

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）
「食品由来細菌の薬剤耐性サーベイランスの強化と国際対応に関する研究」
平成 26 年度分担研究報告書

分担課題名：JANIS と JVARM の連携

分担研究者	柴山恵吾	国立感染症研究所	細菌第二部
研究協力者	鈴木里和	国立感染症研究所	細菌第二部
研究協力者	川西路子	動物医薬品検査所	検査第二部
研究協力者	比企基高	動物医薬品検査所	検査第二部

研究要旨

わが国における薬剤耐性菌のモニタリング/サーベイランスシステムである農林水産省の食品媒介性病原体細菌の薬剤耐性モニタリング事業（JVARM）において蓄積されたデータを、厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）事業のデータと比較可能な形式でデータベース化したうえで再集計を行った。JVARM と JANIS では薬剤感受性を測定している抗菌薬の種類が異なるため、同系統の抗菌薬で代替したうえで、2003 年から 2013 年までの薬剤耐性率の推移を比較した。JANIS データでみられる大腸菌のセファロスポリン、フルオロキノロンの顕著な耐性化は JVARM データでは認められなかった。テトラサイクリン系やクロラムフェニコールについては肉用鶏や豚で、過去 10 年間継続的に JANIS データよりも高い耐性率を示していたが、JANIS データ、JVARM データともに耐性率の明らかな上昇または低下の傾向は認められなかった。今後継続的に JANIS データと JVARM データを比較するにあたっては、薬剤感受性を測定する抗菌薬の共有が重要と考えられた。

A．研究目的

我が国では、農林水産省が食品媒介性病原体細菌の薬剤耐性モニタリング事業（JVARM）を 1999 年より開始している。一方、臨床分離株の薬剤耐性の調査として厚生労働省院内感染対策サーベイランス（JANIS）事業が 2000 年より開始されている。現在、これらの結果は独立した形で公表されているため、直接の比較を実施しにくい。そこで、昨年度、JANIS 事業のシステムを JVARM にも適用し、JANIS - JVARM のデータを経時的に比較可能とする体制を整備した。今年度は、JVARM の実データを昨年度構築したデータベースに取り込み、現在 JANIS 事業で実施している集計方法に準じて再集計することで、JANIS と JVARM、それぞれの薬剤耐性率を直接比較した。

B．研究方法

1. JVARM データの格納

肉用牛、豚、肉用鶏、採卵鶏由来大腸菌 2003 年～2013 年分の JVARM データをエク

セル形式で受理し、昨年度構築した JVARM データベースに格納した。

2. 主要抗菌薬における薬剤耐性の比較

JVARM と JANIS における薬剤耐性率の年次推移を比較した。JVARM データについては測定された MIC 値から CLSI2007 のブレイクポイントを用いて感性（S）、中等度耐性（I）、耐性（R）を判定した。CLSI2007 の基準がない抗菌薬については、同じく CLSI が定めている動物用抗菌薬の基準である M31-A3/VET01-S2 を用いた。また JVARM では 2010 年以降、測定抗菌薬が一部変更されたため、同系統の抗菌薬を用いて年次推移とした。具体的には、セフトオフルからセフトキシム（広域セファロスポリン）とエンロフロキサシンとシプロフロキサシン（フルオロキノロン）である。

JANIS の 2007 年以降の薬剤耐性率は検査部門公開情報年報の薬剤耐性率を使用した。検査部門年報は CLSI2007 のブレイクポイントを用いて SIR を判定している。一方、2006 年以前の公開情報年報は参加

医療機関が報告した SIR に基づいて集計されており、医療機関によっては中等度耐性以上 (I or R) の形式で報告している場合もあるため、本研究における耐性を R と I or R と定義した。また、JANIS 公開情報では集計されていない抗菌薬については、2013 年の耐性率のみ、2013 年 1 月から 2013 年 9 月の JANIS データより医療機関が報告した SIR を抽出して集計した。

JANIS と JARM で共通した抗菌薬が無い場合は、同系統の抗菌薬を比較した。フルオロキノロン系について、JANIS ではレボフロキサシンの耐性率を示し、一方、JARM ではエンロフロキサシンとシプロフロキサシンを示した。JARM でのテトラサイクリンについては JANIS のミノサイクリンのデータを用いた。

