

資料

広島県内で分離された腸炎由来カンピロバクターの薬剤耐性

竹田 義弘, 桑山 勝, 大原 祥子, 妹尾 正登

Drug-Resistance of *Campylobacter* spp. Strains Isolated from Sporadic Patients with Enteritis in Hiroshima Prefecture

YOSHIHIRO TAKEDA, MASARU KUWAYAMA, SACHIKO OOHARA and MASATO SENO

(Received Oct. 24, 2008)

2007年4月から2008年6月に、県内3ヶ所の医療・検査機関で分離された腸炎由来カンピロバクター553株のナリジク酸 (NA), ノルフロキサシン (NFLX), オフロキサシン (OFLX) およびホスホマイシン (FOM) の薬剤耐性について検討した。その結果、供試菌株の56.2%に薬剤耐性が認められた。薬剤別では、キノロン系薬剤のNA, NFLX および OFLX の3剤には、それぞれ46.3%が耐性を示し、いずれも3剤すべてに耐性であった。FOMには19.2%が耐性を示し、キノロン系薬剤ほどの高耐性化は認められなかったが、中間も12.5%に認められ、やや高耐性化の傾向がみられた。薬剤耐性株の耐性パターンは3種類に分類され、そのうちNA・NFLX・OFLX 3剤耐性型(65.9%)が最も多かった。次いでFOM単剤耐性型(17.7%), NA・NFLX・OFLX・FOM 4剤耐性型(16.4%)の順であった。供試菌株の一部に実施したエリスロマイシン (EM) に対する薬剤感受性試験では、耐性株は4.0%のみで、他の薬剤と比べて耐性率は低かった。

キーワード：カンピロバクター, 薬剤耐性, キノロン系薬剤, ホスホマイシン

緒言

近年、わが国の細菌性食中毒は、全体として減少傾向にある。特にサルモネラ属菌と腸炎ビブリオによる食中毒が大きく減少している[1]。これに対してカンピロバクターによる食中毒は減少がみられず[1]、県内においても多くの散発下痢症患者が発生している[2]。

感染性腸炎の抗菌薬による治療では、ニューキノロン系薬剤やホスホマイシン (FOM) などが汎用されているが、近年カンピロバクターのニューキノロン剤耐性株の増加が世界的な問題となっている[3-6]。そのため、わが国においても地研のレファレンスグループによる全国的なキノロン剤耐性菌の動向調査が行われている[7-8]。しかし、FOMに対する耐性株の出現状況については、詳細な報告があまりみられない。そのため今回、県内の腸炎患者から分離されたカンピロバクターのキノロン系薬剤およびFOMに対する薬剤耐性の現状について検討した。更に一部の菌株については、カンピロバクター下痢症治療の第一選択薬であるエリスロマイシン (EM) の薬剤耐性についても検討を加えたので報告する。

材料および方法

1. 供試菌株

2007年4月から2008年6月に、県内3地区(広島, 尾三, 備北), 3ヶ所の医療・検査機関で分離された腸炎由来のカンピロバクター553株(1患者1菌株)を供試した。

2. 菌種の同定

供試菌株はCCDA培地(OXOID)に塗抹して再分離し、血液寒天培地で純培養した後、定法[9]に従って同定した。*C. jejuni/coli*の鑑別は、馬尿酸塩加水分解試験で行った。濃い青紫色を呈したものを*C. jejuni*とし、無色のものを*C. coli*とした。また、呈色反応の弱いものはLintonら[10]のPCR法によって*C. jejuni/coli*の鑑別を行った。

3. 血清型別

*C. jejuni*は、カンピロバクター免疫血清(デンカ生研)を用いてPennerの血清型別試験を行った。

4. 薬剤感受性試験

血液寒天培地で純培養した菌株を、ブレインハートインフュージョンブイヨン(BD)で菌液調整した。そ

の菌液を5%馬血液加ミューラーヒントン寒天培地(OXOID)に塗抹後、センシ・ディスク(BD)を置き、42℃で48時間好気培養して阻止円径を測定した。薬剤感受性試験には、ナリジクス酸(NA)、ノルフロキサシン(NFLX)、オフロキサシン(OFLX)およびFOMの4薬剤を用いた。また、供試菌株のうち50株についてはEMの薬剤感受性試験も実施した。

