬としても第二次選択薬として位置づけられるなどの対策がとられた。これ以降、肉用鶏から検出される第3世代セフェムやコリスチン耐性のサルモネラや大腸菌は減少していることが知られるが、食品を介したこれら病原細菌及び薬剤耐性菌の人への伝播を防ぐためにも、鶏肉における継続的なモニタリングは重要である。

本分担課題では、継続して国内で生産加工される鶏肉における、サルモネラ、カンピロバクター及び基質拡張型βラクタマーゼ(ESBL)産生大腸菌の調査を行ってきた。今年度は、国立衛研と東京農工大学のグループと帯広畜産大学単独の2つのグループで調査を行った。国立衛研と東京農工大が対象とした、市販流通品に関しては、全国広範囲にわたる地域で生産された鶏肉を購入し、

サルモネラ及びカンピロバクターの汚染実態調査と分離株の薬剤感受性試験を行った。薬剤感受性試験では、「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書」に収載する際に照合しやすいデータを取得できるように、対象薬剤を他分担班と共通させたプレートを新たに設計して用いた。特にサルモネラに関しては、肉用鶏・鶏肉共に汚染の度合いに季節性があることが知られていたため、夏期と冬季に分けて調査を行った。ESBL産生菌に関しては、大腸菌に限らず、対象を広く腸内細菌科とし、汚染実態を幅広く把握することを目指した。また、帯広畜産大学では、食鳥処理場で包装された製品に限定し鶏肉由来サルモネラの地域性を厳密に検証するための調査と人胃腸炎患者由来サルモネラ株の薬剤感受性試験も行った。

B. 研究方法：

1. 国内流通鶏肉におけるサルモネラ属、カンピロバクター属及び薬剤耐性腸内細菌科細菌の汚染実態調査(国立衛研と東京農工大学で実施)

1) 食品検体

国内で製造加工された鶏もも肉もしくはむね肉を東京都、神奈川県の小売店30店舗で購入した。2023年8-9月(夏期)にかけて100検体、12月(冬期)に50検体を購入し検体とした。検体は、15都道府県を産地とするブロイラー、銘柄鶏及び

地鶏からなり、購入後冷蔵保存し消費期限内に分離に供した。購入した検体の概要を表 1 に示す。産地が北海道、青森県、岩手県、宮城県、新潟県、千葉県、静岡県、愛知県の製品を東日本産とし、兵庫県、京都府、鳥取県、福岡県、佐賀県、宮崎県、鹿児島県を産地とする製品を西日本産として集計した。

## 2) 食品検体からの各種細菌の検出試験

購入した国産鶏もも肉もしくはむね肉の皮 25 g から以下に示すように各種細菌の分離を行った。調査の概要を表 1 に示す。サルモネラ属及びセフトキシム (CTX) 耐性菌の分離フローを図 1 に、カンピロバクターの分離フローを図 2 に示す。

### (1) サルモネラ属の分離

鶏肉の皮 25 g を 225 mL の緩衝ペプトン水 (BPW; 島津ダイアグノスティックス) 中で 1 分間ストマッキング処理を行い、37°C で 22±2 時間前増菌を行った。この前増菌液 0.1 mL を 10 mL の Rappaport-Vassiliadis 培地 (島津ダイアグノスティックス) に加え、42°C で 22±2 時間選択増菌培養した。選択増菌後の培養液を白糖加 SS カンテン培地 (島津ダイアグノスティックス) 及びクロモアガー-Salmonella 培地 (関東化学) に画線塗抹し 35°C で 22±2 時間培養した。生育したサルモネラ属定型的なコロニーを各選択培地から最低 1 コロニーずつ釣菌し Triple-Sugar-Iron 寒天培地 (島津ダイアグノスティックス) 及び Lysine-Indole-Motility 培地 (島津ダイアグノスティックス) を用いた生化学性状試験によってサルモネラ属菌とした。同定した菌株の Trypticase Soy Agar (TSA、Oxoid) 上に生育した集落を生理食塩水に懸濁し、サルモネラ免疫血清 (O 群血清、デンカ) を用いて O 群別試験を行った。H 型別試験 (第 1 相および第 2 相) はサルモネラ免疫血清 (H 血清、デンカ) を用いて試験管凝集法にて行った。各検体から 1 血清型をその後の解析に供した。

### (2) カンピロバクター属の分離

鶏肉の皮 25 g を 100 mL のプレストン培地 (サプリメント及び馬血清添加、関東化学) 中で 1 分間ストマッキング処理を行い、42°C で 22±2 時間微好気培養 (5% O<sub>2</sub>、10% CO<sub>2</sub>) を行った。培養後、mCCDA 培地 (栄研化学) に画線塗抹し 42°C で 48-72 時間微好気培養を行った。mCCDA 培地上の定型コロニーを各検体 2 コロニーずつ釣菌し羊血液寒天培地 (島津ダイアグノスティックス) に移植し単離した。PCR により、*Campylobacter jejuni*、*Campylobacter coli* もしくはその他のカンピロバクター属か菌種の同定を行い、各検体から 1 菌種当たり 1 株をその後の解析に供した。

### (3) CTX 耐性菌の分離

上記 B.1.2) (1) で培養した BPW 前増菌液をクロモアガー-ESBL 培地 (関東化学) に画線塗抹し 35°C で 22±2 時間培養した。生育した藤色、青色及び白色のコロニーを各検体 1 コロニーずつ釣菌

し純培養した。純培養後、AXIMA 微生物同定システム (島津製作所) にて TOF-MS による菌種同定を行った。また、基質拡張型 βラクタマーゼ (ESBL)、AmpC などの βラクタマーゼ遺伝子保有状況について PCR で解析した。

### (4) 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は、供試薬剤を充填した 96 穴プレート (栄研化学) を用いて CLSI 法に準拠した微量液体希釈法にて最小発育阻止濃度 (MIC) を決定した。対象とする薬剤は、他分担班特に家畜や食品を対象とした調査を行っている班でこれまでに対象とされていた薬剤を含むように選定した。サルモネラ属及び CTX 耐性菌には、アンピシリン (ABPC)、セファゾリン (CEZ)、CTX、アモキシシリン・クラブラン酸 (ACV)、ゲンタマイシン (GM)、メロペネム (MEPM)、ストレプトマイシン (SM)、カナマイシン (KM)、テトラサイクリン (TC)、クロラムフェニコール (CP)、ナリジクス酸 (NA)、シプロフロキサシン (CPFX)、ST 合剤 (ST)、コリスチン (CL) の 14 剤を供試し、精度管理株として *Escherichia coli* ATCC 25922 株を用いた。カンピロバクター属には、ABPC、イミペネム (IPM)、SM、KM、GM、エリスロマイシン (EM)、クリンダマイシン (CLDM)、CP、TC、ドキシサイクリン (DOXY)、NA、CPFX の 12 剤を供試し、精度管理株として *C. jejuni* ATCC 33560 株を用いた。

