

【原著】

新興病原体 *Escherichia albertii* における薬剤感受性調査

吉岡 翔*¹ 伊藤政彦*² 磯崎将博*³ 玉井清子*⁴ 月足正辰*⁵ 藤岡美幸*¹

(2020年11月13日受付, 2020年11月30日受理)

要旨: *Escherichia albertii* は、食中毒原因菌として注目されている。本菌の生化学的性状や遺伝子保有状況は明らかになりつつあるが、薬剤感受性状況は不明な点が多いため、本研究では下痢症患者由来便検体より分離された *E. albertii* 72株を対象に薬剤感受性状況を調査した。対象薬剤はエリスロマイシン (EM), ホスホマイシン (FOM), オフロキサシン (OFLX), シプロフロキサシン (CPFX), テトラサイクリン (TC) の5薬剤とし、ディスク拡散法により実施した。その結果、EMでは72株中耐性67株 (93.1%), 中間5株 (6.9%) であった。FOMでは全72株 (100%) が感性であり、*E. albertii* においても有効であると考えられたが、細菌性腸炎の治療では抗菌薬の使用に限られているため、抗菌薬の適用は慎重に判断する必要がある。また、72株中 OFLX, CPFX 耐性2株 (2.8%), TC 耐性10株 (13.9%) であった。近年、OFLX, CPFX などのキノロン系薬剤や TC に耐性の細菌が増加傾向にあるため、本研究で検出された薬剤耐性 *E. albertii* における耐性遺伝子保有状況や耐性機序を明らかにする必要があると考えられた。また、環境由来 *E. albertii* において、高い割合で耐性菌が分離されていることから、今後はヒト由来 *E. albertii* に加え環境由来 *E. albertii* を含めた薬剤感受性状況を明らかにする必要がある。

キーワード: *Escherichia albertii*, 薬剤感受性, ディスク拡散法, 薬剤耐性菌

I. はじめに

種々の抗生物質に耐性を示す薬剤耐性菌の蔓延が世界中で問題となっており、2050年には薬剤耐性菌による世界全体の年間死者数が1000万人を超えるといわれている¹⁾。耐性菌の蔓延は医療分野における重要な課題であり、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA) や多剤耐性緑膿菌, 多剤耐性アシネトバクターなどが主な原因菌となっている²⁾。薬剤耐性菌に対する取り組みは医療分野だけでなく食品・畜産分野においても行われ、薬剤耐性の大腸菌や *Salmonella*, *Campylobacter* が動物からヒトに感染し耐性菌伝播の一因になっているとされている³⁾。これら細菌はヒト腸管感染の主要な原因菌²⁾であり、近年新興病原体 *Escherichia albertii* も腸管感染原因菌として分離されている^{4,5)}。*E. albertii* は2003年に登録された新種⁴⁾であり、医療機関では大腸菌に誤同定されている可能性がある^{5,6)}。本菌については、特異的遺伝子の保有状況や乳糖非分解・非運動性などの生化学的性状の特徴が明らかにされてきている^{5,6)}が、薬剤感受性状況は不明な点が多い。そこで本研究では、*E. albertii* が腸管感染原因菌であることを踏まえ、食中毒原因菌上位である

Campylobacter 感染症の治療薬であるエリスロマイシン⁷⁾, 細菌性腸炎の治療薬であるホスホマイシン⁷⁾, ヒトや家畜の感染症治療や家畜発育促進に使用されるオフロキサシン, シプロフロキサシン^{2,7)}, テトラサイクリン^{7,8)}の5薬剤を対象に食中毒など腸管感染症に関わる *E. albertii* の薬剤感受性状況を調査した。

II. 対象および方法

1. 対象

対象は札幌臨床検査センター, 天草地域医療センター, ミロクメディカルラボラトリー, 弘前市医師会健診センターで下痢便検体より分離・同定された *E. albertii* 72株とした。日本細菌学会の細菌および細菌感染症に関する研究を実施する際の倫理的な留意事項⁹⁾に則り、これら菌株の取り扱いに関する倫理審査は行っていない。

