

厚生労働科学研究費補助金補助金（食品の安全確保推進研究事業）  
分担研究報告書

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（21KA1004）

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 東邦大学医学部微生物・感染症学講座・教授

### 研究要旨

患者、家畜、および食品等に由来する薬剤耐性菌の遺伝的関連性は、それらの拡散制御対策を策定する上で重要な情報である。我々のグループでは、2021年11月から2022年1月にかけて全国の患者由来および国内の30の養豚場で飼育された豚に由来するメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)をそれぞれ51株および80株を分離・収集した。また、同時期に国内26養鶏場から出荷され、食鳥処理場で加工・包装されて市販鶏肉のうち、11の養鶏場の鶏肉から第三世代セファロスポリン系薬耐性大腸菌32株および肺炎桿菌1株を分離した。これらについて、薬剤感受性検査を行った。今後、国立感染症研究所薬剤耐性研究センターにおいてドラフト全ゲノム解読を行い、分子疫学的に菌株間の関連性、および薬剤耐性遺伝子等の解析を予定している。

#### A. 研究目的

ヒトおよび豚耳からはMRSAを、鶏肉からは第三世代セファロスポリン系薬耐性株を分離・収集し、分離頻度、薬剤感受性および全ゲノム解析結果に基づいて、ヒト由来耐性株との遺伝的関連性を明らかにする。

#### B. 研究方法

大きく以下の2つの方法により本研究を実施した。なお、菌株の分離時期は2021年11月から2022年1月である。

[1] 本邦の養豚場で飼育されたブタのと畜場において1農場につき5頭分の耳介を採取して検体とした。30の養豚場から150頭の耳介を収集した。6.5% NaClを添加したMueller-Hinton broth(ベクトン・ディッキンソン)で増菌培養後、MRSA分離培地II(栄研化学)によ

りMRSAを選択的に培養した。また、患者に由来するMRSAは株式会社エスアールエルから分与を受けた。

[2] 国内の26の養鶏場から出荷され、食鳥処理場で加工・包装された市販鶏肉合わせて246検体(養鶏場の重複あり)を第三世代セファロスポリン系薬耐性株の分離に供試した。鳥皮部を緩衝ペプトン水を用いて増菌培養後、100 $\mu$ LをC3G®培地(CHROMagar)に塗布し、培養した。発育が確認された大腸菌あるいは肺炎桿菌様コロニーを純培養し、以降の検討に供した。

薬剤感受性検査は、MRSA用および第三世代セファロスポリン系薬耐性株用にそれぞれ特注したフローズプレート(栄研化学)による微量液体希釈法により行った。

(倫理面への配慮)

人を対象とする医学系研究に関する倫理指針および病原体等安全管理規程を遵守して本研究を行った。

### C. 研究結果

30 農場中 21 農場 (70%) で飼育されたブタの耳介から MRSA が分離された。全 150 検体のうち、80 検体から MRSA が分離され、分離検体数は 1~5 検体とばらつきがあった。耐性率が高かった抗菌薬は順に、クリンダマイシンが 76 株 (95.0%)、テトラサイクリンが 70 株 (87.5%)、エリスロマイシンが 47 株 (58.8%) だった。バンコマイシン、テイコプラニン、およびリネゾリドに耐性を示す菌株は確認されなかった。アルベカシンおよびダプトマイシンに低感受性を示す菌株がそれぞれ 11 株および 1 株確認されたため、薬剤感受性検査の再検ならびに薬剤耐性メカニズムの解析を予定している。なお、外来患者の皮膚由来 MRSA は 51 株収集された。ブタ由来 MRSA とは対称的に、クリンダマイシン耐性は 7 株 (13.7%)、テトラサイクリン耐性は 7 株 (13.7%) と低く、一方でエリスロマイシン耐性は 40 株 (78.4%) とブタ由来株よりも高かった。

26 の養鶏場で飼育され食鳥処理場で加工・包装された鶏肉のうち、11 の養鶏場で第三世代セファロsporin系薬耐性株が分離された。異なる日にちに購入した鶏肉につき 1 株を代表株とすると、第三世代セファロsporin系薬耐性大腸菌は 32 株分離され、その内訳は基質特異性拡張型  $\beta$ -lactamase (ESBL) 産生株が 23 株、AmpC 産生株が 9 株だった。カルバペネム系薬に耐性を示す株は分離されなかったが、メロペネムの MIC 値が 0.25 mg/L の ESBL 産生株 1 株と同 0.5 mg/L の AmpC 産生株 1 株が認められた。第三世代セファロsporin系薬耐性肺炎桿菌は 1 株で典型的な ESBL 産生菌の薬剤感受性パターンを示した。ESBL 産生大腸菌 23 株のうち 22 株が

カナマイシン、15 株がテトラサイクリンにそれぞれ耐性を示した (AmpC 産生大腸菌についてはそれらの感受性検査は実施していない)。

### D. 考察

7 割の養豚場のブタから MRSA が分離されたことは、これまでの調査結果と比較しても高頻度であった。これまでの調査はスワブ検体を材料とする場合が多く、本研究では増菌培養を行ったため、高感度であった可能性がある。また、と畜場でのクロスコンタミネーションは否定できないことから、検出頻度の結果は解釈に注意が必要である。豚由来 MRSA はクリンダマイシンおよびテトラサイクリンに耐性を示す菌株が多く検出され、家畜関連 MRSA (LA-MRSA) の割合が高いと考えられた。また、ヒト由来 MRSA のうち 13.7%で同薬剤に耐性であったことから、それらの菌株間の関連性の解明が重要になる。

ESBL 産生大腸菌においてカナマイシンおよびテトラサイクリンの耐性率が高かったことは、種鶏場および孵化場において感染症予防目的で投与されているそれらの抗菌薬によって ESBL 産生大腸菌が選択されている可能性が示唆される。今後、ESBL をコードする遺伝子のみならず、カナマイシンあるいはテトラサイクリン耐性遺伝子を媒介する可動性遺伝因子に着目して解析を進める必要がある。

### E. 結論

7 割の養豚場のブタから MRSA が分離された。今後、ヒト分離株との関連性を分子疫学的に検討する必要がある。第三世代セファロsporin系薬耐性大腸菌は、当該抗菌薬以外による選択圧がそれらの分離頻度を上昇させている可能性がある。

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

なし

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