

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5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  
大屋 賢司 国立医薬品食品衛生研究所 衛生微生物部第一室長  
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 主任研究官  
鹿山 鎮男 国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター 室長

Liansheng Yu	国立感染症研究所	薬剤耐性研究センター	主任研究官
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	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
佐藤 優花里	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
小出 将太	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

## 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 への掲載を見据えてサーベイランスのための全ゲノム解析 (WGS) 法のテクニカル・ノートを発表した。今後は GLASS 改訂に対応したデータを提供して行く必要がある。

これらのデータ提供に対応するため、わが国では食品に関連する耐性菌について平成 27~29 年、平

成 30~令和 2 年の 2 期にわたる厚生科学研究 (主任研 渡邊治雄) により食品中の薬剤耐性菌の動向調査を実施し、家畜—食品—ヒト間の耐性菌の流れを一元的に把握することを試みて来た。この間、ヒト由来耐性菌のサーベイランス JANIS と家畜由来耐性菌のサーベイランス JVARM の結果を一元的に比較解析できる体制の構築、全国地方衛生研究所等によって収集される食品由来細菌の薬剤耐性サーベ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（川西）、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（川西）。
- (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

2023年に分離されたヒト（有症者）及び食品由来サルモネラ380株、大腸菌（病原性大腸菌を含む）565株、カンピロバクター/ジェジュニ・コリ181株の薬剤感受性試験を、全国 22か所の協力地方衛生研究所（地衛研）と協力し、共通のプロトコールに則り、実施した。サルモネラ株と大腸菌株について、薬剤耐性遺伝子（ESBL, AmpC, *mcr1-10*）の同定を行った。鶏肉由来サルモネラ株の薬剤耐性を担う可能性がある *irp2* 遺伝子保有プラスミドの探索を1000株以上のサルモネラ株についてPCR法で実施した。地衛研で薬剤感受性試験を行ったサルモネラ株について、研究代表者と共同でゲノム解析を実施した（ヒト由来683株、食品由来582株、合計1,265株について実施）。薬剤耐性菌バンクへの登録も地衛研の同意を得て実施した。これらの研究成果を、厚労省「薬剤耐性ワンヘルス動向調査検討会」の年次報告書、及びWHO GLASSへの報告資料（サルモネラ属菌の感受性試験結果）を提供した。

### 大屋グループ

他グループの試験薬剤を参考に、腸内細菌科およびカンピロバクター属MIC測定用プレートを新しく設計した。2023年8から9月に国内産（14道府県産）鶏肉100検体を購入し、カンピロバクター・ジェジュニ/コリ、サルモネラ属菌、ESBL産生腸内細菌科の分離、基本性状解析及び薬剤感受性試験を行った。サルモネラ属菌については2023年12月に追加で50検体からの分離、基本性状解析及び薬剤感受性試験を行った。カンピロバクター・ジェジュニ/コリは51株（47%の検体陽性）が分離され、薬剤感受性試験を実施した。いずれの菌種も3剤以上の多

剤耐性株はCPFX耐性を示した。ESBL産生腸内細菌科は129株の薬剤感受性試験、PCRによるESBLの型別を行い、102株（74%の検体陽性）がCTX耐性であった。102株のうち52株（51%）はACV感受性でありESBL産生菌であると思われた。サルモネラ属菌は夏期には43株（41%の検体陽性）が分離され、CTX耐性株はなく、8株（19%）が薬剤感受性であった。冬期には38株（74%の検体陽性）が分離され、17株（45%）が薬剤感受性であった。サルモネラ属菌は冬期の方が分離率及び薬剤感受性菌の割合が高い結果となった。サルモネラ属菌84株、カンピロバクター51株、CTX耐性菌102株の菌株もしくはgDNAを薬剤耐性バンクへ寄託した。