表 1、表 2 に JANIS と JARM において測定されている抗菌薬および SIR 判定基準を示す。

C. 結果

1. JARM データ概要

肉用牛、豚、肉用鶏、採卵鶏由来大腸菌、計 6798 株のデータがデータベースに格納された。畜種の内訳は、肉用牛が最も多く 34%をしめ、その他の畜種はいずれも 22%であった。年別、畜種別の株数を図 1 に示す。畜種の割合は期間を通じて変化はなかったが、菌株数は 2008 年以降増加していた。2003-2007 年については毎年各畜種 100 株前後であったが、2008 年以降は 200 株前後となっている。

2. 主要抗菌薬における薬剤耐性の比較

図 2～図 7 に JANIS と JARM データに基づく、大腸菌おける各抗菌薬に対する耐性率の推移を示す。

図 2～図 4 は、β-ラクタム剤に対する耐性率の推移である。図 2 のアンピシリンはペニシリン系抗菌薬であり、JANIS では 2013 年の耐性率が約 50%であるが、2003 年は約 30%であり、過去 10 年間で明らかな増加傾向が認められた。一方肉用鶏由来株は 2013 年の耐性率が約 50%と JANIS 同様高い耐性率を示しているが、10 年前からすでに 40%を超える耐性率を示しており、過去 10 年間にわたり高い耐性率を維持していたと思われる。図 3 と図 4 はそれ

ぞれ、一般的には第 1 世代と第 3 世代と呼ばれるセファロスポリン系抗菌薬である、セファゾリンとセフトリオキサシムの耐性率を示す。JANIS ではいずれの抗菌薬も過去 10 年間に著明かつ継続的な耐性率の上昇を認めた。一方、肉用鶏由来株のセファゾリン耐性は、2011 までは 20%前後であったが、2012 年に急落し、2013 年は約 5%まで低下している。同じく肉用鶏のセフトリオキサシム耐性も、同様の傾向を示しているが、2009 年まではセフトリオキサシムで測定されており、測定抗菌薬の切り替えと同じ 2010 年に耐性率が急落している。実際の耐性率の低下よりも抗菌薬の切り替えを反映していると考えられた。

図 5 はフルオロキノロン耐性率の推移である。JANIS ではセファロスポリン系同様、過去 10 年間に耐性率が顕著に上昇しており、2003 年には約 10%であった耐性率が 2013 年には 30%を超えている。一方、JARM データではいずれの畜種においても過去 10 年間にこのような耐性率の増加傾向は認めない。

図 6 はクロラムフェニコール耐性率の推移である。ヒト臨床では現在クロラムフェニコールの使用は限定的であり、薬剤感受性試験実施数は少なく、2007 年以降は公開情報での集計はしていない。ただ、JANIS データベース上での 2013 年の耐性率は約 5%であり、10 年間ほぼ変化ないと思われる。JARM では、豚由来株での耐性率が 15-25%と高く、過去 10 年間同様の耐性率で推移していた。

図 7 はテトラサイクリン/ミノサイクリンの耐性率である。JARM、JANIS 共に 10 年間継続したデータは得られていないが、ヒトでのミノサイクリン耐性率は 10%以下であるのに対し、豚、肉用鶏由来株のテトラサイクリン耐性率は 50%を超えていた。牛、採卵鶏由来株も 20-30%のテトラサイクリン耐性率であった。

D. 考察

近年問題となっている大腸菌のセファロスポリン、フルオロキノロン系抗菌薬に対する継続的かつ著明な耐性化は、JANIS ヒト臨床分離株では明確に認められたが、

JVARM のいずれの畜種由来株においても認められなかった。肉用鶏において 2000 年代後半にセファロスポリン系抗菌薬耐性が進行していたが、その後 2010 年代に入り、著明に低下していた。また、 β -ラクタム剤やフルオロキノロン系抗菌薬など、現在ヒトの臨床分野での使用頻度が高い抗菌薬については、JANIS ヒト臨床分離株の耐性率が JVARM の動物由来株よりも高かった。一方、クロラムフェニコールやテトラサイクリン系など、以前はヒト臨床においても使用されていたが、現在は使用頻度が低いと思われる抗菌薬については、JVARM の動物由来株の耐性率が高い傾向が見られた。