## 2. 市販鶏肉由来サルモネラにおける薬剤耐性の地域性 (帯広畜産大学で実施)

2023 年 2 月～2024 年 3 月の間に、小売店、食鳥処理場又はネット店舗において北海道地方、東北地方、関東地方及び九州地方にある食鳥処理場 17 施設で包装された鶏肉製品 (計 108 製品) を購入し、購入から 3 日以内にサルモネラ分離試験を開始した。各製品の 3 ブロック以上から皮 (計 75g) 以上を採取し、等重量 (1 g=1mL 換算) の緩衝ペプトン水 (BPW) に入れ、ストマック処理し、本液 50mL を BPW225mL に加え、37°C で 1 日間培養 (前増菌培養) した。培養後の BPW の 1mL または 0.1 mL をそれぞれテトラチオン液体培地 10 mL またはラパポート・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。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 4 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。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 (12 薬剤: ABPC、CEZ、CTX、SM、GM、KM、TC、NA、CPFX、CL、CP 及びトリメトプリム (TMP))

を実施した。

### 3. 人胃腸炎患者に由来するサルモネラ株 (162 株) の薬剤耐性状況 (帯広畜産大学で実施)

2022 年 4~9 月の間に人胃腸炎患者から分離されたサルモネラ株 162 株について、市販鶏肉と同様に血清型別試験及び薬剤感受性試験を実施した。

(倫理面への配慮)

人材料及び個人情報を取り扱っておらず、該当しない。

## C. 研究結果:

### 1. 国内流通鶏肉におけるサルモネラ属、カンピロバクター属及び薬剤耐性腸内細菌科細菌の汚染実態調査 (国立衛研と東京農工大学で実施)

#### 1) サルモネラ属

サルモネラは夏期の調査では 41.0%の製品 (41/100 製品) で分離陽性となった。製品の種類 (銘柄と地鶏、ブロイラー) 別の集計では、銘柄と地鶏では 33.3% (18/54)、ブロイラーでは 50.0% (23/46) で分離陽性となった。さらに鶏肉の産地を東日本と西日本に大別し集計すると、東日本では 45.5% (25/55)、西日本で 31.6% (12/38) で分離陽性となった。銘柄と地鶏では東日本産が 42.9% (12/28)、西日本産が 16.7% (4/24) で分離陽性であった (表 2)。

冬期の調査では 74.0%の製品 (34/50 製品) で分離陽性となった。製品の種類別集計では銘柄鶏と地鶏で 70.8% (17/24)、ブロイラーで 76.9% (20/26) が分離陽性であった。産地別の集計では、東日本で 76.7% (23/30)、西日本で 61.5% (8/13) が分離陽性であった。銘柄と地鶏では東日本産が 81.8% (9/11)、西日本産が 54.5% (6/11) で分離陽性であった (表 2)。

分離されたサルモネラの血清型は、最も多かったのが *S. Schwarzengrund* (65 株)、次いで *S. Infantis* (11 株) であり、*S. Virchow* が 2 株、*S. Manhattan*、*S. Thompson*、*S. Mbandaka*、*Untypable* (OUT, d:1,5) が 1 株ずつであった。血清型分離率を製品別、季節別に集計すると、*S. Schwarzengrund* ではブロイラーで夏期に 41.3% (19/46)、冬期に 73.0% (19/26) の製品から分離された (図 3)。銘柄鶏・地鶏では夏期に 22.2% (12/54)、冬期に 62.5% (15/24) の製品から分離された (図 3)。*S. Infantis* はブロイラーで夏期に 4.3% (2/46)、冬期に 3.8% (1/26) の製品から分離された (図 3)。銘柄鶏・地鶏では夏期に 11.1% (6/54)、冬期に 8.3% (2/24) の製品から分離された (図 3)。産地別の集計では、ブロイラーでは東日本産、西日本産で分離率に差は認められなかった (図 4)。一方、銘柄鶏・地鶏では *S.*

*Schwarzengrund* の分離率は東日本では 47.2% (17/36)、西日本では 17.1% (6/35) であった。*S. Infantis* の分離率は東日本では 11.1% (4/36)、西日本では 5.7% (2/35) であった (図 4)。

サルモネラ 84 株の薬剤耐性試験により決定した薬剤耐性プロファイルを生血清型毎にまとめて表 3 に示す。CTX、MEPM、CPFX に耐性を示した株はなかった。*S. Virchow* では 1 株が ABPC 耐性であり、この株はゲノム解析の結果 *bla* TEM-1 を保有していた。また、CL 耐性株が *S. Schwarzengrund* と *S. Infantis* でそれぞれ 2 株ずつ分離されたが、いずれも *mcr* 遺伝子を保有していなかった。供試した 14 剤全ての薬剤に感受性を示した株は、*S. Schwarzengrund* では 34.8% (23/66 株)、*S. Infantis* では 16.7% (2/12) であった。

これら 84 株については、「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書」に記載するデータとして、ゲノム配列を取得するため薬剤耐性研究センターに送付した。

#### 2) カンピロバクター属

カンピロバクターは、100 製品中 51 製品 (51.0%) が分離陽性であった。分離状況の概要を表 4 に示す。PCR による菌種同定では、*C. jejuni* が 40 株、*C. coli* が 10 株、PCR では同定できなかったカンピロバクター属が 1 株であり、複数の菌種が検出された検体はなかった。*C. jejuni*、*C. coli* いずれもブロイラー、銘柄鶏・地鶏間での分離率に差は認められなかった。産地別の集計では、*C. jejuni* は東日本産では 23.6% (13/55)、西日本では 60.5% (23/38) が分離陽性であった。*C. coli* は東日本産では 5.5% (3/55)、西日本産では 13.2% (5/38) が分離陽性であった。

カンピロバクター 51 株の薬剤耐性試験により決定した薬剤耐性プロファイルを菌種毎にまとめて表 5 に示す。ABPC 耐性の *C. jejuni* は 20.0% (8/40) であった。3 剤以上の多剤耐性を示した *C. jejuni* は 7 株 (17.5%) であり、いずれも NA 及び CPFX 耐性であった。*C. coli* は 3 剤以上の多剤耐性を示したのは 6 株 (60.0%) であれ、いずれも NA 及び CPFX 耐性であった。EM 耐性の *C. jejuni* は検出されなかったが、*C. coli* では 2 株が EM 耐性でありいずれも多剤耐性株であった。

これら 51 株については、「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書」に記載するデータとして、ゲノム配列を取得するため抽出したゲノム DNA を薬剤耐性研究センターに送付した。

#### 3) 薬剤耐性腸内細菌科細菌

選択培地であるクロモアガー-ESBL 上に生育した 129 株について、薬剤感受性試験を行った。TOF-MS による菌種同定の結果と合わせ、CTX 感受性試験の結果が中間以上 (*Pseudomonas* 属及び