#### 小西グループ

ヒト及び食品から分離された菌株を対象に薬剤耐性菌出現状況を検討した。2022年分離の散发患者由来カンピロバクターのフルオロキノロン耐性率は*C. jejuni*, 53.1%;*C. coli*,100%であった。2023年分離の健康者糞便由来大腸菌の主な薬剤に対する耐性率はABPC, 29.3%; NA, 22.4%; TC, 19.1%; ST合剤及びSMが各14.5%;CPFX, 9.2%;CTX, 5.6%であった。2023年分離の市販鶏肉由来大腸菌では国産鶏肉NA,26.3%;CPFX,10.2%;CTX,1.5%, 外国産鶏肉NA,25.0%;CPFX,6.3%;CTX,14.6%) であった。

#### 富田グループ

2021年2～3月に国内産鶏肉50検体（鹿児島、群馬）および輸入鶏肉97検体（ブラジル、タイ、米国、ニュージーランド、スペイン）の合計147検体を収集した。2022年2～3月に国内産鶏肉126検体（鹿児島、山口、兵庫、群馬）および輸入鶏肉74検体（ブラジル、タイ、米国）の合計200検体を収集した。2023年2～3月に国内産鶏肉220検体（北海道、新潟、茨城、群馬、千葉、山梨、兵庫、山口、福岡、宮崎、鹿児島）および輸入鶏肉107検体（ブラジル、タイ、米国、ニュージーランド、トルコ）の合計327検体を収集した。各年に収集した鶏肉検体からESBL産生菌、AmpC産生菌、コリスチン耐性菌、CRE、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。本調査で得られた食肉由来耐性株の代表株を薬剤耐性研究センターに送付し、WGS解析を依頼した。

#### 浅井グループ

と畜場3か所で49養豚場245頭を対象にし、MRSAを25農場（51.0%）67頭（27.3%）から分離し薬剤感受性を調べた。と場における交差汚染を検討す

るため、MRSAではないが、豚から分離されたMRCNS（主に*Mammaliicoccus sciuri*）のPFGE解析を実施し、と場の交差汚染の可能性が示唆された。国産豚肉268検体中11検体（4.1%）、輸入豚肉117検体中1検体（0.9%）からMRSAを分離し、薬剤感受性試験を実施した。1系列店でMRSA汚染豚肉が認められたことから、系列店の複数店舗でAおよびBの2種類の銘柄豚を購入し検査した。銘柄豚Aの65.9%（27/41）からMRSA ST398が分離され、銘柄豚Bからは分離されなかった。スーパー4店舗で国内産と輸入鶏肉を月一回収集し、鶏肉からCTX耐性大腸菌を123検体中60検体（48.8%）から179株を分離し、汚染率には季節性はなく、国産鶏肉、銘柄鶏肉、輸入鶏肉の順に高かった。分離株のbla型別（グループ）および薬剤感受性試験を実施した。採卵鶏農場9か所45鶏舎（5鶏舎/農場）の糞便からコリスチン添加培地で大腸菌458株を分離し薬剤感受性を調べた。

#### 石井グループ

2021年11月から2022年2月の間にと畜場で採取された豚耳からMRSA、市販鶏肉から第三世代セファロスポリン系薬耐性大腸菌（3GCR-Ec）の分離・収集を行った。30農場中、21農場の検体からMRSA 74株を得た。3GCR-Ecは26のブロイラー農場のうち、11農場に由来する33検体（13.4%、1検体あたり1株を選出）を得た。また、2021年11月-2022年10月の間に26都道府県（113施設）で採取された外来患者の皮膚検体（11,653検体）から分離されたMRSA 259株を得た。これらのMRSA 333株について全ゲノム解析を行った。豚耳由来MRSAは74株中54株（73%）がST398に分類された。海外で分類されたST398のゲノムデータと合わせてコアゲノム塩基多型に基づく系統解析（コアゲノムSNP-phylo）を実施した結果、本邦で分離されたST398は独自のST398サブ系統に分類された。外来患者皮膚由来株は35.1%がST8、30.6%がST1、5.7%がST22に分類された。豚耳と外来患者皮膚由来から共通して分離された唯一のSTであるST1232（それぞれ5株と4株）のコアゲノムSNP-phylo解析の結果、豚耳由来同士と一部の外来患者皮膚由来株は近縁だったが、外来患者皮膚由来株同士はMRSAに遺伝的関連は認められなかった。

