

カンピロバクター分離株の薬剤感受性と型別について

鈴木 陽子 八柳 潤 木内 雄 斎藤志保子

カンピロバクターレファレンスセンター事業として、当所で分離または医療機関から提供された菌株（1991年から1996年の過去6年間、737株のうち58株）について、薬剤感受性試験を行った。ニューキノロン系薬剤に対して多剤耐性の株が24%認められた。また、1996年の分離された菌株（102株のうち45株）について Penner 型別を行ったところ Lior 型別で型別できない菌株については、Penner 型別を実施することにより型別可能になる可能性が高いことが示唆された。

キーワード：C. jejuni、Lior 型別、Penner 型別

I はじめに

ニューキノロン剤耐性菌の出現が報告されており、耐性菌出現の動向を監視することは重要である。そこで、カンピロバクターレファレンスセンター事業として県内で分離された菌株について薬剤感受性をディスク法で行った。また、Lior型別では同定できない株が多数存在していることから Penner 型別の検討を行ったので報告する。

II 材料および方法

1 感受性試験（ディスク法）

(1) 供試菌株

過去6年間（1991年1月から1996年12月まで）に当所で分離または医療機関から提供された株を Lior 型別に集計し、検出頻度に従って LIO 4 を19株、LIO 1 を13株、LIO 6 を11株、TCK 1 を3株、TCK12を9株選別し、また関西以南の各地で出現している LIO36については3株、計58株を用いた。菌株は検出年の偏りがないように配慮したが血清型によっては検出されない年があった。全ての株はオキシダーゼ陽性、カタラーゼ陽性、馬尿酸塩加水分解陽性、42°C発育陽性であった。

(2) 使用薬剤

使用薬剤は日本ベクトン・デッキンソンから市販されている Norfloxacin (NF)、Ofloxacin (OFLX)、Ciprofloxacin (CPFX)、Nalidixic acid (NA)、Erythromycin (EM)、Tetracycline (TC) (Sensi-Disc) の計6剤を使用した。

(3) 接種菌液の調整

Kirby-Bauer 法に準じて行い、ミュラーヒントンブロス 3 ml に菌苔を一白金耳とり No.10 Mcfarland 標準液程度に調整した。接種菌液の濁度の検討を行ったところ、No.1 Mcfarland と No.10 Mcfarland のそれぞれの標準液の濁度の菌液を接種して阻止円を測定しても、大差は

なく結果は変わらなかった。

(4) 接種法

接種菌液に綿棒を浸し余水を管壁で取り除いた後、ミュラーヒントン寒天培地（90mmシャーレ）に接種した。この時シャーレを回転させ、異なった方向より3回均等に塗抹した。各ディスクは24mm以上離れるように配置した。微好気ジャー（BBL、Anaero Pack Campylo）を用いて42°C 1日培養後阻止円を測定した。

2 Penner 型別

(1) 供試菌株

1996年1月から12月にかけて、当所で糞便から分離または医療機関から提供された102株のうち、Lior 型別を行って血清型の決定した株と、UT（型別不明）となった株を無作為に抽出した。45株について Penner 型別を行った。

(2) 型別

感染研（予研）から配付のあった血清型別用試薬、抗血清（デンカ生研）を使用した。型別操作は添付されている説明書に準じて行った。

III 結果及び考察

C. jejuni や C. coli は NA (30 μl) に感受性で、C. laridis や C. fetus は同薬剤に耐性とされている¹⁾。NA に感受性であることは C. jejuni の同定には欠くことのできない性状の一つである。都立衛研で行った年次別耐性菌出現頻度の報告²⁾によると1989年から1994年までのNA耐性菌の割合は、5%、3%、3%、12%、23%、16%と推移し1992年以降増加傾向にあり、同定上問題がある。これに対して、秋田県内では、1995年までNA耐性株の出現はなかったが、1996年に1株が認められた（表1）。都立衛研のNA耐性株出現頻度（16%、1994）と比較すると割合は低い（1.7%）が、今後は県内のNA

