

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
研究協力者	浅井鉄夫	岐阜大学大学院連合獣医学研究科

研究要旨

鶏肉は、サルモネラやカンピロバクターなどに汚染されており、これら病原細菌は薬剤耐性を獲得していることもある。食品を介した病原細菌や薬剤耐性菌のヒト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、国内で生産加工される鶏肉等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いる。サルモネラでは、市販国産鶏肉200検体、食鳥処理場包装品76検体における調査、昨年度分離した菌株のゲノム解析を行った。鶏肉におけるサルモネラ陽性率、薬剤耐性パターンには明確な地域差があり、東日本の特定の地域で感受性の*Salmonella Schwarzengrund*のクローンが維持されている可能性が示唆された。カンピロバクター及びESBL産生大腸菌では、サルモネラ調査にも用いた市販国産鶏肉110検体を対象とした調査と、昨年度分離株のゲノム解析を行った。カンピロバクターの分離陽性率は西日本産検体からの方が東日本産検体からのものよりも有意に高く、サルモネラとは逆の結果となった。薬剤耐性はこれまで通り、半数（47.5%）近くの株がフルオロキノロン耐性であったが、マクロライド系抗菌薬耐性株は認められなかった。昨年度分離株のゲノム解析の結果からは、鶏肉由来株でヒト由来株で高頻度に認められるclonal complex (CC)が認められたこと、同一CC内で薬剤感受性株と耐性株が異なるクラスターに配置されることが明らかとなった。ESBL産生大腸菌の分離陽性率は、カンピロバクターと同様に西日本産検体からの方が東日本産検体からのものよりも有意に高い結果であった。昨年度分離したESBL産生大腸菌のゲノム解析の結果からは、パンデミッククローンであるST131は認められなかったが、ヒト由来株でも高頻度に認められるCTX-M型ESBLを保有するST4649 complex、ST69 complexが認められた。同一ST間では同じCTX-M型ESBLを保有していることから、特定のクローンが拡散している可能性が示唆された。また、鶏肉には大腸菌以外にも、CTX-M型ESBLを保有する*Kluyvera cryo* *crecens*や*Klebsiella pneumonia*等他の腸内細菌目細菌が分布していることも示された。今年度分離したサルモネラ115株、カンピロバクター59株、セフトキシム耐性大腸菌45株を薬剤耐性研究センター提供した。引き続き調査を継続し、ヒト由来株との詳細な解析を行うことにより食品からヒトへの耐性菌伝播可能性を検証できる体制の強化を進め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、ヒト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世代セファロスポリン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ヒト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等における、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、国立衛研と東京農工大では、昨年度に引き続き、市販の国産鶏肉におけるサルモネラ、カンピロバクター、ESBL産生大腸菌の調査を行った。サルモネラに関しては、東京、神奈川の店舗に加え、岐阜大

学・浅井グループが東海・近畿地方の店舗で購入した検体からの分離も試みた。また、ESBL 産生大腸菌に関しては、代表グループでのとりまとめを考慮し、岐阜大学・浅井グループと同一の分離プロトコルとした。帯広畜産大学では、以前実施した市販鶏肉由来カンピロバクターの薬剤耐性状況調査において、フルオロキノロン耐性率には西日本の方が東日本よりも高いという結果が得られたことから、サルモネラにも同様の地域性があるのか、鶏肉の主産地である北海道地方、東北地方及び九州地方で生産された鶏肉（食鳥処理場包装品）を検体として調査した。

B. 研究方法：

1. 市販国産鶏肉におけるサルモネラ、カンピロバクター及びセフトキシム耐性大腸菌の汚染実態調査（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・むね肉を東京都、神奈川県の小売店 35 店舗で購入した。2024 年 2 月(冬期)、4 月（春）、7～9 月（夏期）、2025 年 2 月（冬期）に計 150 検体を購入した。また、今年度は、岐阜大学・浅井グループが岐阜県、愛知県、京都府の小売店で購入した鶏もも肉・むね肉 50 検体も用いた。検体は、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、千葉県の製品を東日本産とし、兵庫県、鳥取県、徳島県、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

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 寒天培地（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% O₂、10% CO₂）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 耐性大腸菌の分離

CTX 耐性大腸菌の分離は、岐阜大学・浅井グループと同じ方法で行った。上記 B.1.2) (1)で培養した BPW 前増菌液を 1 µg/ml の濃度でセフトキシムナトリウム（富士フィルム和光純薬）を添加したクロモアガー-ECC 培地（関東化学）に画線塗抹し 35°C で 22±2 時間培養した。生育した青色のコロニーを各検体 原則 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い大腸菌であることを確認し以降の解析に用いた。

3) 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、他分担グループ特に家畜や食品を対象とした調査を行っているグループ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。サルモネラ及び CTX 耐性大腸菌には、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* ATCC25922 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* ATCC33560 株を用いた。

4) 統計検定

2 群間の陽性率の有意差検定には、検体数に応じてカイ二乗検定もしくはフィッシャーの正確確率検定を用いた。有意水準は 0.05 に設定し、 p 値がこれを下回った場合に 2 群間に有意差があると判定した。

2. 令和 5 年度に市販国産鶏肉から分離した菌株の分子疫学解析

1) 菌株

令和 5 年度に、厚生労働科学研究費補助金 食品の安全確保推進研究「ワンヘルスに基づく食品由来薬剤耐性菌のサーベイランス体制強化のための研究 (21KA1004)」にて、分担者らが市販国産鶏肉から分離したサルモネラ 84 株、カンピロバクター 51 株、CTX 耐性腸内細菌目・シュードモナス目細菌 102 株を対象とした。薬剤耐性研究センターにて取得した各菌株のドラフト配列を解析に用いた。

2) 分子疫学解析

各菌株ドラフト配列中の薬剤耐性遺伝子は、薬剤耐性研究センターで構築したデータベースを用いて検出した。サルモネラ、大腸菌、カンピロバクターの core genome multi-locus sequence typing (cgMLST) は [Enterobase \(https://enterobase.warwick.ac.uk\)](https://enterobase.warwick.ac.uk) 及び [PubMLST \(https://pubmlst.org\)](https://pubmlst.org) のデータベースを用いた Center for Genomic Epidemiology の [cgMLSTFinder \(https://cge.food.dtu.dk/services/cgMLSTFinder/\)](https://cge.food.dtu.dk/services/cgMLSTFinder/) で行った。最小全域木及びデンドログラムは [GrapeTree \(https://github.com/achtmanlab/GrapeTree/releases\)](https://github.com/achtmanlab/GrapeTree/releases) で計算し、[iTOL \(https://itol.embl.de/itol.cgi\)](https://itol.embl.de/itol.cgi) で作図した。