結 果

1. 患者の年齢構成

カンピロバクターが分離された患者の年齢構成を図1に示した。患者は0~9歳が最も多く、全体の31.3%(173人)を占めた。次いで10~19歳(117人)、20~29歳(101人)が多く、30歳未満が全体の70.7%を占めた。性別では男性が334人、女性が212人、不明が7人と男性が女性よりも1.6倍多かった。

2. 供試菌株の菌種

供試菌株は*C. jejuni*が全体の94.8%(553株中524株)を占め、*C. coli*(29株)は少なかった。

3. 薬剤感受性試験

1) 薬剤耐性

供試菌株の56.2%(553株中311株)に薬剤耐性が認められた。その薬剤別感受性を表1に示した。NA、NFLXおよびOFLXの3剤には、それぞれ46.3%が耐性を示し、いずれも3剤すべてに耐性であった。FOMには19.2%が耐性を示し、中間も12.5%(69株)に認められた。EMには4.0%(50株中2株)が耐性を示した。

2) 薬剤耐性パターン

薬剤耐性株の耐性パターンを表2に示した。耐性パ

ターンは3種類に分類され、そのうちNA・NFLX・OFLX 3剤耐性型が最も多く65.9%を占めた。次いでFOM単剤耐性型の17.7%、NA・NFLX・OFLX・FOM 4剤耐性型の16.4%の順であった。

3) 菌種別薬剤耐性

菌種別では、*C. jejuni*の耐性率は56.7%(524株中297株)、*C. coli*の耐性率は48.3%(29株中14株)と*C. jejuni*の耐性率が若干高かった。

4) *C. jejuni*の血清型別薬剤耐性

*C. jejuni*の血清型別薬剤耐性を表3に示した。血清型は、型別不能を除いて17種類に分類され、そのうちB群(94株)が最も多かった。次いでD群(53株)、Y群(51株)、C群(47株)が多く、この4種類の血清型で全体の46.8%を占めた。これら分離頻度の高い血清型のうち、薬剤耐性率が最も高かったのはY群で90.2%が耐性を示した。次いでB群の78.7%、D群の45.3%、C群の36.2%の順であった。これら4種類の血清型と*C. coli*の耐性パターンを表4に示した。そのうちB群およびY群はNA・NFLX・OFLX 3剤耐性型(78.3~79.7%)が多く、FOM単剤耐性型(0~9.5%)は少なかった。一方、C群はFOM単剤耐性型(58.8%)が多かった。D群はNA・NFLX・OFLX 3剤耐性型およびFOM単剤耐性型が多かった。*C. coli*はNA・NFLX・OFLX 3

表1 腸炎由来カンピロバクターの薬剤別感受性

薬剤名	株数	感受性	中間	耐性 (%)
NA	553	297		256 (46.3)
NFLX	553	297		256 (46.3)
OFLX	553	297		256 (46.3)
FOM	553	378	69	106 (19.2)
EM	50	43	5	2 (4.0)

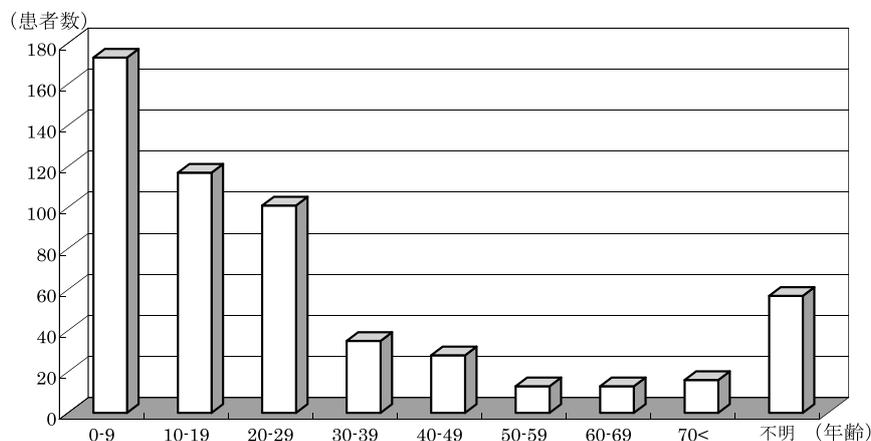


図1 カンピロバクター腸炎患者の年齢構成

表2 腸炎由来カンピロバクターの薬剤耐性パターン

耐性パターン	株数 (%)
FOM	55 (17.7)
NA・NFLX・OFLX	205 (65.9)
NA・NFLX・OFLX・FOM	51 (16.4)
合計	311 (100)