#### 川西グループ

と畜場又は食鳥処理場の健康家畜から分離したカンピロバクター属菌173株、サルモネラ属菌129株について、WGS解析用にDNAを抽出した。令和3年度に分離されたと畜場の健康家畜由来大腸菌について、第3世代セファロスポリン耐性菌2株及びコリスチン耐性株2株についてWGS解析による

ドラフトゲノム配列を得た。また、平成30年～令和4年にと畜場の豚から分離されたMRSA 88株について、薬剤感受性試験及び全ゲノム解析による遺伝子型別、薬剤耐性遺伝子、亜鉛耐性遺伝子及び免疫回避遺伝子の検出やSNPs解析等を実施し、豚由来株のMRSAの64%が亜鉛耐性を保有していること、SNPs解析で豚由来株は、人由来と異なるクラスターに分類されることが確認された。令和3年度に分離された、コリスチンのMICが $2\mu\text{g/mL}$ 以上の食鳥処理場由来サルモネラ属菌47株についてコリスチン耐性遺伝子 $mcr-1\sim mcr-10$ をmultiplex PCRで検出し、サルモネラ属菌からは $mcr$ 遺伝子は検出されず、牛及び豚由来の大腸菌から $mcr-1$ 遺伝子が検出されたが低率（いずれも5%以下）であった。

#### 菅井グループ

感染研・薬剤耐性研究センターでは、各分担研究者が分離した菌株の全ゲノムシーケンス解析を担当している。今年度は引き続き各分担者から菌株あるいは精製DNAの受け入れとゲノム解読を行うと共に、解読済みゲノムデータの解析を行った。2021年度に感染研・薬剤耐性研究センターで受け入れたサルモネラ属菌約720株、カンピロバクター属菌340株、大腸菌約40株、腸球菌約40株のゲノムデータに加え、大腸菌と腸球菌については感染研・薬剤耐性研究センターが2019-2020年に日本各地の病院から収集した株のゲノムデータをヒト由来株（大腸菌約100株、腸球菌約30株）データとして活用し、分類群ごとに解析を行い、食品由来株とヒト由来株のコアゲノムおよび耐性遺伝子保有状況がどの程度類似しているのかを解析した。その結果、サルモネラ属菌ではテトラサイクリン耐性、トリメトプリム耐性、カナマイシン耐性の因子が全体の約30～50%の株で検出（検出株の約70～90%が食品由来株）された。食品由来株の主要血清型であるSchwarzengrund、Infantis、Manhattanそれぞれでコアゲノム系統樹を作成したところ、食品由来株とヒト由来株がしばしば系統樹上で隣接しており、これらのヒト由来株と食品由来株の間には関連性があり、ヒト由来が食品を介してヒトに伝播したことが示唆された。ESBLまたは $ampC$ 遺伝子を保有する株は、全体の4%にとどまっており、複数の系統に散見された（なお、通常はプラスミド上に存在するESBLまたは $ampC$ 遺伝子が、実際に全てプラスミドに存在しているかどうかは、今回のゲノム解読からは分からない）。ESBL遺伝子のうち食品由来株とヒト由来株の双方に見つかったのは $bla_{CTX-M-15}$ だけであった。カンピロバクター属菌のうち、約7割が豚の便から分離された*C. coli*では、テトラサイクリン耐性、フルオロキノロン耐性、マクロライド耐性、アミノグリコシド耐性の因子が*C. jejuni*より高頻度に観察された（*C. coli*: 約40～80%、*C. jejuni*:

約3～30%）。同じ耐性因子を保有しコアゲノム系統樹上で隣接するヒト由来株と食品または動物由来株のペアが、例えば主要なclonal complexであるST-21 complexでは4組（ヒト由来40株の10%）検出された。本試験のヒト由来株は感染性腸炎や食中毒の患者由来株であることから、その由来を考えれば当然想定された結果ではあるが、ヒト由来株、食品由来株、動物由来の間には関連性があり、ヒト由来株は基本的に食品を介してヒトに伝播したのだと考えられた。大腸菌では、ESBL遺伝子保有株の割合が、食品由来株の86%、ヒト由来株の40%であったが、これは、食品由来株がESBL選択培地を用いて分離された株であるためであり、注意が必要であった。また、ヒト由来株が病院内の臨床検査で分離されているため今回解析した大腸菌の食品由来株とヒト由来株の疫学的な関係性は不明であり、食品由来株からヒト由来株への伝播の可能性を解析・議論するのは難しかった。腸球菌では、ヒト由来株と食品由来株は系統的に明らかに分離していることが判明した。