3. 食鳥処理場包装品におけるサルモネラ汚染実態調査 (帯広畜産大学で実施)

1) 食品検体

北海道産及び東北産の鶏肉 (真空むね肉パック) を小売店で購入した (計 40 検体)。また、九州産の鶏肉 (真空むね肉パック) は、食鳥処理場 6 施設から直接購入 (36 検体) した。

2) サルモネラ分離試験

むね皮 25g を検体として、ISO 法に従いサルモネラ分離試験を実施した。サルモネラが分離された場合には、1 検体 4 株の血清型を同定し、1 血清型 1 株について微量液体希釈法 (12 剤: アンピシリン、セファゾリン、セフトキシム、ストレプトマイシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、テトラサイクリン、ナリジクス酸、シプロフロキサ

シン、コリスチン、クロラムフェニコール及びトリメトプリム) により最小発育抑制濃度 (MIC) を測定し、JVARM のブレイクポイントに従い耐性の有無を判断した。

(倫理面への配慮)

本研究では該当しない。

C. 研究結果:

1. 市販国産鶏肉におけるサルモネラ、カンピロバクター及び CTX 耐性大腸菌の汚染実態調査 (国立衛研と東京農工大学で実施)

1) サルモネラ

東京都、神奈川県 の 35 店舗で購入した 150 検体からのサルモネラ分離状況を表 2 に示す。全 150 検体におけるサルモネラ分離陽性率は 62.0% (93/150) であった。検体の産地毎に集計した結果では、東日本を産地とする 75 検体では 72.0% (54/75)、西日本を産地とする 47 検体では 42.6% (20/47)、産地が特定できなかった 28 検体では 67.9% (19/28) が分離陽性となった。分離されたサルモネラの血清型で最も多かったのは *S. Schwarzengrund* (84 株) であり、全分離株の 90.3% (84/93) を占めた。産地別の集計では、分離陽性率は東日本産で 88.9% (48/54)、西日本産で 90.0% (18/20)、産地が特定できなかった検体では 94.7% (18/19) であった。東日本産と西日本産検体からの分離陽性率は、カイ二乗検定の結果、有意差があると判定された ($p < 0.01$)。 *S. Schwarzengrund* に次いで、*S. Infantis* が 8 株 (全体の 9.7%) 分離されたが、うち 7 株は東日本産の検体からであった。その他の血清型は、*S. Mbandaka* と *S. Bareilly* が 1 株ずつ分離された。

岐阜大学・浅井グループで購入した鶏肉検体 (東海地方・近畿の小売店で購入) からのサルモネラ分離状況を表 3 に示す。全 50 検体におけるサルモネラ分離陽性率は 58.0% (29/50) であった。分離されたサルモネラの血清型で最も多かったのは、*S. Schwarzengrund* (21 株) であり、全分離株の 72.4% (21/29) を占めた。東京・神奈川の店舗で購入した検体では *S. Schwarzengrund* に次ぐ分離頻度であった *S. Infantis* は 1 検体からの分離に留まった。一方、東京・神奈川の店舗で購入した検体からは分離されなかった O6,8 群が 5 株 (全分離株の 17.2%) 分離され、その内訳は *Manhattan* が 3 株、*Dunkwa* 及び *Hadar* が 1 株ずつであった。

東京・神奈川の店舗で購入した検体から分離された株の薬剤感受性について、複数株分離された *S. Schwarzengrund* と *S. Infantis* の各種薬剤に対する耐性率を表 4 に示す。両血清型で SM、KM、TC、ST に対して 20~50% 程度の範囲で耐性が認められたが、CEZ、CTX、MEMP、CL 耐性株は分離されなかった。 *S. Schwarzengrund* でフルオロキノロ

ン（CPFX）耐性株が 1 株分離された。*S. Schwarzengrund* 分離株 84 株の薬剤耐性パターンを表 5 に示す。西日本産鶏肉由来株では、3 剤以上の多剤耐性株が 88.9%（14/18）を占め、東日本産鶏肉由来株では、45.8%（22/48）が供試した全ての薬剤に感受性であった。

また、東海・近畿地方の店舗で購入した検体から分離された株の薬剤耐性状況と薬剤耐性パターンを表 6 と表 7 に示す。これらの株では、全ての薬剤に感受性であったのは *S. Schwarzengrund* の 1 株であり、第 3 世代セファロスポリン耐性株（*S. Infantis*）、フルオロキノロン耐性株（*S. Manhattan*）、CL 耐性株（OUT:d:1,5）が 1 株ずつ分離された。

2) カンピロバクター

カンピロバクターの調査は、東京・神奈川の店舗で購入した 110 検体で行った。分離状況の概要を表 8 に示す。全 110 検体におけるカンピロバクター分離陽性率は 48.2%（53/110）であり、*C. jejuni* は 46.4%（51 検体）、*C. coli* では 4.5%（5 検体）の検体から分離された。産地別の集計では、東日本産鶏肉からの分離陽性率 32.1%（17/53）は西日本産鶏肉からの分離陽性率 69.4%（25/36）より低値であり、フィッシャーの正確確率検定の結果、両群間の陽性率は有意差があると判定された（ $p < 0.001$ ）。*C. jejuni* 54 株と *C. coli* 5 株の薬剤感受性試験の結果を表 9 に示す。昨年度までの調査結果と同様に、*C. jejuni* では半数近く（40.7%）の株が NA、CPFX に耐性を示し、供試した全ての薬剤に感受性を示したのは 22 株（40.7%）であった。治療薬として用いられる EM 及び CLDM に耐性を示した株は、*C. jejuni*、*C. coli* 共に分離されなかった。

3) CTX 耐性大腸菌

CTX 耐性大腸菌の調査は、カンピロバクターと同じ検体から、すなわち、東京・神奈川の店舗で購入した 110 検体で行った。分離状況の概要を表 10 に示す。全 110 検体における CTX 耐性大腸菌の分離陽性率は 34.5%（38/110）であった。産地別の集計では、東日本産鶏肉からの分離陽性率 24.5%（13/53）、西日本産鶏肉からの分離陽性率は 55.6%（20/36）であった。フィッシャーの正確確率検定の結果、両群間の陽性率は有意差があると判定された（ $p < 0.005$ ）。分離された CTX 耐性大腸菌 45 株の薬剤感受性試験の結果を表 11 に示す。全 45 株いずれも CTX に加えて ABPC、CEZ に耐性を示し、4 種以上の薬剤に耐性を示す株が 93.3%（42 株）を占めた。また、3 株（6.7%）を除いて ACV に感受性を示した。MEPM、GM、CL 耐性株は分離されなかった。