表1 年次別耐性パターンの推移

耐性パターン		供試菌株分離年					合計	
		1991	1992	1993	1994	1995		1996
単剤耐性	NA					1	1	
	EM					1	1	
	TC	2(40%)	6(46%)	4(50%)	2(29%)	2(22%)	3(19%)	19(33%)
二剤耐性	EM、TC				1	1	2	
多剤耐性	NFLX、OFLX、CPFX、NA				1		3	4(7%)
	NFLX、OFLX、CPFX、NA、EM						1	2(3%)
	NFLX、OFLX、CPFX、NA、TC		1	2	2	1	3	8(40%)
ニューキノロン剤多剤耐性株数/供試菌株 (ニューキノロン剤多剤耐性株の割合)		1/13 (8%)	2/8 (25%)	3/7 (43%)	1/9 (11%)	7/13 (44%)	14/58 (24%)	
合計 (耐性株/供試菌株)		2/5 (40%)	7/13 (54%)	6/8 (75%)	6/7 (86%)	4/9 (44%)	12/16 (75%)	37/58 (64%)

耐性株増加の可能性を視野にいれ、同定を行っていく必要があると考えられる。

C. jejuni 腸炎の治療薬としては、EMをはじめとしたマクロライド系抗菌薬や、ニューキノロン系抗菌薬が用いられている³⁾。しかし、最近、ニューキノロン系抗菌薬に対して耐性の C. jejuni が出現しはじめていることが諸外国で指摘されてきている。感染性胃腸炎の治療薬として多用されているニューキノロン系抗菌薬に耐性の C. jejuni の増加は治療上問題があり、その動向の監視は重要なことである。県内のニューキノロン系抗菌薬耐性株の出現をみても、単剤耐性株は全く認められなかったが、NFLX、OFLX、CPFX の多剤耐性株が高頻度に認められ、1992年に8%であったのが、1996年には44%にまで増加していた。このことから、県内でも諸外国および都立衛研の報告²⁾同様に、ニューキノロン系抗菌薬耐性の C. jejuni が出現してきていることが明らかになった。さらにニューキノロン系抗菌薬耐性株の出

現頻度を血清型別に比較してみると、LIO 4 に耐性株が多い傾向(37%)が認められた(表2)。

TC 耐性株は1991年から1996年まで毎年出現しているが1993年の50%を最高に減少傾向にある。

カンピロバクターの血清型別には、易熱性抗原を用いた方法の代表として Lior らのスライド凝集法、耐熱性抗原を用いた方法の代表として Penner らの受身血球凝集法がある⁴⁾。二種類の型別法のそれぞれの長一短を踏まえた上で、相関性、相補性の検討をする必要がある。今回は、1996年に当所で分離または医療機関から提供された株を、無作為に45株選び Penner 型別を実施した(表3)。LIO 1 の8株のうち7株が Penner 型別でD、LIO 4 の8株のうち5株がBとなり各々88%、63%と高い相関性を示した。また、当所で1991年から1996年までに行った Lior 型別のUTの割合は各々20%、28%、38%、31%、40%、25%と推移しており、平均で30%は型別できなかった。今回の Penner 型別では、UTとなる

表2 Lior 型別耐性パターン

耐性パターン		Lior 型別					合計	
		1	4	6	36	T1		T12
単剤耐性	NA		1					1
	EM			1				1
	TC	7	7	1	3	1		19
二剤耐性	EM、TC			1			1	2
多剤耐性	NFLX、OFLX、CPFX、NA	1	3					4
	NFLX、OFLX、CPFX、NA、EM			1				1
	NFLX、OFLX、CPFX、NA、TC	1	4			1	3	9
ニューキノロン剤多剤耐性株数/供試菌株 (ニューキノロン剤多剤耐性株の割合)		2/13 (15%)	7/19 (37%)	1/11 (9%)		1/3 (33%)	3/9 (33%)	14/58 (24%)
合計 (耐性株/供試菌株)		9/13 (69%)	15/19 (79%)	4/11 (36%)	3/3 (100%)	2/3 (67%)	4/9 (44%)	37/58 (64%)