表3 腸炎由来 *C. jejuni* の血清型および薬剤耐性

血清型	株数	耐性株数 (%)	血清型	株数	耐性株数 (%)
A 群	6	1 (16.7)	K 群	3	2 (66.7)
B 群	94	74 (78.7)	L 群	6	4 (66.7)
C 群	47	17 (36.2)	N 群	3	2 (66.7)
D 群	53	24 (45.3)	O 群	15	6 (40.0)
E 群	2	1 (50.0)	R 群	11	3 (27.3)
F 群	22	8 (36.4)	S 群	1	1 (100)
G 群	10	6 (60.0)	U 群	2	0
I 群	1	1 (100)	Y 群	51	46 (90.2)
J 群	27	12 (44.4)	UT *	170	89 (52.7)
			合計	524	297 (56.7)

* UT : 型別不能

表4 分離頻度の高い *C. jejuni* の血清型と *C. coli* の薬剤耐性パターン

耐性パターン	<i>C. jejuni</i>				<i>C. coli</i>
	B 群	C 群	D 群	Y 群	
FOM	7 (9.5) *	10 (58.8)	10 (41.7)	0	0
NA・NFLX・OFLX	59 (79.7)	5 (29.4)	10 (41.7)	36 (78.3)	11 (78.6)
NA・NFLX・OFLX・FOM	8 (10.8)	2 (11.8)	4 (16.7)	10 (21.7)	3 (21.4)
合計	74 (100)	17 (100)	24 (100)	46 (100)	14 (100)

* (%)

剤耐性型 (78.6%) が多く, FOM 単剤耐性型は認められなかった。

考 察

感染性腸炎は自然治癒傾向を持っているため, 対症療法のみで回復し抗菌薬療法を要しないことも多い。しかし, 患者の症状, 年齢, 患者背景などによっては, 病原体が特定されない初期治療から抗菌薬が投与されることもある。小児のカンピロバクター腸炎では下痢, 発熱, 血便, 腹痛, 嘔吐などの症状がみられ[11], 症状が類似したサルモネラ属菌や腸管出血性大腸菌なども考慮して FOM などの抗菌薬が投与されることもある。

カンピロバクターは, 菌分離ができるようになり, 腸炎起因菌としての重要性が明らかにされて約 30 年を経過するが[12], 近年, カンピロバクター感染症は, わが国だけでなく, アメリカやイギリスなどにおいても増加

傾向が認められている [13]。また, カンピロバクターのニューキノロン系薬剤に対する耐性株の増加も世界的に問題になっている。

国内のキノロン系薬剤に対する耐性株の出現状況については, カンピロバクター・レファレンスセンターの報告によると, NA およびニューキノロン系薬剤 (NFLX, OFLX, CFX) に対する年次別耐性率は 30 ~ 40% で推移し, やや増加傾向が認められている。また, 単剤よりもこれら 4 剤すべてに耐性を示す割合が高いことが指摘されている [7, 8]。

今回の調査では, 供試菌株の 56.2% に薬剤耐性が認められ, 県内の患者由来株も高耐性化の傾向にあることが判明した。

薬剤別では, NA およびニューキノロン系薬剤の NFLX, OFLX には 46.3% が耐性を示し, いずれも 3 剤すべてに耐性であったことから, 県内に分布するカンピロバクターのキノロン系薬剤に対する多剤耐性化とカン

ピロバクター腸炎のキノロン系薬剤による治療効果が低下していることが強く示唆された。

FOMには19.2%が耐性を示し、キノロン系薬剤ほどの高い耐性率は認められなかったが、中間も12.5%に認められ、やや高耐性化の傾向がみられた。FOMの感受性については、川村ら[14]は、患者便からの分離株はすべて耐性であったと報告しており、感受性株を認めていない。一方、下野ら[15]は、耐性株を認めておらず、FOMの耐性率には大きな差がみられている。これは地域差によるものか不明であり、今後の詳細な調査が必要と思われる。また、豚から分離された*C. jejuni*にFOM耐性株が認められた報告もあり[16]、こうした家畜に汚染された食肉による感染も危惧される。