4) 薬剤耐性研究センターへの菌株送付

令和 6 年度に、本研究事業で分離したサルモネラ 115 株、カンピロバクター 59 株、CTX 耐性大腸菌 45 株については、「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書」に収載するデータとして、ゲノム配列を取得するため菌株もしくはゲノム DNA を薬剤耐性研究センターに送付した（表 12）。

2. 令和 5 年度に市販国産鶏肉から分離した菌株の分子疫学解析

1) サルモネラ

令和 5 年度（2023 年）に市販国産鶏肉から分離されたサルモネラの cgMLST に基づく最小全域木を図 3 に示す。最も優勢な血清型であった *S. Schwarzengrund* では、薬剤耐性遺伝子をもたない株が明確なクラスターを形成していることが示された。*S. Schwarzengrund* の cgMLST 結果をデンドログラムで可視化しメタ情報を付記した図を図 4 として示す。薬剤耐性遺伝子をもたない *S. Schwarzengrund* のクラスターは東日本産鶏肉由来であることが明らかとなった。

2) カンピロバクター

令和 5 年度（2023 年）に市販国産鶏肉から分離されたカンピロバクターの cgMLST に基づく最小全域木を図 5 に示す。主要な clonal complex (cc) 型として国内の鶏、鶏肉で報告のある ST-45 complex、ヒト由来株で高頻度に報告される ST-21 complex が多く分離された。cgMLST 解析の結果から、同一 CC 内でも薬剤耐性株と感受性株では別のクラスターに配置される傾向が認められた。

3) CTX 耐性腸内細菌目細菌

令和 5 年度（2023 年）に市販国産鶏肉から分離された CTX 耐性菌について詳細な解析を行った。TOF-MS による菌種同定の結果、腸内細菌目であるとされた菌株に関しては CTX に対する MIC 値が 2 mg/L 以上、シュードモナス目とされた菌株では CTX に対する MIC 値が 16 mg/L 以上を示した合計 102 株をゲノム解析に供した。ゲノム配列に基づく菌種同定の結果を表 13 に示す。これらのうち、大腸菌以外の腸内細菌目細菌における β ラクターマーゼ遺伝子の保有状況を表 14 に示す。*Serratia fonticola*、*Citrobacter* spp.、*Aeromonas* sp. では AmpC 型の β ラクターマーゼ遺伝子を保有していたが、*Kluyvera cryocrescens*、*Klebsiella pneumoniae* では CTX-M 型の ESBL を保有している株が分離された。大腸菌に関しては、ゲノム解析に供した 32 株全てが ESBL 遺伝子を保有していた。cgMLST 結果とその他メタ情報を付記した図を示す（図 6）。鶏肉からは、臨床的に重要な ST131 は分離されなかったものの、ヒト由来株で高頻度に報告される ST4649 complex、ST69 が多く分離された。また、ST69 complex は *bla*_{CTX-M-14}、ST2792 は *bla*_{CTX-M-2} など同一 ST 間では共通の

CTX-M 型 ESBL 遺伝子を保有していることが示された。いずれの分離株も ESBL 遺伝子以外に多くの薬剤耐性遺伝子・変異を有することも示された。

3. 食鳥処理場包装品におけるサルモネラ汚染実態調査（帯広畜産大学で実施）

調査結果は表 15 に示す。サルモネラ陽性率は 86.8% (66/76) であった。サルモネラ陽性 66 検体のうち 2 検体からは 2 つの血清型が分離された。最も多かった血清型は、Schwarzengrund (63 株) ですべて地方から分離され、次いで Manhattan (6 株) が多く、北海道地方と九州地方から分離された。76 検体は 15 施設で真空包装された検体で、Schwarzengrund はすべての施設から分離されたが、Manhattan は 3 施設（北海道地方 1 施設及び九州地方 2 施設）でのみ分離された。薬剤感受性試験の結果、耐性率はテトラサイクリン (47.1%) が最も高く、次いでストレプトマイシン (41.2%)、カナマイシン (39.7%)、ナリジクス酸 (20.6%)、トリメトプリム (19.1%) の順であった。医療上重要とされる第 3 世代セファロスポリンやフルオロキノロンに耐性を示す株はすべての地方からも分離されなかった。Schwarzengrund の薬剤耐性について、北海道産鶏肉由来株は、90.5% (19/21) が供試した 12 薬剤すべてに感性を示し、多剤耐性は認められなかった。東北地方産鶏肉由来株は、50% (8/16) が供試した 12 薬剤すべてに感性を示し、多剤耐性株は 3 株 (18.8%) のみであった。一方、九州産鶏肉由来株は、全株が多剤耐性株であった。

D. 考察:

市販国産鶏におけるサルモネラは、他でも多数報告されているとおり、*S. Schwarzengrund* が最も優勢であった。*S. Infantis* は *S. Schwarzengrund* に次いで分離頻度の高い血清型であるが、分離頻度は低下しており、東京・神奈川の店舗で購入した検体における分離率は 6.0% (9/150)、東海・近畿地方の店舗で購入した検体における分離率は 2% (1/50) であった。検体を産地別に集計すると東日本を産地とする検体からの分離率が、西日本を産地とする検体からよりも有意に高かった (表 2)。また、東日本産鶏肉由来株では薬剤感受性株の割合が 45.8% と、西日本産鶏肉由来株の 18.0% と比較して有意に高値を示した (表 5)。昨年度の分離株のゲノム解析では、薬剤感受性株は *S. Schwarzengrund* 内でも明確なクラスターを形成しており、由来は殆ど東日本産鶏肉由来であった (図 3、4)。以上から、鶏肉におけるサルモネラ陽性率、薬剤耐性パターンには明確な地域差があり、東日本の特定の地域で感受性の *S. Schwarzengrund* のクローンが維持されている可能性が示唆された。また、東海・近畿地方の店舗で

購入した検体からは、東京・神奈川の店舗で購入した検体からは分離されなかった *S. Manhattan* を始めとする O6,8 群が複数検出された。本研究では、全国状況を反映するよう、可能な限り多くの店舗で幅広い産地の製品を購入し検体としたが、購入する店舗の地域を広げることの意義が改めて確認された。

市販国産鶏肉におけるカンピロバクター調査では、サルモネラとは逆に西日本産鶏肉の方が東日本産鶏肉からよりも分離陽性率が有意に高い結果が得られた (表 8)。薬剤耐性パターンは、地域差があるという結果は得られなかった (データ示さず)。分離した半数近くの株がフルオロキノロン耐性であったが、マクロライド系の EM 及び CLDM に耐性示す株は認められなかった。昨年度分離株のゲノム解析の結果から、鶏肉由来株でヒト由来株で高頻度に分離される CC が認められたこと、同一 CC 内で薬剤耐性株と感受性株が異なるクラスターに配置されたこと (図 5) から、ヒト由来株を含めた詳細な解析をすることで、鶏肉からヒトへの伝播可能性や薬剤耐性株出現動向を明らかにしていく必要があることが改めて示された。