家畜の薬剤耐性菌が食品を介してヒトに広まっていったと仮定した場合、家畜由来株での耐性率が先行し、そのあとをヒト臨床分離株の耐性率が追う形での相関がみられることが想定される。しかし、今回の研究において、そのような相関を認めた抗菌薬耐性は無かった。もう一つの可能性は、家畜由来株の薬剤耐性菌がなんらかの契機にヒト臨床株に入り込み、ヒトでのみ急速に広まった可能性である。これについては、耐性遺伝子の種類など、分子疫学的アプローチが必要になる。

ヒト臨床株におけるセファロスポリン系抗菌薬の耐性は、これまでの研究により CTX-M 型基質拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌の蔓延によるものであると考えられている。さらに、フルオロキノロンに耐性を示す CTX-M 型 ESBL 産生大腸菌 O25-ST131 という特定のクローンが世界的に流行し、大腸菌の多剤耐性化に寄与していることも知られている。一方、JVARM の肉用鶏における耐性率の増加と減少については、鶏プロイラーにおけるセフトオフルの適用外使用と 2012 年以降のその自主的規制の影響が考えられた。さらに、家畜由来株ではヒト臨床株に比較し、CTX-M 型 ESBL 産生菌の割合が低く、AmpC β -ラクタマーゼ産生菌の割合が多いことが知られている。さらに、フルオロキノロン耐性が JVARM データでは増加していないことは、大腸菌 O25-ST131 が家畜由来大腸菌においてはヒト臨床株に比べ少ないことを示唆する。ヒト臨床株と家畜由来株では

耐性機序が異なる可能性があり、これは JANIS や JVARM で現在集計している耐性率のみでは把握できない。今後は、家畜由来株とヒト臨床株の耐性菌の相関関係を検討するうえでは、同時期に分離された大腸菌の耐性遺伝子や分離株のタイピング解析を行うことが必要と思われる。

本研究において、薬剤耐性率の比較を行う上で最も問題となったのは、JANIS と JVARM における測定抗菌薬の違いであった。JANIS データは医療機関で測定されている薬剤感受性データを収集している。医療機関において感受性試験が実施される抗菌薬は、臨床的な必要性により決まるため、研究目的での追加が不可能である。特に動物用抗菌薬の薬剤感受性試験については今後も比較不可能である。一方、JVARM では実際に菌株を収集し、研究目的で薬剤感受性試験を実施しているため、追加等が可能である。今後は、比較対象とする抗菌薬を事前に調整する事により、より有用性の高い比較結果が得られると思われる。

家畜の薬剤耐性菌とヒト臨床株の薬剤耐性菌の相関を検討するうえでは、クロラムフェニコールやテトラサイクリンなど、過去 10 年にわたって、その耐性率が両者で大きな変化が見られない場合は、評価が難しい。その点では、大腸菌のセファロスポリン耐性やフルオロキノロン耐性は過去 10 年間でヒト臨床株の耐性率の上昇が顕著であり、解析対象としては得られる知見が多いと思われる。さらに、カルバペネム耐性大腸菌については、現在家畜由来株、ヒト臨床分離株ともに耐性率が極めて低いものの、ヒト臨床株において増加している可能性があり、その臨床的な重要性からも今後両者で注視していく必要がある。

E．結論

10 年間のみでの比較では、動物由来株とヒト臨床分離株との耐性率推移に明らかな相関は認めなかった。

F．健康危害情報

なし

G．研究発表

なし

H．知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)