*C. jejuni*の血清型は17種類に分類され、そのうちB群、D群、Y群およびC群の4種類が多く、既報[2]と同様に今回の調査においても県内の患者からはB群の分離頻度が最も高かった。このうちB群[15, 17], D群[18, 19], Y群[20]は、他県においても下痢症患者や食中毒事例などから多く分離されており、カンピロバクター腸炎の主要な血清型と思われた。また、B群[21, 22], D群[21]は鶏肉等から多く分離されていることから、県内のカンピロバクター腸炎の感染源に鶏が関与していることも推察された。更に分離頻度の高い血清型は、薬剤耐性率が高かったことから、腸炎の原因菌がカンピロバクターと判明したときには、耐性率の低いEMなどマクロライド系薬剤が治療に有効であると思われた。

カンピロバクター食中毒は、食中毒統計からも減少傾向はみられず、近年、細菌性食中毒の大多数を占めるようになってきている[1]。今回の調査においても県内では10歳未満の小児を中心とした散発事例が多発していることから、今後も腸炎由来株の薬剤耐性についてモニタリングが必要と思われる。また、*C. jejuni*感染症はギラン・バレー症候群との関連性も指摘されており[23-25]、早急に感染防止対策を講じる必要がある。特にカンピロバクターが鶏肉や鶏レバーから高率に検出されていることから[21, 22, 26]、食鳥処理施設における徹底した衛生管理が必要である。また、カンピロバクターは鶏以外の家畜からも検出されていることから[16, 20, 21]、消費者に対して家庭における肉類調理時の衛生的な取扱について、より一層の啓発が必要と思われる。

ま と め

県内の医療・検査機関で分離された腸炎由来カンピロバクターのキノロン系薬剤(NA, NFLX, OFLX)およびFOMの薬剤耐性について検討した。

1. 供試菌株の56.2%に薬剤耐性が認められた。
2. 薬剤別ではNA, NFLXおよびOFLXには46.3%

が耐性を示し、いずれも3剤すべてに耐性であった。FOMには19.2%が耐性を示し、中間も12.5%に認められた。

3. 薬剤耐性パターンは3種類に分類され、そのうちNA・NFLX・OFLX 3剤耐性型(65.9%)が最も多かった。
4. 供試菌株の一部に実施したEMの耐性率は4.0%と低かった。

謝 辞

最後に、本研究のため貴重な菌株を分与して下さいました広島市医師会臨床検査センター、三原赤十字病院および庄原赤十字病院の諸先生方に深謝いたします。

本稿の要旨は、第54回中国地区公衆衛生学会(平成20年8月、広島市)において報告した。

参 考 文 献

- [1] 国立感染症研究所感染症情報センター(2008):細菌性食中毒 1998~2007年,病原微生物検出情報, 29, 213-215.
- [2] 竹田義弘, 松田花子, 東久保靖ほか(2005):広島県内の散発下痢症の最近の動向-下痢原性大腸菌, サルモネラ属菌, カンピロバクターおよび腸炎ブリオの分離状況-, 広島保健セ研究報告, 13, 31-41.
- [3] Sjogren, E., Lindblom, G. B., Kaijser, B. (1997): Norfloxacin resistance in *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolates from Swedish patients, J. Antimicrob. Chemother., 40, 257-261.
- [4] Gaudreau, C., Gilbert, I. (1998): Antimicrobial Resistance of Clinical Strains of *Campylobacter jejuni* subsp. *jejuni* Isolated from 1985 to 1997 in Quebec, Canada, Antimicrob. Agents Chemother., 42, 2106-2108.
- [5] Smith, K. E., Besser, J. M., Hedberg, C. W. et al. (1999): Quinolone-Resistant *Campylobacter jejuni* Infections in Minnesota, 1992-1998, N. Engl. J. Med., 340, 1525-1532.
- [6] Engberg, J., Neimann, J., Nielsen, E. M. et al. (2004): Quinolone-resistant *Campylobacter* Infections in Denmark: Risk Factors and Clinical Consequences, Emerg. Infect. Dis., 10, 1056-1063.
- [7] カンピロバクター血清型別レファレンスグループ(1999):わが国における腸炎由来 *Campylobacter jejuni* 血清型の検出動向および散発下痢症由来