市販鶏肉における第 3 世代セファロスポリン耐性大腸菌調査では、代表グループでのとりまとめを考慮し、岐阜大学・浅井グループとの間で分離プロトコルを統一し調査を行った。CTX 耐性大腸菌は、カンピロバクターと同様に、西日本産鶏肉検体からの分離率が東日本産鶏肉検体からよりも有意に高い結果が得られた (表 10)。分離株の β ラクタムに対する耐性は、殆どの株 (93.3%) でクラブラン酸により阻害されることから、分離株の第 3 世代セファロスポリンに対する耐性は ESBL によるものであることが強く示唆された (表 11)。また、昨年度は、鶏肉における第 3 世代セファロスポリン耐性菌の汚染実態把握のために、大腸菌に限らず幅広く CTX 耐性の腸内細菌目とシュードモナス目の調査を行った。ゲノム解析の結果、CTX-M 型 ESBL を保有する *Kluyvera cryocrescens*、*Klebsiella pneumoniae* が分離され (表 14)、大腸菌以外の腸内細菌目細菌にも注意が必要であることが示された。CTX 耐性大腸菌ゲノム解析の結果、パンデミッククローンである ST131 は分離されなかったが、ヒト由来株で高頻度に報告される CTX-M 型 ESBL を保有する ST4649 complex、ST69 complex が検出された。同一 ST 間では、同じ CTX-M 型を保有していることから、特定のクローンが拡散している可能性がある。分離株はいずれも、 β ラクタム以外に多数の薬剤に耐性を示していたことから、今後は、鶏肉に由来する大腸菌を始めとした ESBL 保有腸内細菌目細菌の、ヒト由来株との比較を含めた詳細な解析や薬剤耐性が他の病原細菌へ伝播するかの検証が必要である。

帯広畜産大学でのサルモネラ調査では、食鳥処理場出荷以降のサルモネラ交差汚染の影響がないように、食鳥処理場包装品を購入して調査を行った。結果、各地方では施設間でサルモネラの薬剤耐性状況には大きな違いは認められないが、地方間では、薬剤耐性状況に大きな違いが認められ、九州産鶏肉から分離されるサルモネラのほぼすべてが多剤耐性を示した。特に、ストレプトマイシン、カナマイシン及びテトラサイクリンに対する耐性率は約 40%であった。これら 3 つの抗菌薬は、種鶏場又は孵化場において、細菌感染症の予防目的で使用されている。例えば、テトラサイクリンはマイコプラズマ感染症の予防目的で種鶏の飼料に添加され、ストレプトマイシンとカナマイシンは、種卵又は初生ヒナへのワクチン接種時の細菌感染症の発生防止のためにワクチンに添加されている。このような日常的に抗菌薬を使用する場合には耐性株が選択されやすく、その結果がサルモネラ株の耐性状況に反映していると考えられた。

これら抗菌薬の耐性率に地域性が生じる原因の 1 つとして、農林水産省の監視伝染病以外の疾病の発生状況 (https://www.maff.go.jp/j/syouan/douei/kansi_densen/kanren_zyouhou.html) を見ると、鶏の大腸菌症及びブドウ球菌症の報告数は、九州地方が最も多いことから、これら感染症の予防目的に使用されていると考えられる。

E. 結論

市販国産鶏肉、食鳥処理場包装品を用いたサルモネラ汚染実態調査の結果、国産鶏肉におけるサルモネラの陽性率は東日本産で有意に高く、薬剤耐性パターンにも明確な地域差があることが明らかとなった。カンピロバクター、第 3 世代セファロスポリン耐性大腸菌の汚染状況にも地域差があるが、サルモネラとは逆に西日本産で高い分離率を示すことが明らかとなった。今年度は、本事業で分離したサルモネラ 115 株、カンピロバクター 59 株、セフォタキシム耐性大腸菌 45 株を薬剤耐性研究センターへ提供した。引き続き調査を継続し、ヒト由来株との詳細な解析を行うことにより食品からヒトへの耐性菌伝播可能性を検証できる体制の強化を進め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

- 1) Geographical variation in antimicrobial resistant *Salmonella* Schwarzengrund from chicken meat in

Japan. Sasaki Y, Furuya Y, Suzuki S, Momose Y, Uema M, Kayano M, Aikawa C, Sasaki M, Okamura M, Ohya K. J Vet Med Sci. 2025 10;87(3):315-319.

2. 学会発表

- 1) Ohya K, Ajero CD, Sugawara Y, Yahara K, Hayashi K, Kitamura N, Sugai M, Hara-Kudo Y, Ishihara K: Surveillance of *Salmonella*, *Campylobacter* and antimicrobial resistant *Enterobacteriaceae* in retailed chicken meat in Japan. The 18th Congress of the International Union of Microbiological Societies (IUMS), October 23-25, 2024 (Florence, Italy).
- 2) 大屋 賢司, Ajero Christine、菅原 庸、矢原 耕史、北村 徳一、林 克彦、菅井 基行、工藤 由起子、石原 加奈子: 市販国産鶏肉におけるサルモネラ属及びカンピロバクター検出状況と薬剤耐性. 第 45 回日本食品微生物学会学術総会、青森市、令和 6 年 9 月 5 日 (木) ~ 9 月 6 日 (金)

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：R6年度汚染実態調査（国衛研・農工大実施分）

検体購入期間	国衛研・農工大：春（4月）、夏（7～9月）、冬（2月） 岐阜大：6～11月
対象食品	国産鶏肉（皮）
検体購入	国衛研・農工大：東京・神奈川の店舗 岐阜大：岐阜、愛知、京都の店舗
検体の産地	北海道、青森、岩手、宮城、新潟、千葉、愛知、岐阜 京都、兵庫、鳥取、徳島、福岡、佐賀、宮崎、鹿児島
分離対象	サルモネラ 国衛研・農工大購入分：25検体（R6年2月）+125検体（春・夏・冬） 岐阜大購入分：50検体 ESBL産生大腸菌・カンピロバクター 国衛研・農工大購入分：110検体（夏・冬）
MIC値測定	サルモネラ属、ESBL産生菌：ABPC, CEZ, CTX, ACV, GM, MEPM, SM, KM, TC, CP, NA, CPF, ST, CL（14剤） カンピロバクター：ABPC, IPM, SM, KM, GM, EM, CLDM, CP, TC, DOXY, NA, CPF（12剤）