表3 Lior 型別と Penner 型別の相関

Lior	Penner	菌株番号
1	D	2487
	D	2537
	D	2489
	D	2491
	D	2518
	D	2533
	D	2534
	F	2488
2	G	2515
	G	2524
4	B	2493
	B	2506
	B	2509
	B	2535
	B	2536
	D, F	2525
	F, K	2538
	F, K	2539

Lior	Penner	菌株番号
6	F	2486
7	D, F	2494
	L, Z ₂	2497
	C, D	2504
10	UT	2501
	UT	2510
	R	2503
11	L	2527
	UT	2510
26	D	2528
27	L	2514
	UT	2513
30	A	2530
39	Z	2521

Lior	Penner	菌株番号
T12	J	2495
	A, J	2529
T13	K	2502
	K	2517
UT	UT	2505
	UT	2507
	UT	2511
	UT	2512
	Y	2508
	L	2516
	D, F	2520
	B	2531
	F	2532

割合が18%で、Lior 型別と比較すると有用であるといえる。45株のうちLior 型別でUTとなった9株を、Penner 型別を行ってみると、56%の5株は型別可能であった。このことによりLior 型別で型別できない菌株については、Penner 型別を実施すると型別可能になる可能性が高いことが考えられた。しかしPenner 型別でもUTとなる株が18%あり、操作法が煩雑であること、型別の抗血清が25種類で、Lior 型別の30種類よりも少ないこと等から、ルーチン検査でPenner 型別を実施するメリットは少ないと考えられた。カンピロバクターレファレンスセンターとして、血清型別を行っている衛研のなかで、山口衛研の血清型別率が95.2%と非常に高くなっている。山口衛研ではその要因として、ブロスでの継代培養を5~7回繰り返して型別を行うと型別率が向上することを報告している。そこで今回、この方法の有用性について検討した。継代にはミューラーヒントンブロスを用いた。3~4回の継代で、UTだった株のうち42.9%は型別可能になったが、他は継代するごとに多価血清への凝集性が変化、または自己凝集が認められ、型別可能とはならなかった。また、以前に7~8回の継代を行って型別を試みたことがあったが、一度決定した型が他の型へ変化することを経験した。このように、菌株により型別が可能になる継代培養の回数、培養時間が異なること、継代の過剰により血清型が変化する場合があることを考慮し、最適な継代培養条件の検討が必要である。以上より、Penner 型別、およびLior 型別を行う際の

型別率を向上させる目的で継代培養を繰り返すことは、ルーチン検査では必ずしも実施する必要はないと考えられた。しかし、これらのことは集団事例など疫学解析が必要な場合には試みる価値があると考えられ、特に継代培養の条件についてあらかじめ検討しておく必要がある。

関西以南の各地でLIO36が集団・散発事例で増加している。秋田県内での発生状況は、1991年に1株、1992年に11株、1993年に1株分離されてからは分離されていない。今後、食品の流通、人的交流等によるLIO36の出現を視野にいれ、分離菌株の動向監視を続けていく必要があると考えられた。

IV 文 献

- 1) 厚生省(監修). 微生物検査必携—細菌検査第3版. 日本公衆衛生協会, 1987; D118-D132.
- 2) 只野敬子, 他. 下痢患者由来 *Campylobacter jejuni* のニューキノロン薬に対する薬剤感受性の年次別推移. 感染症誌, 1996; 70: 1228-1233.
- 3) 小花光夫, 他. *Campylobacter* 腸炎患者の治療における問題点—特にニューキノロン剤使用後の耐性菌発現例についての検討. 感染症誌, 1992; 66: 923-929.
- 4) 斎藤彦彦, 他. ホルマリン処理菌を用いたスライド凝集反応による *Campylobacter jejuni* の血清型別法. 感染症誌, 1987; 42: 499-511.