*Acinetobacter* 属：CTX  $\geq$  16 mg/L；その他腸内細菌科：CTX  $\geq$  2 mg/L) となった 102 株を「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書」に収載するデータとして、ゲノム配列を取得するため薬剤耐性研究センターに送付した。これら 102 株における各薬剤の MIC 分布と腸内細菌科細菌におけるブレイクポイント (BP) を図 5-8 に、ESBL/AmpC 保有状況を PCR により検査した結果を表 6 に示す。感受性試験の結果 CTX に中間以上を示した 102 株の中で、ABPC に対して 99.0% (101/102)、CEZ に対して 100% (102/102) が BP 以上であった。また、102 株のうち ACV に感受性となったのは 51.0% (52/102) であった (図 5)。MEPM に対して耐性を示した腸内細菌科細菌はなかったが、*Acinetobacter* 属もしくは *Pseudomonas* 属 1 株が耐性であった (図 6)。NA に対して BP 以上を示したのは 39.2% (40/102) であったが、CPFX に対しても 11.8% が BP 以上であった (図 7)。また、CL に対して MIC 値が 16 以上の高値を示した株が 40 株あった (図 8)。ESBL/AmpC の中で最も多かったのは CTX-M 型を単独で保有する株であり、*Serratia fonticola* 26 株、*E. coli* 13 株、腸内細菌科細菌 13 株、*Pseudomonas* 属が 3 株の計 55 株であった。次に TEM 型と CTX-M 型を同時に保有する株が 14 株であり、その内訳は *E. coli* 8 株、腸内細菌科細菌が 6 株であった。その他、3 種類以上の ESBL 遺伝子を保有する株として *Klebsiella pneumoniae*、腸内細菌科細菌及び *E. coli* それぞれ 1 株ずつ分離された。

## 2. 市販鶏肉由来サルモネラにおける薬剤耐性の地域性 (帯広畜産大学で実施)

サルモネラは 108 製品中 97 製品 (89.8%) から分離された (表 7)。2 製品では、2 つの血清型が分離され、計 99 株が得られた。最も多かった血清型は *S. Schwarzengrund* (82 株：82.8%)、次いで *S. Infantis* (11 株：11.1%)、*S. Manhattan* (5 株：5.1%)、Untypeable (1 株) であった。*S. Schwarzengrund* は北海道地方、東北地方、九州地方の製品から分離された。*S. Infantis* は北海道地方、東北地方、九州地方の製品から分離された。*S. Manhattan* は、北海道地方と九州地方の製品から分離された。

*S. Schwarzengrund* (82 株) について、北海道地方由来株 (23 株) は 3 株が SM に耐性を示したが、残りの 20 株はいずれの抗菌剤にも耐性を示さなかった (表 8)。東北由来株 (34 株) は、15 株 (44.1%) が SM と TC に耐性を示し、10 株 (29.3%) が SM、KM 及び TC の 3 薬剤に耐性を示した。九州地方由来株 (25 株) は、全株が SM に耐性を示し、23 株 (92.0%) は SM、KM 及び TC の 3 薬剤に耐性を示した。

分離株の 8 割以上が *S. Schwarzengrund* であり、

本血清型の薬剤耐性情報には明確な地域性が認められた。特に、九州地方由来株の 92.0% は SM、KM 及び TC の 3 薬剤に耐性を示したのに対し、北海道地方では TC 耐性株や KM 耐性株は得られなかった。

## 3. 人胃腸炎患者に由来するサルモネラ株 (162 株) の薬剤耐性状況 (帯広畜産大学で実施)

162 株は、31 の血清型と未分類株 (2 株) に特定された。上位 6 血清型は、*S. Typhimurium* 単相変異株 (27 株)、*S. Thompson* (21 株)、*S. Enteritidis* (20 株)、*S. Schwarzengrund* (14 株)、*S. Infantis* (14 株)、*S. Typhimurium* (9 株) であった。

薬剤耐性に関し、最も耐性率が高かったのは、SM (45.3%)、テトラサイクリン (19.9%) 及び ABPC (16.1%) であった (表 9)。第 3 世代セファロsporin の 1 つである CTX について、*S. Typhimurium* の 2 株が耐性を示した。また、フルオロキノロンの 1 つである CPFX について、*S. Newport* の 1 株が耐性を示した。上位 6 血清型の薬剤耐性状況は血清型毎に異なった。*S. Typhimurium* 単相変異株では、ABPC、SM 又は TC の耐性率が 50% であったのに対し、*S. Enteritidis* では、全薬剤に対して耐性率は 15% 以下であった。*S. Thompson* 及び *S. Infantis* では SM 以外の薬剤に対して全株が感受性であった。

上位血清型のうち、*S. Typhimurium* とその単相変異株は、家畜では牛や豚から分離される。*S. Thompson* 及び *S. Enteritidis* は採卵鶏、*S. Schwarzengrund* 及び *S. Infantis* はブロイラーから分離される。分離株の薬剤耐性パターンは家畜由来株と類似しており、今後、家畜由来株と人胃腸炎由来株についてフルゲノム解析を行うことで、人胃腸炎の原因食品が推定できる可能性がある。

## D. 考察:

本分担課題では、食品を介した人への耐性菌伝播のリスク分析を行うためのデータ取得を目的に、国内で生産加工される鶏肉におけるサルモネラ属、カンピロバクター及び ESBL 産生大腸菌の汚染実態並びに薬剤耐性状況のモニタリングを行ってきた。分担者変更に伴い、2023 年度は、国立衛研と東京農工大学での調査では、薬剤感受性試験について若干の変更を行った。MIC を算出するため、ディスク法は実施せず、全て微量液体希釈法により検査を行った。また、特に家畜や食肉を担当する他の分担課題とデータを照合しやすくするため、これまで未実施であった薬剤を対象に加えた。具体的には、サルモネラを始めとする腸内細菌科には MEPM と ACV、カンピロバクターには GM、NA、CP 及び SM を測定できるプレートを新たに設計し検査に用いた (表 1)。

全国広範囲にわたる地域で生産された鶏肉にお

ける調査では、特にサルモネラの汚染実態に関しては夏期、冬期の2回調査を実施した。結果、分離される血清型は殆どが *S. Schwarzengrund* であり夏よりも冬の分離率が高く、季節性が認められた(図3)。*S. Schwarzengrund* 検出状況の季節性に関しては、研究協力者が2015-2017年にかけて実施した調査(Ishiharaら、2020)を裏付ける結果となった。また、製品の産地の違いに関しては、ブロイラーでは差は認められなかったものの、銘柄鶏・地鶏では *S. Schwarzengrund*、*S. Infantis* とともに東日本産の製品が西日本産よりも分離率が高い傾向が認められた(表2、図4)。サルモネラの薬剤耐性に関しては、第3世代セファロスポリンであるCTXに耐性を示す株は分離されず、第3世代セファロスポリンの使用中止に伴う耐性株の減少が維持されていることが確認された。カンピロバクターの調査に関しては、ブロイラー、銘柄鶏・地鶏いずれの検体からの分離率が西日本産の検体からの方が東日本産からよりも高い傾向が認められた(表4)。*C. jejuni* の薬剤耐性に関しては、多剤耐性株はフルオロキノロン系のCPFXに耐性を示したが、第一選択薬であるマクロライド系のEM耐性株は認められず、これまでの報告と同様であった。サルモネラ、カンピロバクター分離株に関しては、薬剤耐性研究センターでゲノム配列を取得中である。ゲノムデータを用いた系統解析、薬剤耐性と耐性遺伝子保有状況の関連性を解析することにより、汚染実態と人への伝播可能性について詳細な解析が可能となる。ESBL産生大腸菌の調査に関しては、今年度は、対象を腸内細菌科に広げ、幅広く状況を把握することとした。CTX感受性が中間以上を示した102株のうち、約半数の52株はβラクタマーゼ阻害剤であるACV感受性であったため、ESBL産生株であることが示唆された(図5)。また、102株のうち約40%がCL耐性株であった(図8)。これら102株についても、薬剤耐性研究センターでゲノム配列を取得中であり、ゲノムデータを用いた正確な菌種同定、薬剤耐性遺伝子解析を行う予定である。