表2：鶏肉由来サルモネラ分離状況
東京・神奈川店舗購入分

産地	検体数	サルモネラ 陽性数（陽性率）	血清型	分離株数 （産地別の割合）
東日本	75	54 (72.0%)*	Schwarzengrund	48 (88.9%)
			Infantis	7 (13.0%)
			Mbandaka	1 (1.9%)
西日本	47	20 (42.6%)*	Schwarzengrund	18 (90.0%)
			Infantis	1 (5.0%)
			Bareilly	1 (5.0%)
産地不明	28	19 (67.9%)	Schwarzengrund	18 (94.7%)
			Infantis	1 (5.3%)
計	150	93 (62.0%)		

* $p < 0.01$

西日本産鶏肉からの分離率が低い傾向

表3：鶏肉由来サルモネラ分離状況

東海地方・近畿店舗購入分（2024.6-11）

分離状況

検体数	サルモネラ陽性数	サルモネラ分離率
50	29	58.0%

分離菌株の血清型

O群	抗原構造	血清型	株数	
4	4:d:1,7	Schwarzengrund	21	22
	4:i:G	Unassigned	1	
7	7:r:1,5	Infantis	1	
6,8	6,8:d:1,5	Manhattan	3	5
	6,8:d:1,7	Dunkwa	1	
	6,8:z ₁₀ :e,n,x	Hadar	1	
Untypeable	OUT:r:1,5	Unassigned	1	2
	OUT:d:1,7	Unassigned	1	

東京・神奈川の店舗で購入した鶏肉からは分離されていない、O6,8群が複数分離された。

表4：鶏肉由来サルモネラの薬剤耐性状況 東京・神奈川店舗購入分

薬剤	耐性率（株数）		薬剤	耐性率（株数）	
	Schwarzengrund (84)	Infantis (9)		Schwarzengrund (84)	Infantis (9)
ABPC	1.2% (1)	0 (0)	KM	48.8% (41)	33.3% (3)
CEZ	0 (0)	0 (0)	TC	45.2% (38)	55.6% (5)
CTX	0 (0)	0 (0)	CP	0 (0)	0 (0)
ACV	0 (0)	0 (0)	NA	17.9% (15)	0 (0)
MEPM	0 (0)	0 (0)	CPFX	1.2% (1)	0 (0)
GM	0 (0)	0 (0)	ST	17.9% (15)	44.4% (4)
SM	45.2% (38)	66.7% (6)	CL	0 (0)	0 (0)

3GC、MEPM、CL耐性株は検出されなかった。

表5：鶏肉由来サルモネラ薬剤耐性パターン 東京・神奈川店舗購入分
Schwarzengrund

耐性プロファイル	耐性 薬剤数	株数 (%)					
		全国		東日本産		西日本産	
ABPC, SM, KM, TC, ST	5	1	5 (6.0%)	0	0 (0%)	1	4 (22.2%)
SM, KM, TC, NAL, ST		3		0		2	
SM, KM, TC, NAL, CPFX		1		0		1	
SM, KM, TC, NAL	4	2	10 (11.9%)	2	5 (10.4%)	0	3 (16.7%)
SM, KM, TC, ST		7		3		3	
SM, TC, NAL, ST		1		0		0	
SM, KM, ST	3	1	18	1	6	0	9 (50.0%)
SM, KM, TC		7		2		2	
SM, TC, NAL		8		3		5	
SM, TC, ST		2		0		2	
KM, TC	2	2	6	0	1	1	1
SM, TC		4		1		0	
KM	1	17	18	13	14	1	1
SM		1		1		0	
感受性	0	27 (32.1%)		22 (45.8%)		0 (0%)	
合計		84 (100%)		48 (100%)		18 (100%)	

- ・ 西日本産鶏肉由来株では、3剤以上の多剤耐性株が88.9%を占めた。
- ・ 東日本産鶏肉由来株では、45.8%が感受性株であった。

表6：鶏肉由来サルモネラ薬剤耐性状況
東海・近畿地方の店舗購入分

薬剤	耐性率 (株数)		薬剤	耐性率 (株数)	
	Schwarzengrund (21)	他の血清型 (10)		Schwarzengrund (22)	他の血清型 (10)
ABPC	0 (0)	10.0% (1)	KM	81.0% (17)	10.0% (1)
CEZ	0 (0)	10.0% (1)	TC	71.4% (15)	100% (10)
CTX	0 (0)	10.0% (1)	CP	0 (0)	0 (0)
ACV	0 (0)	10.0% (1)	NA	28.6% (6)	10.0%(1)
MEPM	0 (0)	0 (0)	CPIX	0 (0)	10.0%(1)
GM	0 (0)	0 (0)	ST	38.1% (8)	10.0%(1)
SM	57.1% (12)	100% (10)	CL	0 (0)	10.0%(1)

表7：鶏肉由来サルモネラ薬剤耐性パターン 東海・近畿地方の店舗購入分

耐性パターン	耐性薬剤数	株数	血清型（株数）
ABPC, CEZ, CTX, ACV, SM, TC	6	1	Infantis (1)
SM, KM, TC, NA, ST	5	4	Schwarzengrund (4)
SM, KM, TC, ST	4	4	Schwarzengrund (3) OUT:r:1,5 (1)
SM, TC, NA, CPFX		1	Manhattan (1)
KM, TC, NA	3	1	Schwarzengrund (1)
SM, KM, TC		3	Schwarzengrund (3)
SM, TC, CL		1	OUT:d:1,5 (1)
SM, TC, ST		1	Schwarzengrund (1)
KM, TC	2	1	Schwarzengrund (1)
SM, TC		7	Schwarzengrund (1), Manhattan (2), Hadar (1), Dunkwa (1), 4:i:G (1), OUT:d:1,7 (1)
TC, NA		1	Schwarzengrund (1)
KM	1	5	Schwarzengrund (5)
感受性株	0	1	Schwarzengrund (1)

表8：鶏肉由来カンピロバクター分離状況
東京・神奈川店舗購入分

産地	検体数	カンピロバクター 陽性数（陽性率）	菌種	分離株数
東日本	53	17 (32.1%) *	<i>C. jejuni</i>	18
			<i>C. coli</i>	2
西日本	36	25 (69.4%)*	<i>C. jejuni</i>	28
			<i>C. coli</i>	1
産地不明	21	11 (52.4%)	<i>C. jejuni</i>	8
			<i>C. coli</i>	2
計	110	53 (48.2%)	<i>C. jejuni</i>	54
			<i>C. coli</i>	5