- C.jejuni* のキノロン剤に対する耐性菌の出現－カンピロバクター・レファレンスセンター, 病原微生物検出情報, 20, 109-110.
- [8] 衛生微生物技術協議会カンピロバクター・レファレンスグループ (2006): わが国における腸炎由来 *Campylobacter jejuni* の血清型別検出動向およびキノロン剤に対する耐性菌の出現状況－カンピロバクター・レファレンスセンター, 病原微生物検出情報, 27, 173-175.
- [9] 坂崎利一編 (1991): 食水系感染症と細菌性食中毒, 123-153, 東京, 中央法規出版.
- [10] Linton, D., Lawson, A. J., Owen, R. J. *et al.* (1997): PCR Detection, Identification to Species Level and Fingerprinting of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* Direct from Diarrheic Samples, *J. Clin. Microbiol.*, 35, 2568-2572.
- [11] Iwami, T., Kajiwara, Y., Yamagishi, M. *et al.* (1987): *Campylobacter* Enteritis in Childhood, *J. UOEH*, 9, 61-68.
- [12] Skirrow, M. B. (1977): *Campylobacter enteritis*: a "new" disease, *Br. Med. J.*, 2, 9-11.
- [13] 三澤尚明 (2005): カンピロバクター感染症, *モダンメディア*, 51, 45-52.
- [14] 川村千鶴子, 中村敏彦, 貝森光大ほか (1996): 糞便から検出された *Campylobacter* の性状と薬剤感受性の検討, *医学検査*, 45, 1242-1246.
- [15] 下野生世, 澤田千恵子, 森敏彦ほか (2007): 徳島県における感染性胃腸炎患者から分離した病原性細菌の細菌学および疫学的研究 (第2報), *徳島保環七報*, 25, 1-5.
- [16] 谷合朋子, 山崎省吾 (2005): 豚盲腸便および豚枝肉における食中毒起因菌汚染実態調査, 平成16年度食肉衛生調査研究書, 長崎県食肉衛生検査所連絡会議, 7-11.
- [17] 山中康代, 砂原千寿子, 藤井康三ほか (2000): 糞便から検出された *Campylobacter jejuni* の血清型別と薬剤耐性の検討, *香川衛研所報*, 28, 34-37.
- [18] 成田美奈子, 大山文, 野中陽子ほか (2006): 平成14年度から平成18年度の5年間に仙台市衛生研究所で分離したカンピロバクターについて, *仙台市衛研所報*, 36, 51-54.
- [19] 桜庭恵, 和栗敦, 澤田譲ほか (2006): 下痢症患者由来カンピロバクター属菌の発生状況と遺伝学的解析, *青森環保セ研究報告*, 17, 33-37.
- [20] 青木紀子, 吉田紀美, 田中博ほか (2006): 小児下痢症患者と動物からのカンピロバクター属菌の分離状況とその疫学的解析, *愛媛衛環研年報*, 9, 1-5.
- [21] 渡邊節, 川野みち, 小林妙子ほか (2005): 市販食肉等からのカンピロバクター検出と低温保存での菌消長, *宮城保環七報*, 23, 98-101.
- [22] 多田芽生, 砂原千寿子, 多田千鶴子ほか (2004): 鶏肉における *Campylobacter* および *Salmonella* の汚染状況, *香川環保研セ所報*, 3, 187-190.
- [23] 藤本秀士 (2000): キャンピロバクター感染症とギラン・バレー症候群, *九州大学医技短大部紀要*, 27, 55-62.
- [24] Hadden, R. D. M., Gregson, N. A. (2001): Guillain-Barre' syndrome and *Campylobacter jejuni* infection, *J. Appl. Microbiol. Symp. Supple.*, 90, 145S-154S.
- [25] 高橋正樹, 横山敬子 (2006): *Campylobacter jejuni* 感染症が関連した Guillain-Barre' 症候群の疫学, *病原微生物検出情報*, 27, 175-176.
- [26] 佐々木淳, 小野寺司 (2007): 市販鶏肉および鶏レバーにおけるカンピロバクターの汚染状況, *盛岡大学短大部紀要*, 17, 1-3.