帯広畜産大学では、食鳥処理場包装製品を用いることにより、産地を厳密に限定した調査を行った。結果、サルモネラ分離株の薬剤耐性のパターンに明確な地域性が認められた(表7、8)。また、人患者由来株では、鶏肉由来株で認められなかった第3世代セファロスポリンであるCTX、フルオロキノロン系のCPFX耐性株も認められた(表9)。これらの株についても薬剤耐性研究センターでゲノム配列を取得予定であり、鶏肉の地域性や家畜由来株とヒト由来株間での比較解析を行うことで、食品から人への伝播可能性を明らかにすることが期待される。

## E. 結論

国産鶏肉におけるサルモネラ、カンピロバクター、薬剤耐性腸内細菌科細菌の汚染実態調査と分離株の薬剤感受性試験を行った。サルモネラでは、分離株の大部分を *S. Schwarzengrund* が占め、分離率は冬の方が高く季節性が認められた。薬剤耐性については、第3世代セファロスポリンやフルオロキノロン耐性株は分離されなかったが、薬剤耐性パターンに明確な地域性が認められた。カンピロバクターに関しては、例年の結果と同等の結果が得られた。すなわち、*C. jejuni* ではフルオロキノロン耐性株が一定の頻度で確認されたものの第一選択薬であるマクロライド耐性株は確認されなかった。*C. jejuni* より頻度は低いものの分離された *C. coli* は60%が3剤以上の多剤耐性株であり、マクロライド耐性株も認められた。薬剤耐性腸内細菌科細菌の調査では、第3世代セファロスポリンCTXのMIC値が中間以上であった株を対象にしたが、約半数がESBL産生株であることが示唆された。サルモネラ、カンピロバクター、CTX耐性株いずれも、今年度分離した株は薬剤耐性研究センターに送付しゲノム配列を取得中である。ゲノムデータを用いて詳細な系統解析、薬剤耐性と薬剤耐性遺伝子保有状況の関連性、他由来株との比較解析が可能となり、食品から人への伝播可能性のリスク解析が可能となることが期待される。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

Sasaki Y., Ikeda T., Yonemitsu K., Kuroda M., Ogawa M., Sakata R., Uema M., Momose Y., Ohya K., Watanabe M., Hara-Kudo Y., Okamura M., and Asai T.: Antimicrobial resistance profiles of *Campylobacter jejuni* and *Salmonella* spp. isolated from enteritis patients in Japan. *J. Vet. Med. Sci.* 85: 463-470, 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

表1 調査の概要

検体購入期間	2023年夏（8月～9月）、冬（12月）
対象食品	国産鶏肉（皮）
検体購入	東京・神奈川の店舗
検体の産地	北海道、青森、岩手、宮城、新潟、千葉、静岡、愛知 兵庫、京都、鳥取、福岡、佐賀、宮崎、鹿児島
検体数	100検体（夏）、50検体（冬）
分離対象	サルモネラ属（夏・冬） CTX耐性腸内細菌科細菌（夏のみ） カンピロバクター（夏のみ）
MIC値測定	サルモネラ属、CTX耐性菌：ABPC, CEZ, CTX, ACV, GM, MEPM, SM, KM, TC, CP, NA, CPFX, ST, CL（14剤） カンピロバクター：ABPC, IPM, SM, KM, GM, EM, CLDM, CP, TC, DOXY, NA, CPFX（12剤）

表2 国内流通鶏肉におけるサルモネラ属菌分離率

季節	産地	銘柄+地鶏	ブロイラー	計
夏	東日本	42.9% (12/28)	48.1% (13/27)	45.5% (25/55)
	西日本	16.7% (4/24)	57.1% (8/14)	31.6% (12/38)
	不明	100% (2/2)	40.0% (2/5)	57.1% (4/7)
	小計	33.3% (18/54)	50.0% (23/46)	41.0% (41/100)
冬	東日本	81.8% (9/11)	73.7% (14/19)	76.7% (23/30)
	西日本	54.5% (6/11)	100% (2/2)	61.5% (8/13)
	不明	100% (2/2)	80.0% (4/5)	85.7% (6/7)
	小計	70.8% (17/24)	76.9% (20/26)	74.0% (34/50)

表3 国内流通鶏肉由来サルモネラの薬剤耐性プロファイル

血清型	薬剤耐性プロファイル	株数 (%)	血清型	薬剤耐性プロファイル	株数 (%)
Schwarzengrund	SM, KM, TC, NA, ST	3 (4.5)	Infantis	CEZ, SM, KM, TC	1 (8.3)
	SM, KM, TC, ST	8 (12.1)		SM, KM, TC, ST	2 (16.7)
	SM, KM, TC, NA	2 (3.0)		SM, TC, ST	4 (33.3)
	SM, TC, NA, ST	2 (3.0)		KM, TC, CL	2 (16.7)
	SM, KM, TC	2 (3.0)		SM, TC	1 (8.3)
	SM, TC, ST	4 (6.1)		感受性	2 (16.7)
	SM, TC, NA	1 (1.5)	Virchow	SM, KM, TC, ST	1 (50.0)
	KM, TC, ST	1 (1.5)		ABPC, CP	1 (50.0)
	SM, TC	6 (9.0)	Thompson	感受性	1 (100)
	KM, ST	2 (3.0)	Manhattan	SM	1 (100)
	KM, TC	3 (4.5)	Mbandaka	SM, TC	1 (100)
	TC, CL	2 (3.0)	OUT d:1,5	TC	1 (100)
	KM	4 (6.1)			
	NA	2 (3.0)			
	ST	1 (1.5)			
	感受性	23 (34.8)			

- 6剤以上の耐性を示した株はなかった。
- Infantisは耐性株の割合がSchwarzengrundよりも高かった。
- CL耐性株は*mcr*を保有していなかった。
- ABPC耐性株は*bla*TEM-1を保有していた。