* $p < 0.001$

表9：鶏肉由来カンピロバクター薬剤耐性状況
東京・神奈川店舗購入分

薬剤	耐性率（株数）		薬剤耐性プロファイル		株数
	<i>C. jejuni</i> 54株	<i>C. coli</i> 5株			
ABPC	13.0% (7)	0%	<i>C. jejuni</i> 54株	ABPC, TC, DOXY, NA, CPFX	2
IPM	0%	0%		ABPC, NA, CPFX	2
SM	0%	40% (2)		ABPC, TC, DOXY	1
KM	0%	40% (2)		TC, NA, CPFX	4
GM	0%	0%		NA, CPFX	13
EM	0%	0%		TC, DOXY	2
CLDM	0%	0%		ABPC	2
CP	0%	0%		TC	1
TC	18.5% (10)	40% (2)		NA	1
DOXY	9.3% (5)	40% (2)		CPFX	1
NA	40.7% (22)	80% (4)		Susceptible	22
CPFX	40.7% (22)	80% (4)		<i>C. coli</i> 5株	SM, TC, DOX, NA, CPFX
			KM, TC, DOXY, NA, CPFX		1
			SM, NA, CPFX		1
			KM, NA, CPFX		1
			Susceptible		1

表10：鶏肉由来CTX耐性大腸菌分離状況
東京・神奈川店舗購入分

産地	検体数	分離検体（分離率）
東日本	53	13 (24.5%)*
西日本	36	20 (55.6%)*
産地不明	21	5 (23.8%)
計	110	38 (34.5%)

* $p < 0.005$

西日本産鶏肉からの分離率が高い傾向

表11：鶏肉由来CTX耐性大腸菌の薬剤耐性状況

薬剤	耐性株数	耐性率 (%)	耐性パターン	耐性薬剤数	株数
ABPC	45	100	ABPC, CEZ, CTX, ACV, SM, KM, TC, CP, NA, CPFX, ST	11	1
CEZ	45	100	ABPC, CEZ, CTX, SM, KM, TC, CP, NA, CPFX, ST	10	1
CTX	45	100	ABPC, CEZ, CTX, SM, KM, TC, CP, NA, CPFX		3
ACV	3	6.7	ABPC, CEZ, CTX, SM, KM, TC, CP, NA, ST	9	4
GM	0	0	ABPC, CEZ, CTX, SM, KM, TC, NA, CPFX, ST		1
MEPM	0	0	ABPC, CEZ, CTX, ACV, SM, KM, TC, NA		1
SM	35	77.8	ABPC, CEZ, CTX, SM, KM, TC, CP, NA		1
KM	35	77.8	ABPC, CEZ, CTX, SM, KM, TC, NA, ST	8	1
TC	36	80.0	ABPC, CEZ, CTX, SM, TC, CP, NA, ST		1
CP	16	35.6	ABPC, CEZ, CTX, SM, TC, NA, CPFX, ST		1
NA	23	63.9	ABPC, CEZ, CTX, SM, KM, NA, CPFX		1
CPFX	8	17.8	ABPC, CEZ, CTX, SM, KM, TC, CP		4
ST	12	26.7	ABPC, CEZ, CTX, SM, KM, TC, NA	7	5
CL	0	0	ABPC, CEZ, CTX, SM, KM, TC, ST		1
			ABPC, CEZ, CTX, SM, TC, CP, ST		1
			ABPC, CEZ, CTX, SM, KM, NA		1
			ABPC, CEZ, CTX, SM, KM, TC	6	6
			ABPC, CEZ, CTX, ACV, TC		1
			ABPC, CEZ, CTX, KM, TC	5	1
			ABPC, CEZ, CTX, KM		2
			ABPC, CEZ, CTX, NA	4	1
			ABPC, CEZ, CTX, TC		1
			ABPC, CEZ, CTX	3	4

表12：R6年度に薬剤耐性研究センターへ送付した鶏肉由来分離菌株

菌種	送付形態	整理番号	株数
サルモネラ	菌株	151S1-300S3 (農工大・国立衛研購入検体から分離) AS10-AS49 (岐阜大学購入検体から分離)	115
CTX耐性大腸菌	菌株	205E1-299E2	45
カンピロバクター	gDNA	SC70-SC130	59

表13：ゲノム配列に基づくCTX耐性菌の菌種同定

菌種	株数
<i>Escherichia coli</i>	32
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2
<i>Serratia fonticola</i>	27
<i>Kluyvera cryocrescens</i>	12
<i>Citrobacter</i> spp. (<i>C. freundii</i> , <i>C. braakii</i>)	3
<i>Aeromonas allosaccharophila</i>	2
<i>Acinetobacter</i> spp. (<i>A. baumannii</i> , <i>A. seifertii</i>)	3
<i>Pseudomonas</i> spp. (<i>P. protegens</i> , <i>P. mosselii</i> , <i>P. brassicae</i> , <i>P. guariconensis</i>)	18

表14：鶏肉由来CTX耐性腸内細菌目細菌のβラクタマーゼ遺伝子保有状況

Species	βラクタマーゼ遺伝子保有状況			ACV感受性
	分類	遺伝子型	%	
<i>Serratia fonticola</i> n=27	ESBL	<i>bla</i> _{FONA-5}	18.5	7.4 % *
		<i>bla</i> _{FONA-7}	81.5	3.7% (7.4%*)
	AmpC	<i>bla</i> _{SFDC-1}	100	3.7% (7.4%*)
<i>Kluyvera cryocrescens</i> n=12	ESBL	<i>bla</i> _{CTX-M-3}	100	25.0% (75.0%*)
<i>Citrobacter</i> spp. n=3	AmpC	<i>bla</i> _{CMY-70}	33.3	0%
		<i>bla</i> _{CMY-101}	33.3	0%
		<i>bla</i> _{CMY-109}	33.3	0%
<i>Klebsiella pneumoniae</i> n=2	ESBL	<i>bla</i> _{CTX-M-15} , <i>bla</i> _{SHV-27}	50.0	100%
		<i>bla</i> _{CTX-M-15}	50.0	
<i>Aeromonas</i> sp. n=2	AmpC	<i>bla</i> _{FOX-16}	100	0%

* ABPC, CEZ耐性だがCTX感受性

表15 食鳥処理場包装鶏肉から分離されたサルモネラの血清型と薬剤耐性パターン

Region	Facility	No. of samples	No. of positive samples	Serovar (No. of isolates)	Antimicrobial resistance profile	No. of isolates
Hokkaido	4	23	23	Schwarzengrund ■(21)	SM	1
					KM	1
					感性	19
				Manhattan (1)	SM+TC	1
				Infantis (1)	感性	1
Tohoku	5	17	16	Schwarzengrund ■(16)	SM+KM+TC+TMP	1
					SM+TC	1
					KM+NA	1
					SM	1
					KM	4
					感性	8
Kyushu	6	36	27	Schwarzengrund ■(24)	SM+KM+TC+NA+TMP	8
					SM+KM+TC+NA	4
					KM+TC+NA+TMP	1
					KM+TC+TMP	3
					SM+KM+TC	3
					SM+TC	2
					KM+TC	1
					SM+TC	2
				Manhattan (5)	SM+TC	4
					TC	1