#### 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。

「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。最終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出するとともに個別にゲノムデータを解析した。今後、データをもとにワンヘルス動向調査報告書に投稿できるように形式を整える必要がある。

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いる。一方、ESBL 選択培地を使用せず分離した大腸菌での第3世代セファロスポリン耐性率は、国産鶏肉の方が輸入鶏肉より低いことが確認されている。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。市販豚肉の検討でも今年度の研究で得た MRSA 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。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 0件
- (2) 海外合計 36件
  - 1) Ozawa M, Shirakawa T, Moriya K, Furuya Y, Kawanishi M, Makita K, Sekiguchi H. Role of Plasmids in Co-Selection of Antimicrobial Resistances Among *Escherichia coli* Isolated from Pigs. *Foodborne Pathog Dis.* 2023 Oct;20(10):435-441
  - 2) Kawanishi M, Matsuda M, Abo H, Ozawa M, Hosoi Y, Hiraoka Y, Harada S, Mio Kumakawa M, Sekigushi H. Prevalence and genetic characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pigs in Japan. *Antibiotics*, 2024, 13, 155.
  - 3) 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.
  - 4) Tomita H, Lu JJ, Ike Y. High Incidence of Multiple-Drug-Resistant Pheromone-Responsive Plasmids and Transmissions of VanA-Type Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecalis* between Livestock and Humans in Taiwan. *Antibiotics (Basel)*. 2023 Nov 27;12(12):1668.
  - 5) Hirakawa H, Shimokawa M, Noguchi K, Tago M,