表4 国内流通鶏肉におけるカンピロバクター分離率

産地	<i>Campylobacter</i>			<i>Campylobacter jejuni</i>			<i>Campylobacter coli</i>			<i>Campylobacter sp.</i>		
	ブロイラー	銘柄鶏地鶏	小計	ブロイラー	銘柄鶏地鶏	小計	ブロイラー	銘柄鶏地鶏	小計	ブロイラー	銘柄鶏地鶏	小計
東日本	22.2% (6/27)	35.7% (10/28)	29.1% (16/55)	22.2% (6/27)	25.0% (7/28)	23.6% (13/55)	0% (0/27)	10.7% (3/28)	5.5% (3/55)	0% (0/27)	0% (0/28)	0% (0/55)
西日本	71.4% (10/14)	66.7% (16/24)	68.4% (26/38)	64.3% (9/14)	58.3% (14/24)	60.5% (23/38)	14.3% (2/14)	12.5% (3/24)	13.2% (5/38)	0% (0/14)	4.2% (1/24)	2.6% (1/38)
不明	80.0% (4/5)	50.0% (1/2)	71.4% (5/7)	60.0% (3/5)	50.0% (1/2)	57.1% (4/7)	40.0% (2/5)	0% (0/2)	28.6% (2/7)	0% (0/5)	0% (0/2)	0% (0/7)
小計	43.5% (20/46)	50.0% (27/54)	47.0% (47/100)	39.1% (18/46)	40.7% (22/54)	40.0% (40/100)	8.7% (4/46)	11.1% (6/54)	10.0% (10/100)	0% (0/46)	1.9% (1/54)	0.5% (1/100)

カンピロバクター分離率は、ブロイラー、銘柄鶏どちらも西日本>東日本であった。

表5 国内流通鶏肉由来カンピロバクターの薬剤耐性プロファイル

菌種	薬剤耐性プロファイル	株数 (%)	血清型	薬剤耐性プロファイル	株数 (%)
<i>C. jejuni</i>	ABPC, TC, DOXY, NA, CFX	1 (2.5)	<i>C. coli</i>	ABPC, SM, EM, TC, DOXY, NA, CFX	1 (10.0)
	TC, DOXY, NA, CFX	2 (5.0)		SM, EM, TC, NA, CFX	1 (10.0)
	ABPC, NA, CFX	3 (7.5)		KM, TC, NA, CFX	1 (10.0)
	TC, NA, CFX	1 (2.5)		SM, NA, CFX	1 (10.0)
	NA, CFX	9 (22.5)		TC, NA, CFX	2 (20.0)
	ABPC, TC	2 (5.0)		KM, GM	1 (10.0)
	ABPC, SM	1 (2.5)		<b>感受性</b>	<b>3(30.0)</b>
	TC, DOXY	1 (2.5)		<i>C. sp.</i>	TC, NA, CFX
	TC, NA	1 (2.5)			
	ABPC	1 (2.5)			
	NA	1 (2.5)			
	TC	1 (2.5)			
	<b>感受性</b>	<b>16 (40.0)</b>			

- *C. jejuni*多剤耐性株はNA, CFX耐性株が多い。
- *C. coli*は3剤以上の多剤耐性株が60%を占めた。

表6 鶏肉由来CTX耐性菌102株のESBL/AmpC遺伝子保有状況

ESBL/AmpC遺伝子の組み合わせ	株数	TOF-MSによる菌種同定
<b>TEM, SHV, CTX-M, OXA</b>	<b>1</b>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<b>TEM, CTX-M, OXA</b>	<b>1</b>	Enterobacterales
<b>TEM, SHV, CTX-M</b>	<b>1</b>	<i>E. coli</i>
<b>TEM, CTX-M</b>	<b>14</b>	<i>E. coli</i> (8), Enterobacterales (6)
<b>CTX-M</b>	<b>55</b>	<i>Serratia fonticola</i> (26), <i>E. coli</i> (13), Enterobacterales (13), <i>Pseudomonas</i> sp. (3)
<b>AmpC</b>	<b>2</b>	<i>Pseudomonas</i> or <i>Acinetobacter</i> (2)
<b>TEM</b>	<b>1</b>	<i>E. coli</i>
<b>CMY</b>	<b>1</b>	<i>Citrobacter freundii</i>
<b>未検出</b>	<b>26</b>	

\* TEM, CMV, SHV, CTX-M, OXA, AmpCを対象



表7 サルモネラ分離試験及び薬剤感受性試験の結果

地方	施設	製品数	陽性数	検出率	サルモネラ		株数
					血清型	薬剤パターン	
北海道	A	10	9	90.0	Schwarzengrund	感受性	9
					B	6	5
	感受性	1					
	Infantis	SM	1				
		感受性	3				
	C	6	5	83.3	Schwarzengrund	感受性	4
					Manhattan	SM	1
	D	10	8	80.0	Schwarzengrund	SM	2
						感受性	6
	東北	E	12	12	100.0	Schwarzengrund	SM+KM+TC+TMP
SM+KM+TC							1
SM+TC							5
KM							1
感受性							2
Infantis						SM+TC	3
F		2	2	100.0	Schwarzengrund	KM	2
G		6	6	100.0	Schwarzengrund	SM+KM+TC+TMP	3
						SM+KM+TC	1
						KM	1
						TMP	1
H		5	5	100.0	Schwarzengrund	SM+KM+TC+TMP	1
						SM+KM+TC+NA	1
						KM+NA	1
	KM					1	
	感受性					1	
I	5	5	100.0	Schwarzengrund	SM+KM+TC	1	
					感受性	4	
J	7	6	85.7	Schwarzengrund	SM+KM+TC+TMP	1	
					SM+KM	3	
					KM+NA	1	
					KM	1	
K	5	4	80.0	Infantis	SM+KM+TC+TMP	2	
					NA	2	
九州	L	8	8	100.0	Schwarzengrund	SM+KM+TC+TMP	2
						SM+KM+TC	2
						SM+TC	1
					Manhattan	SM+TC+NA	1
						SM+TC	2
	M	5	2	40.0	Schwarzengrund	SM+KM+TC+TMP	2
	N	5	5	100.0	Schwarzengrund	SM+KM+TC+NA+TMP	2
						SM+KM+TC+TMP	1
						SM+KM+TC	1
					Manhattan	SM+TC	1
	O	5	5	100.0	Schwarzengrund	SM+KM+TC+TMP	4
						SM+KM+TC	1
	P	5	5	100.0	Schwarzengrund	SM+KM+TC+NA+TMP	1
SM+KM+TC+TMP						1	
SM+KM+TC						2	
SM+KM+TMP						1	
Q	6	5	83.3	Schwarzengrund	SM+KM+TC+NA+TMP	1	
					SM+KM+TC+NA	2	
					SM+KM+TC+TMP	1	
				Untypeable	ABPC	1	
計		108	97	89.8			99