ABPC:ampicillin, SM:streptomycin, KM:kanamycin, TC:tetracyclin, NA:nalidixic acid, TMP:trimethoprim

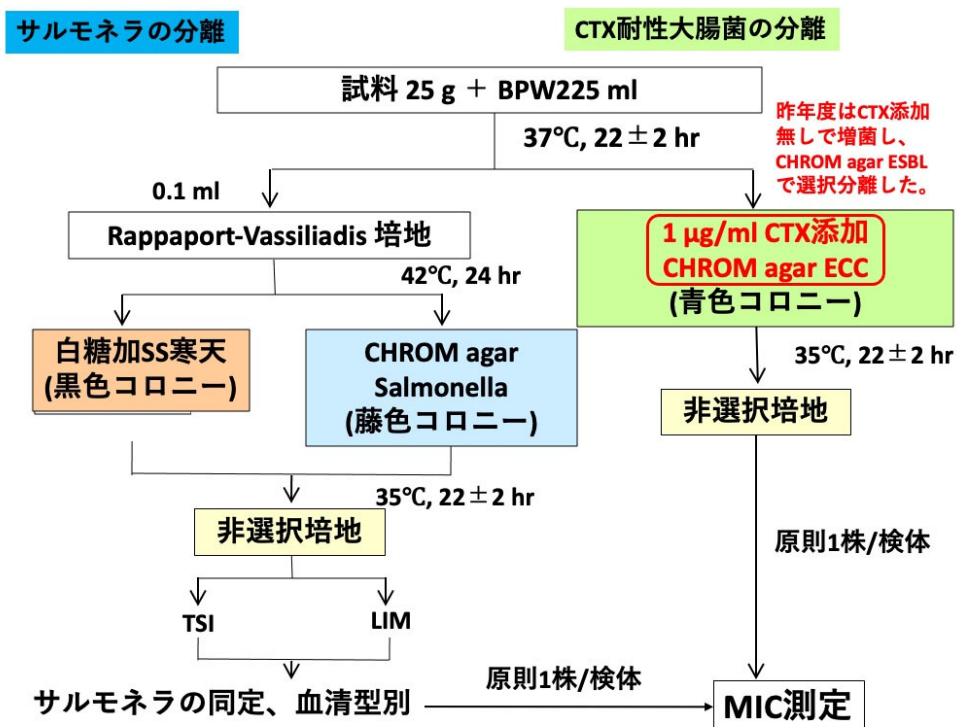


図1：サルモネラ・CTX耐性大腸菌の分離フロー

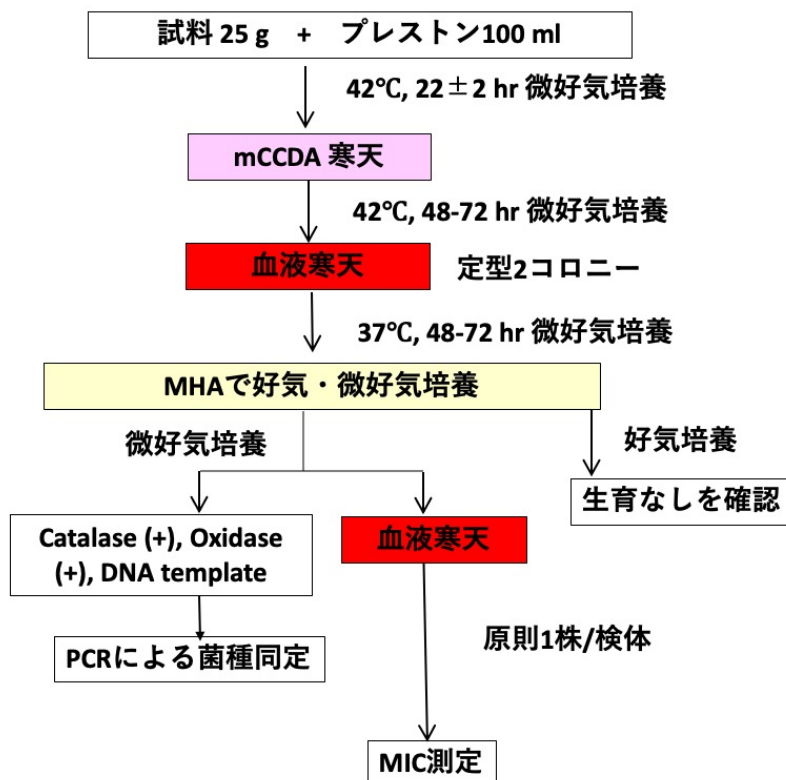
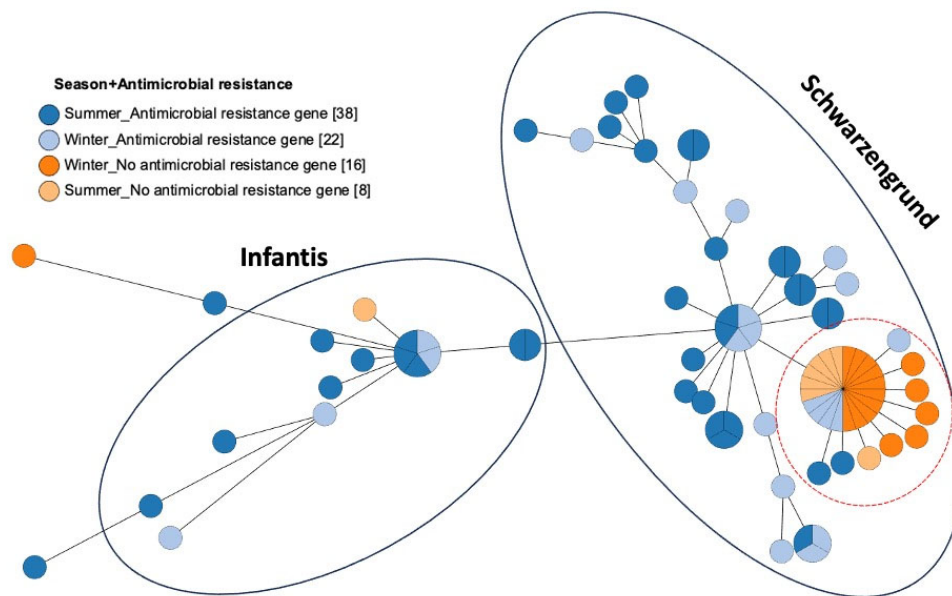
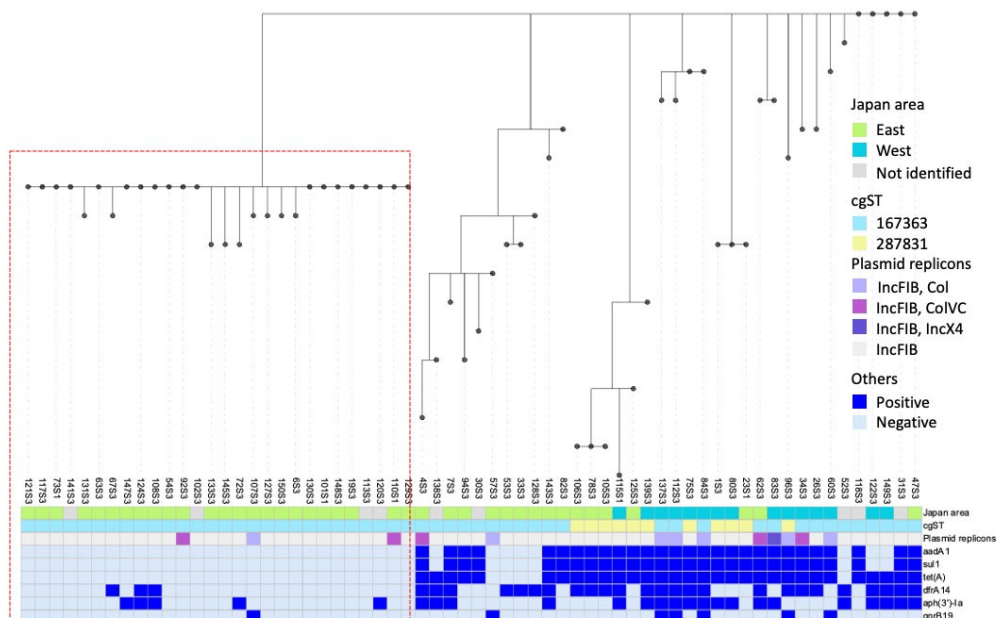