2. 方法

薬剤感受性試験はディスク拡散法¹⁰⁾にて実施した。Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) の基準¹¹⁾に規定されている一濃度ディスク法として、対象薬剤はエリスロマイシン (EM) 15 µg, ホスホマイシン (FOM) 50

*1 弘前大学大学院保健学研究科
Hirosaki University Graduate School of Health Sciences
〒036-8564 青森県弘前市本町 66-1 TEL:0172-33-5111
66-1, Honcho, Hirosaki-shi, Aomori, 036-8564, Japan

*2 札幌臨床検査センター株式会社
Sapporo Clinical Laboratory Inc.
〒060-0005 北海道札幌市中央区北5条西18丁目9番地1
TEL:011-641-6311
18-9-1, Kita 5-jonishi, Chuo-ku, Sapporo-shi, Hokkaido, 060-0005, Japan

*3 天草地域医療センター
Amakusa Medical Center
〒863-0046 熊本県天草市亀場町食場 854-1 TEL:0969-24-4111

854-1, Kamebamachi jikiba, Amakusa-shi, Kumamoto, 863-0046, Japan

*4 株式会社ミロクメディカルラボラトリー
Miroku Medical Laboratory Co., Ltd.
〒384-2201 長野県佐久市印内 659-2 TEL:0267-54-2111
659-2, Innai, Saku-shi, Nagano, 384-2201, Japan

*5 弘前市医師会健診センター
Hirosaki Medical Association Health Care Center
〒036-8045 青森県弘前市野田 2-7-1 TEL:0172-34-6121
2-7-1, Noda, Hirosaki-shi, Aomori, 036-8045, Japan

Correspondence Author h19gg302@hirosaki-u.ac.jp

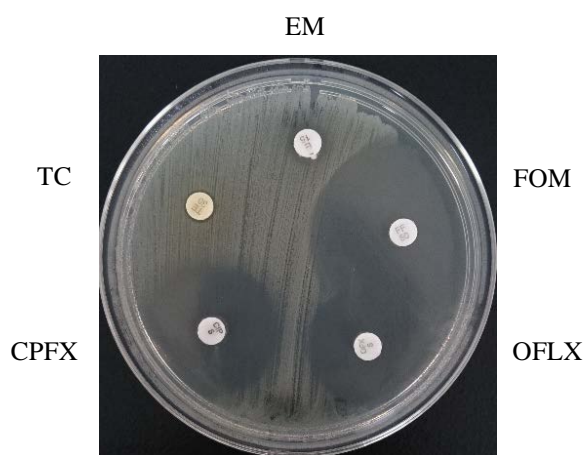


図1 薬剤感受性試験における Müller-Hinton 寒天培地の様子

μg, オフロキサシン (OFLX) 5 μg, シプロフロキサシン (CPFX) 5 μg, テトラサイクリン (TC) 30 μg の5薬剤 (以上, センシ・ディスク BD) を用いた。

対象菌株をハートインフュージョン寒天培地 (栄研) に塗抹し, 37±1°C, 24±2 時間純培養後, 滅菌生理食塩水で McF 0.5 の濃度に菌液を調製した。この菌液を滅菌綿棒にて Müller-Hinton 寒天培地 (関東化学) に塗抹, 上記の5薬剤ディスクを配置し, 37±1°C, 24±2 時間培養した。培養後, 培地上の阻止円径を計測し, 表1の判定基準^{11, 12)}に従い, 感性 (susceptible : S), 中間 (intermediate : I), 耐性 (resistant : R) と判定した (図1)。また, 対照として *E. coli* の標準菌株である ATCC25922 株と *E. albertii* の type strain である JCM17328 株の薬剤感受性試験を行った。