- Matsuda H, Takita A, Suzue K, Tajima H, Kawagishi I, Tomita H. The PapB/FocB family protein TosR acts as a positive regulator of flagellar expression and is required for optimal virulence of uropathogenic *Escherichia coli*. *Front Microbiol*. 2023 Jul 18;14:1185804.
- 6) Hirakawa H, Takita A, Sato Y, Hiramoto S, Hashimoto Y, Ohshima N, Minamishima YA, Murakami M, Tomita H. Inactivation of *ackA* and *pta* Genes Reduces GlpT Expression and Susceptibility to Fosfomycin in *Escherichia coli*. *Microbiol Spectr*. 2023 Jun 15;11(3):e0506922.
  - 7) Hashimoto Y, 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*. 2023 Apr 18;67(4):e0161922.
  - 8) Shinohara K, Fujisawa T, Chang B, Ito Y, Suga S, Matsumura Y, Yamamoto M, Nagao M, Ohnishi M, Sugai M, Nakano S. Frequent transmission of *Streptococcus pneumoniae* serotype 35B/D-CC558 lineage across continents and the formation of multiple clades in Japan. *Antimicrob Agents Chemother*. 2023 Feb 16;67(2):e0108322.
  - 9) Ide N, Kawada-Matsuo M, Nguyen-Tra ML, Hisatsune J, Nishi H, Hara T, Kitamura N, Kashiyama S, Yokozaki M, Kawaguchi H, Ohge H, Sugai M, Komatsuzawa H. Different CprABC amino acid sequences affect nisin A susceptibility in *Clostridioides difficile* isolates. *PLoS ONE*. 2023 Jan 20;18(1):e0280676.
  - 10) Yu L, Hisatsune J, Kutsuno S, Sugai M. New Molecular Mechanism of Superbiofilm Elaboration in *Staphylococcus aureus* Clinical Strain. *Microbiol Spectr*. 2023 Jan 31;11(2):e0442522.
  - 11) Kajihara T, Yahara K, Hirabayashi A, Hosaka Y, Kitamura N, Sugai M, Shibayama K. Association between the proportion of laparoscopic approaches for digestive surgeries and the incidence of consequent surgical site infections, 2009–2019: A retrospective observational study based on national surveillance data in Japan. *PLoS ONE*. 2023 Feb 17;18(2):e0281838.
  - 12) Ote H, Ito H, Akira T, Sugai M, Hisatsune J, Uehara Y, Oba Y. A fatal case of disseminated infection caused by community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 clone. *Jpn J Infect Dis*. 2023 July;76(4):251-254.
  - 13) Nguyen-Tra ML, Huu-Huong TN, Minh VT, Phuc-Bao TN, Kawada-Matsuo M, Kayama S, Sugai M, Komatsuzawa H. Comprehensive Analysis of Bacteriocins Produced by the Hypermucoviscous *Klebsiella pneumoniae* Species Complex. *Microbiol Spectr*. 2023 May;11(3):e0086323.
  - 14) Segawa T, Hisatsune J, Ishida-Kuroki K, Sugawara Y, Masuda K, Tadera K, Kashiyama S, Yokozaki M, Le MN, Kawada-Matsuo M, Ohge H, Komatsuzawa H, Sugai M. Complete genome sequence of *optrA*-carrying *Enterococcus faecalis* isolated from open pus in a Japanese patient. *J Glob Antimicrob Resist*. 2023 Jun;33:276-278.
  - 15) Toyoshima H, Tanigawa M, Ishiguro C, Tanaka H, Nakanishi Y, Sakabe S, Hisatsune J, Kutsuno S, Iwao Y, Sugai M. Primary bacterial intercostal pyomyositis diagnosis: A case report. *Medicine (Baltimore)*. 2023 May 5;102(18):e33723.
  - 16) Sugai M, Yuasa A, Miller RL, Vasilopoulos V, Kurosu H, Taie A, Gordon JP, Matsumoto T. An Economic Evaluation Estimating the Clinical and Economic Burden of Increased Vancomycin-Resistant *Enterococcus faecium* Infection Incidence in Japan. *Infect Dis Ther*. 2023 Jun;12(6):1695-1713.
  - 17) Ishida-Kuroki K, Hisatsune J, Segawa T, Sugawara Y, Masuda K, Tadera K, Kashiyama S, Yokozaki M, Nguyen-Tra ML, Kawada-Matsuo M, Ohge H, Komatsuzawa H, Sugai M. Complete genome sequence of *cfr(B)*-carrying *Enterococcus raffinosus* isolated from bile in a patient in Japan. *J Glob Antimicrob Resist*. 2023 Jun 24;34:43-45.
  - 18) Hisatsune J, Koizumi Y, Tanimoto K, Sugai M. Diversity and Standard Nomenclature of *Staphylococcus aureus* Hyaluronate Lyases HysA and HysB. *Microbiol Spectr*. 2023 Aug 17;11(4):e0052423.
  - 19) Obata S, Hisatsune J, Kawasaki H, Fukushima-Nomura A, Ebihara T, Arai C, Masuda K, Kutsuno S, Iwao Y, Sugai M. Comprehensive Genomic Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolated from Atopic Dermatitis Patients in Japan: Correlations with Disease Severity, Eruption Type, and Anatomical Site. *Microbiol Spectr*. 2023 Aug 17;11(4):e0523922.
  - 20) Kajihara T, Yahara K, Kitamura N, Hirabayashi A, Hosaka Y, Sugai M. Distribution, trends, and antimicrobial susceptibility of *Bacteroides*, *Clostridium*, *Fusobacterium*, and *Prevotella* species causing bacteremia in Japan during 2011–2020: A retrospective observational study based on national surveillance data. *Open Forum Infect Dis*. 2023 Jul 3;10(7):ofad33.
  - 21) T Sato, T Yamaguchi, K Aoki, C Kajiwarra, S Kimura, T Maeda, S Yoshizawa, M Sasaki, H Murakami, J Hisatsune, M Sugai, Y Ishii, K Tateda, Y Urita. Whole-genome sequencing analysis of molecular epidemiology and silent transmissions causing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bloodstream infections in a university hospital. *J Hosp Infect*. 2023 Sep;139:141-149.