表8 各地方から分離された*S. Schwarzengrund*の薬剤耐性パターン

地方	薬剤耐性パターン	株数
北海道	感受性	20
	SM	3
東北	SM+KM+TC+TMP	6
	SM+KM+TC+NA	1
	SM+KM+TC	3
	SM+TC	5
	SM+KM	3
	KM+NA	2
	KM	6
	TMP	1
	感受性	7
九州	SM+KM+TC+NA+TMP	4
	SM+KM+TC+NA	2
	SM+KM+TC+TMP	11
	SM+KM+TC	6
	SM+KM+TMP	1
	SM+TC	1
計		82

表9 人胃腸炎患者由来サルモネラ株の薬剤耐性率

血清型	株数	抗菌剤										
		ABPC	CEZ	CTX	SM	KM	TC	NA	CPFX	CL	CP	TMP
全血清型	162	16.1	6.2	1.2	45.3	8.1	19.9	6.2	0.6	0.0	6.8	6.8
Typhimurium単相変異株	27	63.0	7.4	0.0	77.8	3.7	55.6	0.0	0.0	0.0	14.8	11.1
Thompson	21	0.0	0.0	0.0	47.6	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Enteritidis	20	5.0	5.0	0.0	5.0	0.0	5.0	15.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Schwarzengrund	14	0.0	0.0	0.0	42.9	57.1	42.9	14.3	0.0	0.0	0.0	28.6
Infantis	14	0.0	0.0	0.0	42.9	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
Typhimurium	9	44.4	44.4	22.2	55.6	11.1	33.3	22.2	0.0	0.0	44.4	11.1
その他の血清型	57	21.1	19.3	7.0	59.6	8.8	22.8	12.3	1.8	0.0	19.3	8.8