表1 JANIS JVARM において薬剤感受性試験を実施、もしくは集計している抗菌薬

JVARM 測定抗菌薬		JVARM		JANIS		JANIS 345,381 株の E. coli のうち MIC 測定株割合
		2003-2009	2010-2013	2003-2006	2007-	
1216	ABPC (アンピシリン)					64.19%
1537	CEZ (セファゾリン)					67.44%
1636	CTX (セフトキシム)					54.50%
1801	KM (カナマイシン)			×	×	0.07%
1821	GM (ゲンタマイシン)					64.16%
2101	TC (テトラサイクリン)			×	×	0% (MINO66.99%)
2201	CP (クロラムフェニコール)					5.28%
2401	NA (ナリジクス酸)			-	-	ND
2521	CPFX (シプロフロキサシン)					33.05% (LVFX65.52%)
2726	ST (スルファメトキサゾール/トリメトプリム)					54.36%
A002	BCM (ピコザマイシン)			×	×	
A003	CTF (セフチオフル)			×	×	
A005	DSM (ジヒドロストレプトマイシン)			×	×	
A006	ERFX (エンロフロキサシン)			×	×	
A008	TMP (トリメトプリム)			×	×	

表2 SIR 判定基準

抗菌薬コード		CLSI2007		M31-A3/VET01-S2		CLSI2012	
		S 基準	R 基準	S 基準	R 基準	S 基準	R 基準
1216	ABPC (アンピシリン)	8	32				
1537	CEZ (セファゾリン)	8	32			2	8
1636	CTX (セフトキシム)	8	64			1	4
1801	KM (カナマイシン)	16	64				
1821	GM (ゲンタマイシン)	4	16				
2101	TC (テトラサイクリン)	4	16				
2201	CP (クロラムフェニコール)	8	32				
2401	NA (ナリジクス酸)	16	32				
2521	CPFX (シプロフロキサシン)	1	4				
2726	ST (スルファメトキサゾール/トリメトプリム)	2/38	8/152			2/38	4/76
A002	BCM (ピコザマイシン)						
A003	CTF (セフチオフル)			2	8		
A005	DSM (ジヒドロストレプトマイシン)						
A006	ERFX (エンロフロキサシン)			0.25	2		
A008	TMP (トリメトプリム)	4	16	8	16	8	16