図2：カンピロバクターの分離フロー



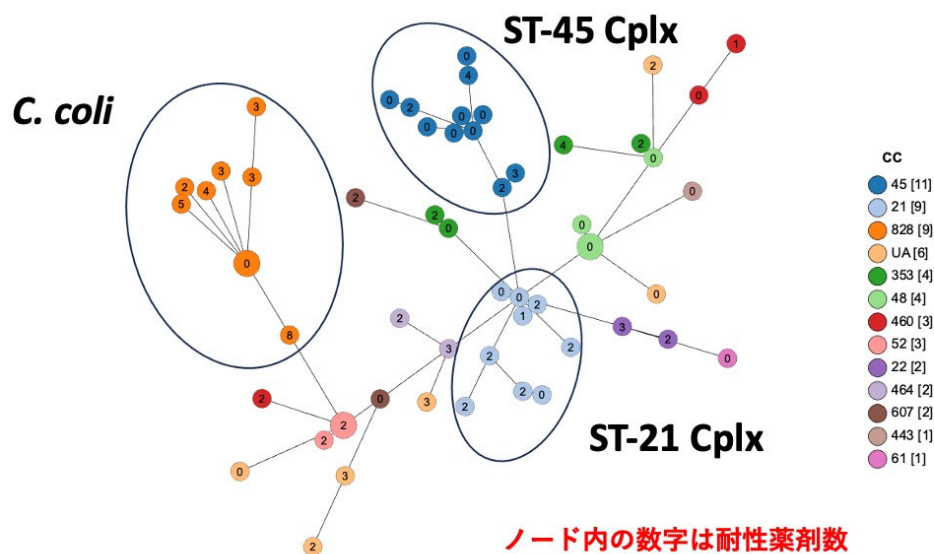
薬剤耐性遺伝子をもたないSchwarzengrundはクラスターを形成している。

図3：市販国産鶏肉由来サルモネラ分離株のcgMLST解析



薬剤耐性遺伝子を持たない株のクラスターは東日本産鶏肉由来であった。

図4：鶏肉由来Schwarzengrundの薬剤耐性遺伝子保有状況



- 他の報告と同様に、ST-45 Cplxが多く分離された。
- ヒトから高頻度で分離されるST-21 Cplxも多く分離された。
- *C. coli*は耐性薬剤数が多い。

図5：鶏肉由来カンピロバクターのcgMLST解析

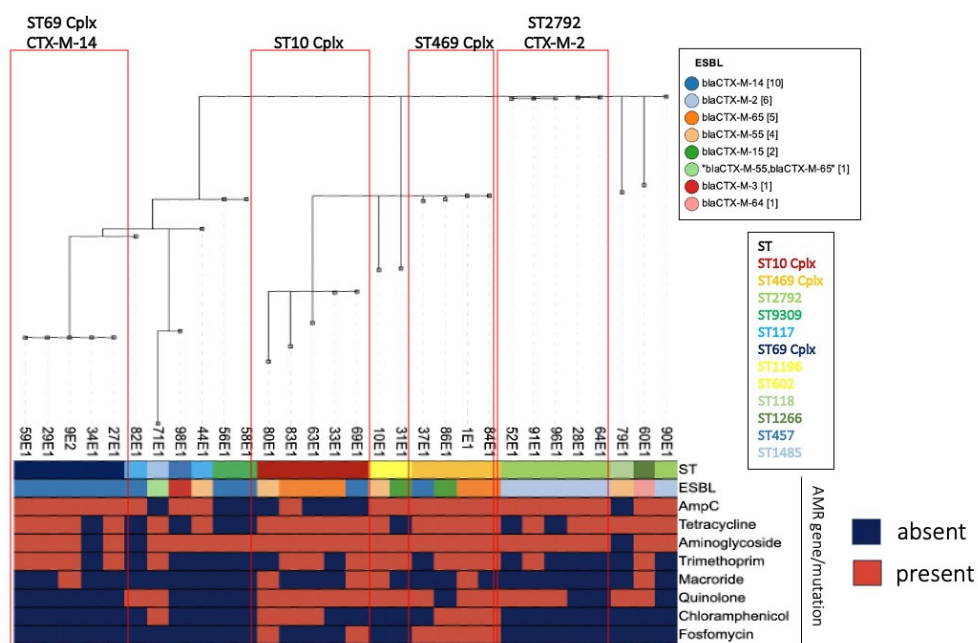


図6：鶏肉由来CTX耐性大腸菌のESBL遺伝子・薬剤耐性遺伝子保有状況