- 22) Kondo K, Nakano S, Hisatsune J, Sugawara Y, Kataoka M, Kayama S, [Sugai M](#), Kawano M. Characterization of 29 newly isolated bacteriophages as a potential therapeutic agent against IMP-6-producing *Klebsiella pneumoniae* from clinical specimens. *Microbiol Spectr*. 2023 Sep 19;11(5): e04761-22.
- 23) Tanabe M, Sugawara Y, Denda T, Sakaguchi K, Takizawa S, Koide S, Hayashi W, Yu L, Kayama S, [Sugai M](#), Nagano Y, Nagano N. Municipal wastewater monitoring revealed the predominance of *bla*<sub>GES</sub> genes with diverse variants among carbapenemase-producing organisms: high occurrence and persistence of *Aeromonas caviae* harboring the new *bla*<sub>GES</sub> variant *bla*<sub>GES-48</sub>. *Microbiol Spectr*. 2023 Dec 12;11(6):e0218823.
- 24) Zuo H, Sugawara Y, Kayama S, Kawakami S, Yahara K, [Sugai M](#). Genetic and phenotypic characterizations of IncX3 plasmids harboring *bla*<sub>NDM-5</sub> and *bla*<sub>NDM-16b</sub> in Japan. *Microbiol Spectr*. 2023 Dec 12;11(6):e0216723.
- 25) Hosaka Y, Muraki Y, Kajihara T, Kawakami S, Hirabayashi A, Shimojima M, Ohge H, [Sugai M](#), Yahara K. Antimicrobial use and combination of resistance phenotypes in bacteraemic *Escherichia coli* in primary care: a study based on Japanese national data in 2018. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2023 Dec 12;79(2):312-319.
- 26) Kayama S, Yahara K, Sugawara Y, Kawakami S, Kondo K, Zuo H, Kutsuno S, Kitamura N, Hirabayashi A, Kajihara T, Kurosu H, Yu L, Suzuki M, Hisatsune J, [Sugai M](#). National genomic surveillance integrating standardized quantitative susceptibility testing clarifies antimicrobial resistance in Enterobacterales. *Nat Commun*. 2023 Dec 5;14(1):8046.
- 27) Xedzro C, Shimamoto T, Yu L, Zuo H, Sugawara Y, [Sugai M](#), Shimamoto T. Emergence of colistin-resistant *Enterobacter cloacae* and *Raoultella ornithinolytica* carrying the phosphoethanolamine transferase gene, *mcr-9*, derived from vegetables in Japan. *Microbiol Spectr*. 2023 Dec 12;11(6):e0106323.
- 28) Sugai K, Kawada-Matsuo M, Le N-T, Sugawara Y, Hisatsune J, Fujiki J, Iwano H, Tanimoto K, [Sugai M](#), Kommatsuzawa H. Isolation of *Streptococcus mutans* temperate bacteriophage with broad killing activity to *S. mutans* clinical isolates. *iScience* 2023 Nov 14;26(12):108465.
- 29) Kusaka S, Haruta A, Kawada-Matsuo M, Le N-T, Yoshikawa M, Kajihara T, Yahara K, Hisatsune J, Nomura R, Tsuga K, Ohge H, [Sugai M](#), Kommatsuzawa H. Oral and rectal colonization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in long-term care facility residents and their association with clinical status. *Microbiol Immunol*. 2024 Mar;68(3):75-89.
- 30) Kitamura N, Kajihara T, Volpiano C-G, Naung M, Meric G, Hirabayashi A, Yano Y, Yamamoto M, Yoshida F, Kobayashi K, Yamanashi M, Kawamura T, Matsunaga N, Okochi J, [Sugai M](#), Yahara K. Exploring the effects of antimicrobial treatment on the gut and oral microbiomes and resistomes from elderly long-term care facility residents via shotgun DNA sequencing. *Microb Genom*. 2024 Feb;10(2):001180.
- 31) Sato'o Y, Hisatsune J, Aziz F, Tatsukawa N, Shibata-Nakagawa M, Ono K H, Naito I, Omome K, [Sugai M](#). Coordination of prophage and global regulator leads to high enterotoxin production in staphylococcal food poisoning-associated lineage. *Microbiol spectr* 2024 Feb; 12(3): e02927-23.
- 32) Ikenoue C, Matsui M, Inamine Y, Yoneoka D, [Sugai M](#), Suzuki S. The importance of meropenem resistance, rather than imipenem resistance, in defining carbapenem-resistant Enterobacterales for public health surveillance: an analysis of national population-based surveillance. *BMC Infect Dis*. 2024 Feb 15;24(1):209.
- 33) Hirabayashi A, Yahara K, Oka K, Kajihara T, Ohkura T, Hosaka Y, Shibayama K, [Sugai M](#), Yagi T. Comparison of disease and economic burden between MRSA infection and MRSA colonization in a university hospital: a retrospective data integration study. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2024 Feb 29;13(27):1-10.
- 34) Hayashi W, Kaiju H, Kayama S, Yu L, Zuo H, Sugawara Y, Azuma K, Takahashi A, Hata Y, [Sugai M](#). Complete sequence of carbapenem-resistant *Ralstonia mannitolilytica* clinical isolate co-producing novel class D  $\beta$ -lactamase OXA-1176 and OXA-1177 in Japan. *Microbiol Spectr*. 2024 Apr 2;12(4):e0391923.
- 35) Yano H, Hayashi W, Kawakami S, Aoki S, Anzai E, Kitamura N, Hirabayashi A, Kajihara T, Kayama S, Sugawara Y, Yahara K, [Sugai M](#). Nationwide genome surveillance of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Japan. *Antimicrob Agents Chemother*. 2024 May 2; 68(5):e0166923.
- 36) Segawa T, Masuda K, Hisatsune J, Ishida-Kuroki K, Sugawara Y, Kuwabara M, Nishikawa H, Hiratsuka T, Aota T, Tao Y, Iwahashi Y, Ueda K, Mae K, Masumoto K, Kitagawa H, Kommatsuzawa H, Ohge H, [Sugai M](#). Genomic analysis of inter-hospital transmission of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* sequence type 80 isolated during an outbreak in Hiroshima, Japan. *Antimicrob Agents Chemother*. 2024 May 2; 68(5):e0171623.