図1 JVARM集計データ・年別・畜種別、2003-2013

N=6798

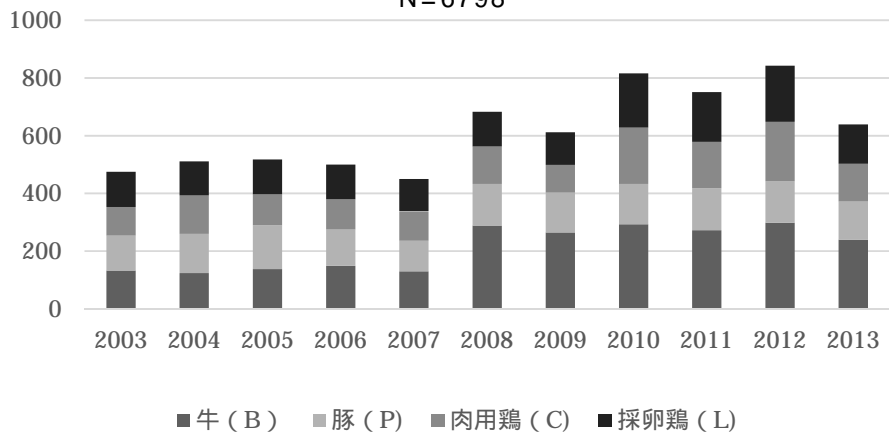


図2 大腸菌におけるアンピシリン(ABPC)耐性菌割合

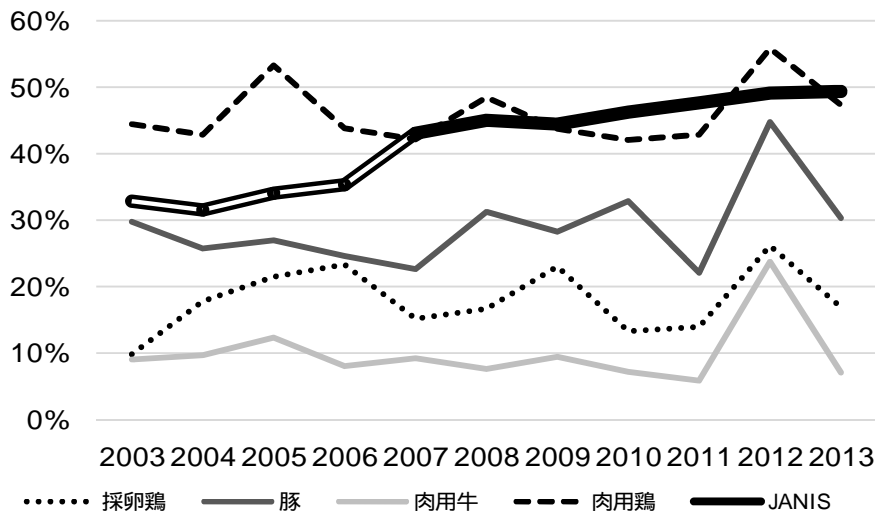


図3 大腸菌におけるセファゾリン (CEZ)耐性菌割合

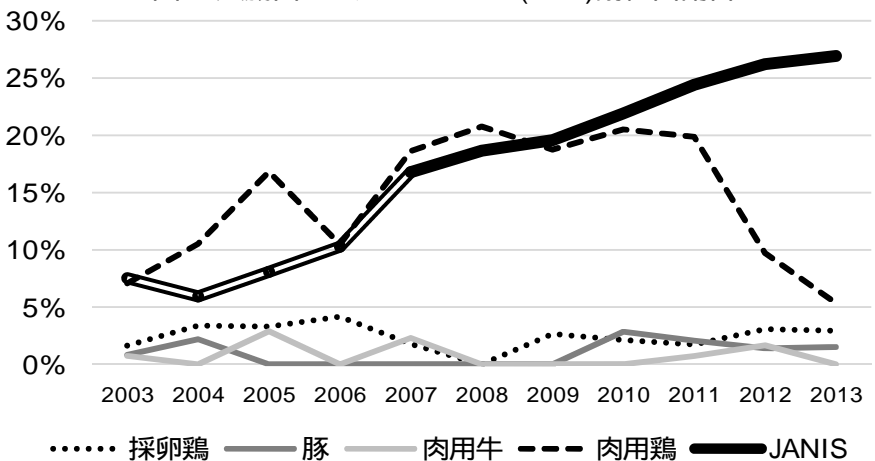


図4 大腸菌におけるセフチオフル（CTF）/セフトキシム（CTX）耐性菌割合