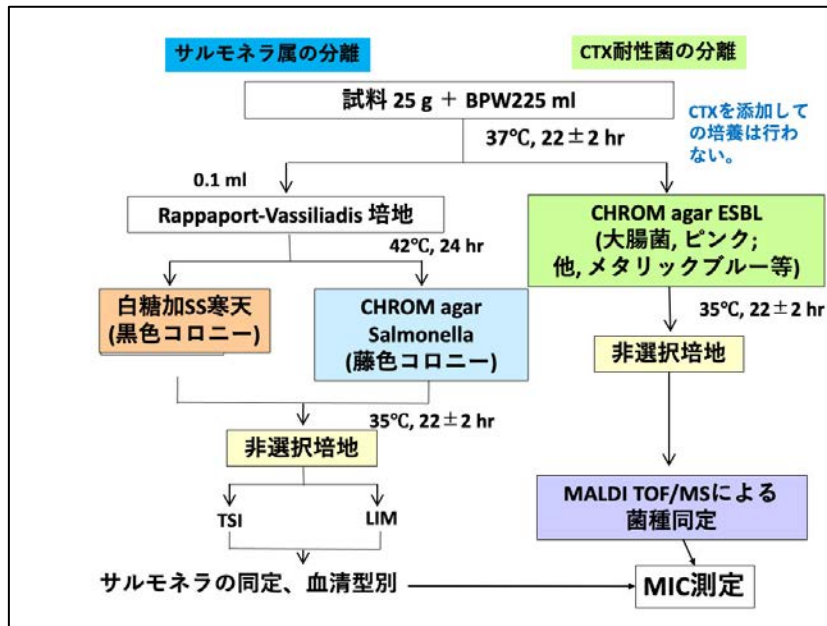


図1 サルモネラ及びCTX耐性菌の分離フロー

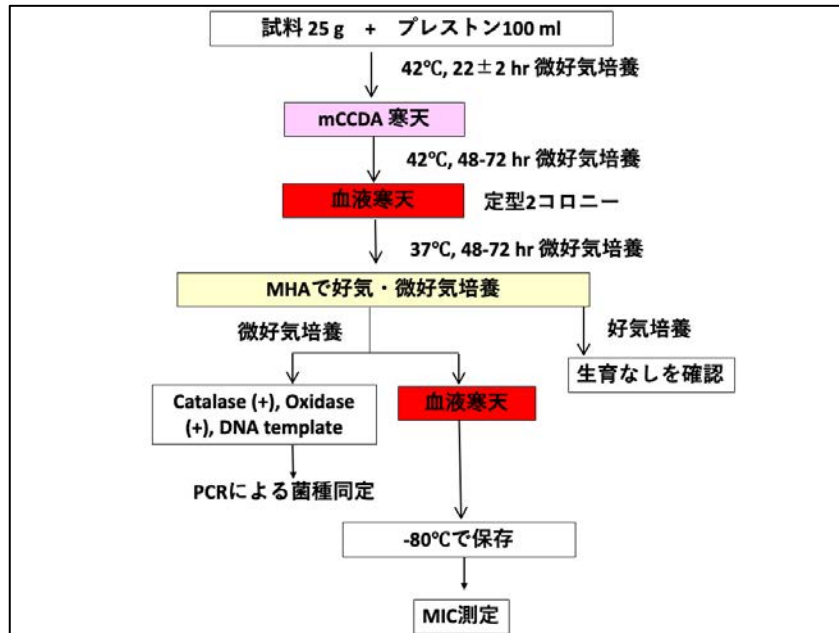


図2 カンピロバクターの分離フロー

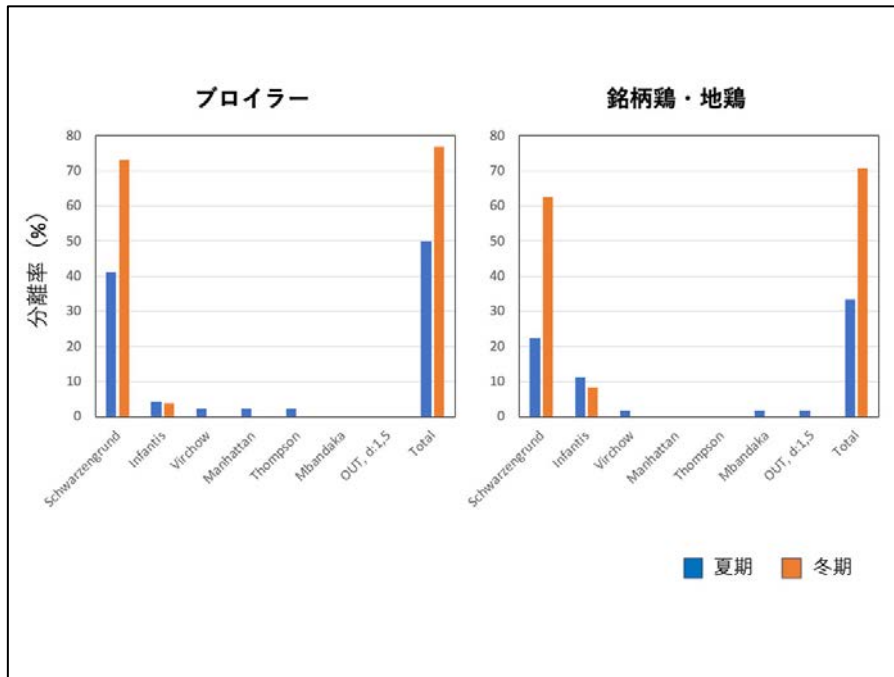


図3 夏期及び冬期におけるサルモネラ血清型分離率

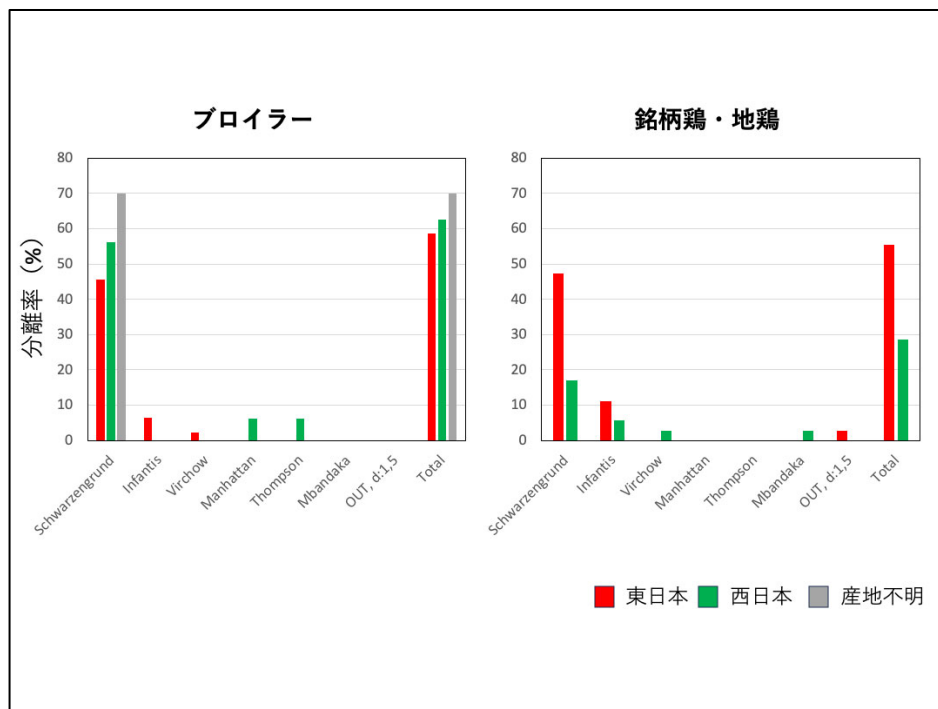


図4 東日本・西日本におけるサルモネラ血清型分離率

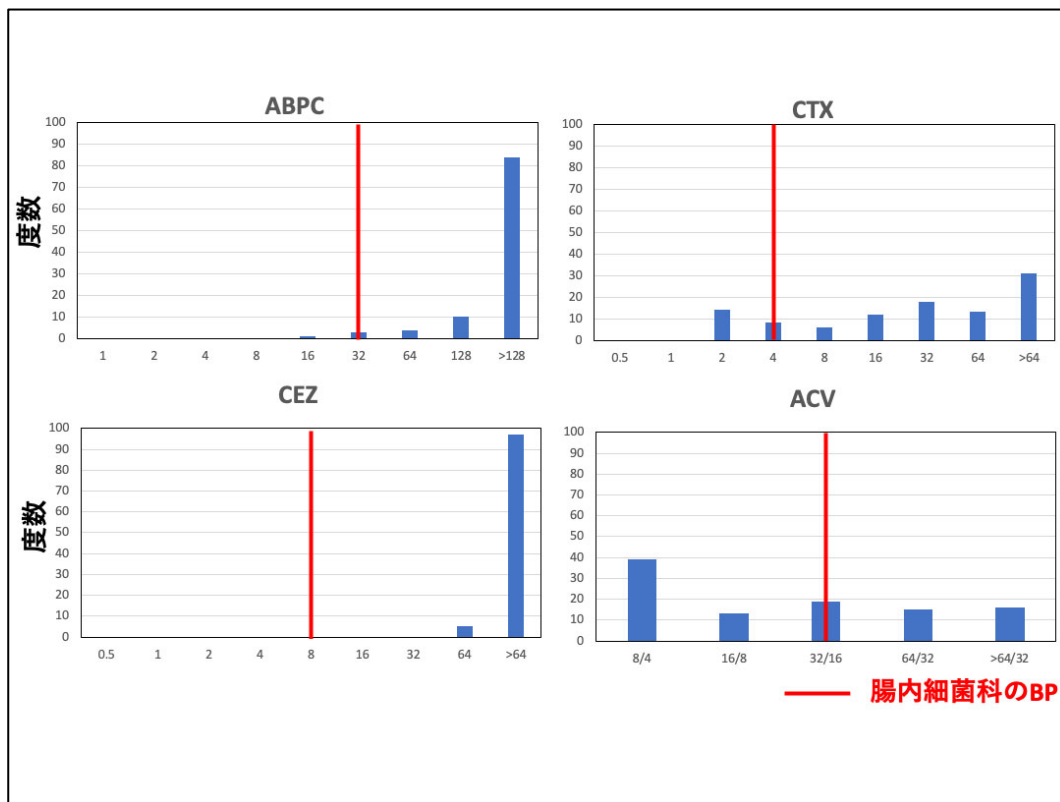


図5 鶏肉由来CTX耐性菌102株のMIC分布 (1)