## 2. 学会発表など

### (1) 学会発表

- 1) 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ワンヘルスAMRサーベイランス. 第82回日本公衆衛生学会総会. つくば市 2023.10.31- 11.2
- 2) 浅野由紀子、矢儀田優桂、平井真太郎、大塚有加、柴山恵吾、渡邊治雄、菅井基行、四宮博人. 2015-2022年に有症者から分離されたサルモネラ株の解析について. 第35回日本臨床微生物学会総会・学術集会. 横浜 2024.2.9-11
- 3) 佐々木貴正、古谷陽子、鈴木正太郎、相川知宏、山崎栄樹、岡村雅史、浅井鉄夫：ブロイラー群由来鶏肉のカンピロバクター・サルモネラ汚染の調査、日本獣医師会獣医学術学会年次大会、神戸、令和5年12月1日～3日
- 4) 浅井鉄夫 AMR対策アクションプラン（2023-2027）の概要と期待 日本獣医師会獣医学術学会年次大会、神戸、令和5年12月1日～3日
- 5) 山口哲央、小森光二、青木弘太郎、久恒順三、菅井基行、石井良和、舘田一博、2022年に日本各地で検出された市中感染型MRSAの薬剤感受性および分子疫学解析に関する検討（口頭、一般）、2023/04/30、第97回日本感染症学会総会・学術講演会/第71回日本化学療法学会学術集会
- 6) 第166回日本獣医学会学術集会、9月5日～8日、WEB開催、「国内の豚由来メチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）の分離状況と遺伝子性状解析」川西路子、松田真理、小澤真名緒、阿保均、森谷このみ、平岡ゆかり、原田咲、熊川実旺、首藤江梨奈、宮澤一枝、関口秀人

### (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。