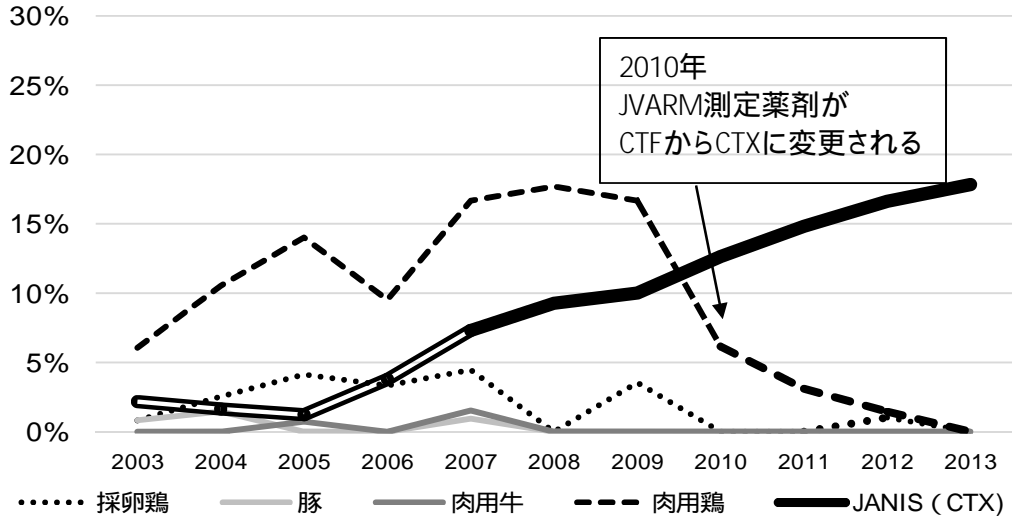


図5 大腸菌におけるエンロフロキサシン（ERFX）/シプロフロキサシン（CPFX）レボフロキサシン（LVFX）耐性菌割合

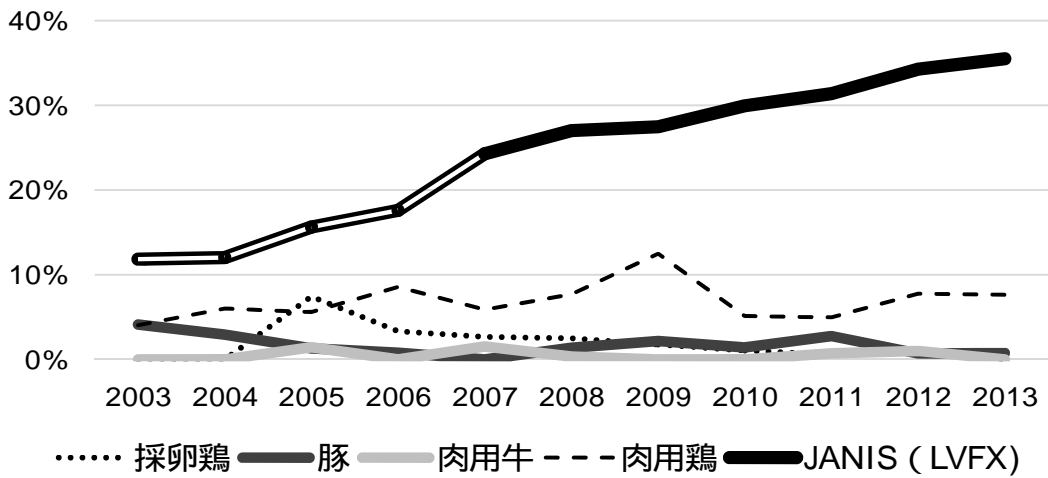


図6 大腸菌におけるクロラムフェニコール（CP）耐性菌割合

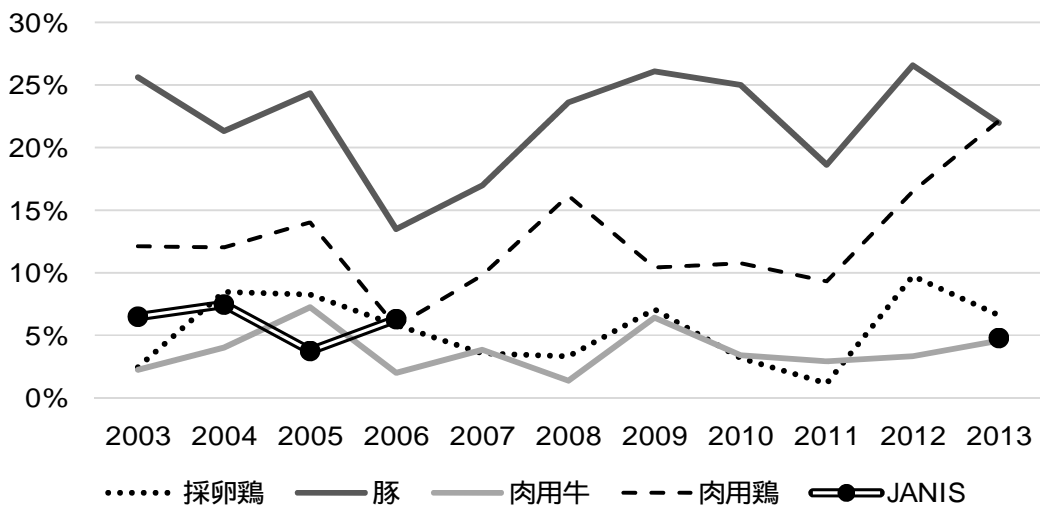


図7 大腸菌におけるテトラサイクリン (TC) /ミノサイクリン (MINO)
耐性菌割合