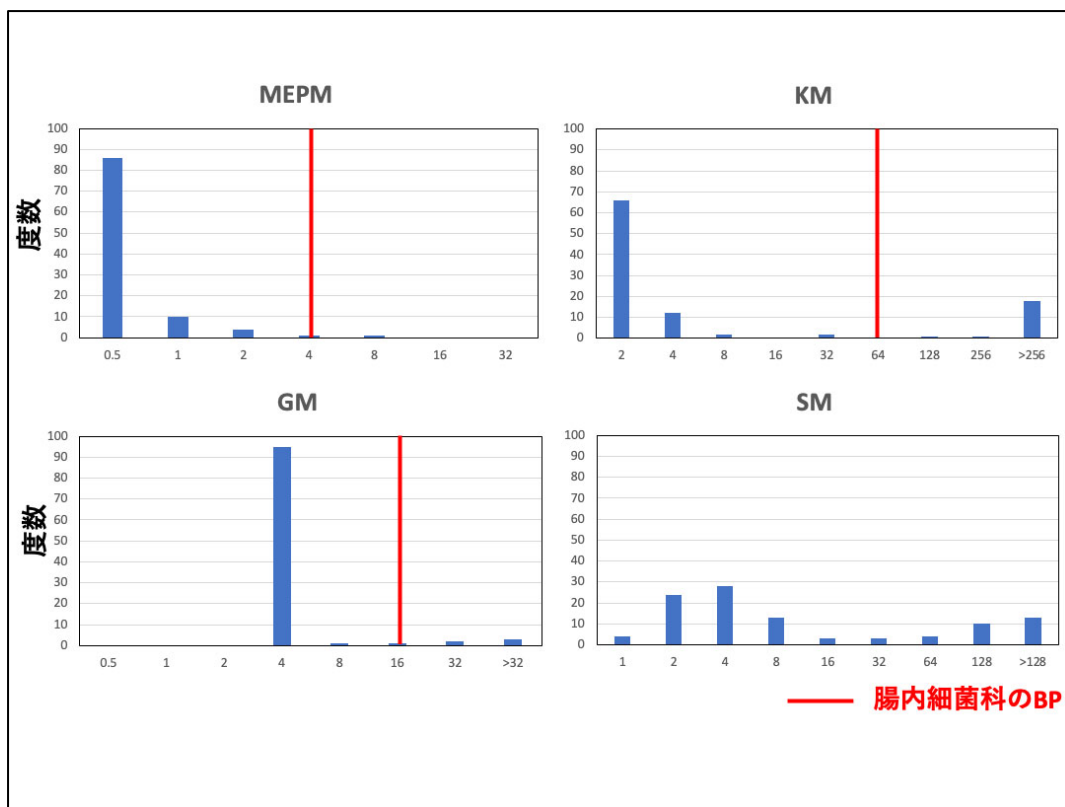


図6 鶏肉由来CTX耐性菌102株のMIC分布 (2)

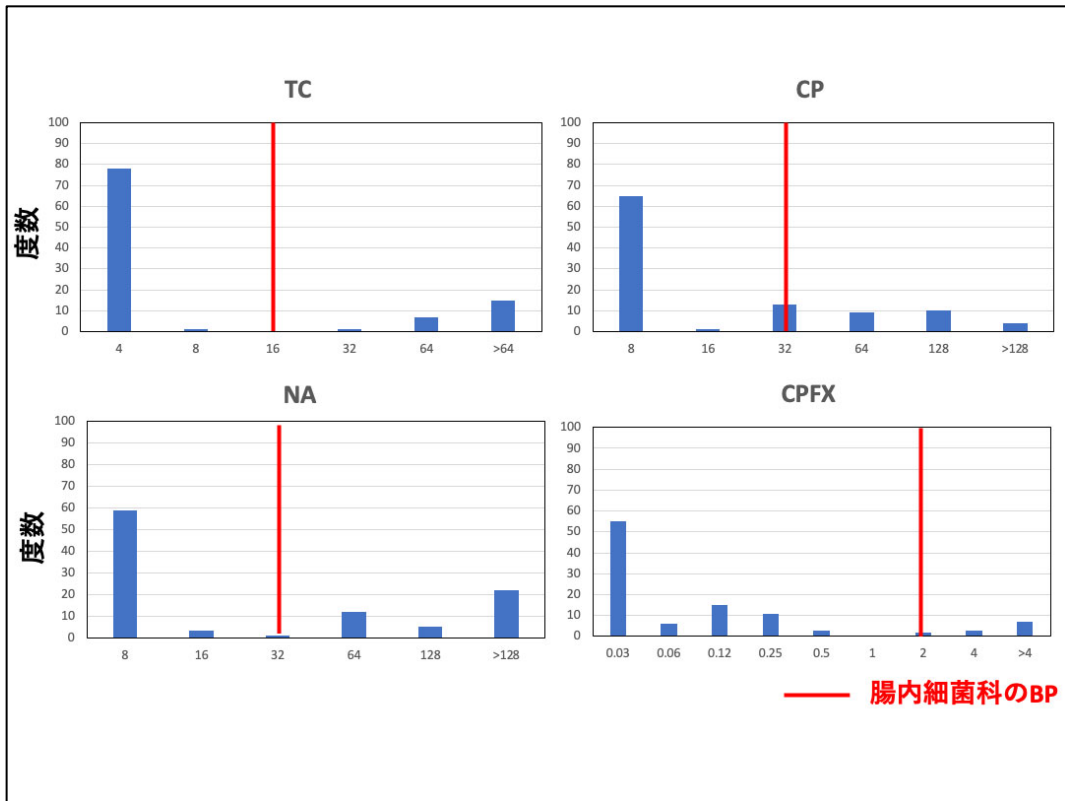


図7 鶏肉由来CTX耐性菌102株のMIC分布 (3)

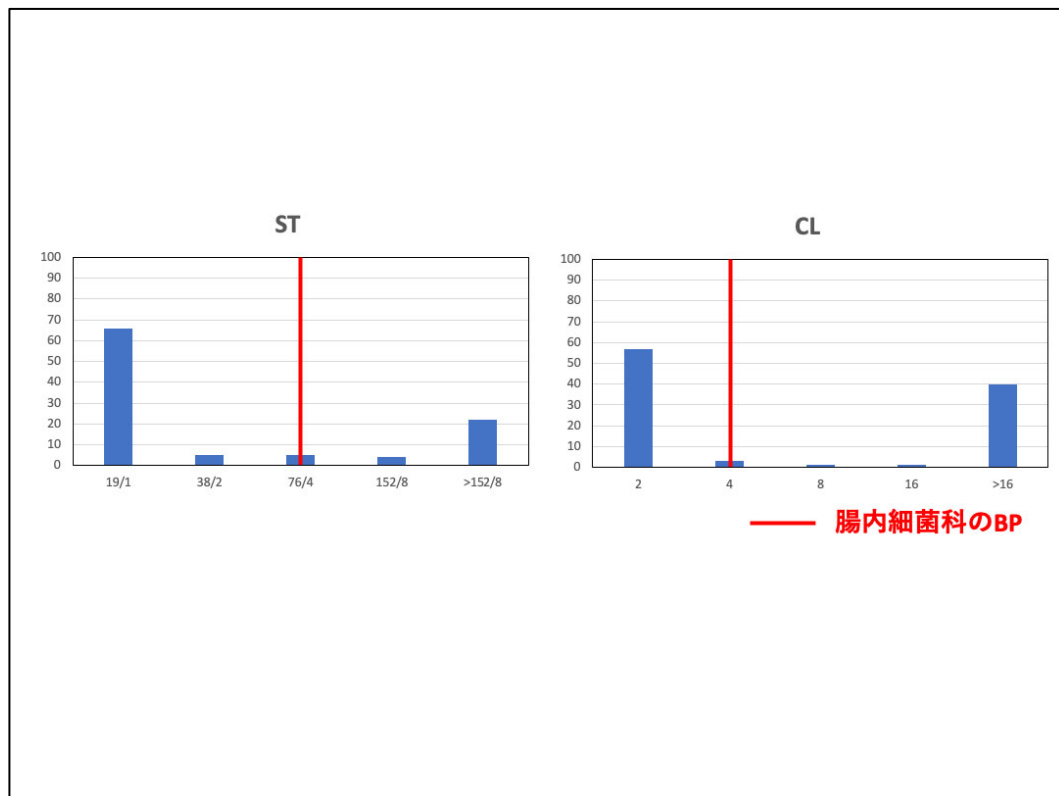


図8 鶏肉由来CTX耐性菌102株のMIC分布 (4)