III. 結果

薬剤感受性試験の結果を表2に示した。対象とした72株において, EM では耐性が67株 (93.1%), 中間が5株 (6.9%) であった。EM 耐性67株中 TC 耐性は10株で, このうち2株は OFLX, CPFX に耐性を示し, EM 中間5株は FOM, OFLX, CPFX, TC 感性を示した。また FOM は全株が感性であった。OFLX, CPFX では耐性が2株 (2.8%) であり, いずれも TC 耐性, FOM 感性を示した。TC 耐性10株 (13.9%) は, 2株が OFLX, CPFX 耐性, EM, FOM 感性であったが, OFLX, CPFX 耐性株を除く8株は, EM, FOM, OFLX, CPFX 感性を示した。

対照とした *E. coli* ATCC25922 株と *E. albertii* JCM17328 株では, いずれも EM 耐性, FOM, OFLX, CPFX 感性であった。TC では, 対象72株中62株および *E. coli* ATCC25922 株が感性であったが, *E. albertii* JCM17328 株は耐性であった。

表1 薬剤感受性試験における阻止円径の判定基準 (mm)

薬剤	R	I	S
EM	≤13	14~22	≥23
FOM	≤10	11~15	≥16
OFLX	≤12	13~15	≥16
CPFX	≤15	16~20	≥21
TC	≤11	12~14	≥15

表2 薬剤感受性結果 (n=72)

薬剤	R	I	S	<i>E. coli</i>	
				ATCC25922	JCM17328
EM	67	5	0	R	R
FOM	0	0	72	S	S
OFLX	2	0	70	S	S
CPFX	2	0	70	S	S
TC	10	0	62	S	R

IV. 考察

1991年に初分離された *E. albertii* は, 食中毒原因菌として注目されている^{4, 5)}。一部の菌株は志賀毒素を産生することから, 感染症法で三類感染症に指定されている腸管出血性大腸菌に誤同定される可能性がある¹³⁾。また, 近年大腸菌や *Campylobacter* などの食中毒原因菌において薬剤耐性が報告されている^{3, 14)}。そこで本研究では, *E. albertii* の薬剤感受性状況に加え, *E. coli* との薬剤感受性の相違点を調査した。

マクロライド系薬剤である EM は, 細菌の50Sサブユニットに作用し蛋白質合成を阻害することで抗菌活性を示す²⁾。この薬剤は, レンサ球菌や肺炎球菌などのグラム陽性球菌, *Mycoplasma*, *Chlamydia* などに有効な抗菌薬¹⁵⁾で, *Campylobacter* 腸炎の治療薬⁷⁾である。EM は疎水性の薬剤で高分子量のため, グラム陰性桿菌の外膜に形成されている親水性のポーリン孔を通過できずグラム陰性桿菌には抗菌力は弱いとされ^{2, 15)}, *E. albertii* の近縁種である *E. coli* や *Salmonella* は, EM 自然耐性といわれている¹⁶⁾。*E. albertii* もこれら細菌と同様に EM 耐性と報告されている¹⁷⁾。Kibret ら¹⁸⁾は, *E. coli* において EM 耐性 89.4%, 中間 3.0% と報告した。本研究では対象とした72株中耐性67株 (93.1%), 中間5株 (6.9%) であり, *E. albertii* の EM 感受性状況は Kibret らの *E. coli* の感受性状況¹⁸⁾と同様の傾向を示した。さらに Kibret ら¹⁸⁾は EM 感性の *E. coli* が 7.5% と報告している。*E. albertii* は *E. coli* に非常に類似し, 誤同定される可能性がある^{5, 6)}ことから, 今後 EM 感性 *E. albertii* が分離されると考えられ継続調査が必要である。

ホスホマイシン系薬剤の FOM は, 分子量が小さく, 細菌の能動輸送系により菌体内に取り込まれ, 細胞壁の合成を阻害する²⁾。本薬剤は, ブドウ球菌やグラム陰性桿菌などに有効で²⁾, 小児細菌性腸炎や尿路感染症の治療に使用さ

れる^{7,19)}。今回対象株全てが FOM に感性であったことから、FOM は *E. albertii* に有効であると考えられた。また、この結果は *E. albertii* は FOM に自然感性であると報告した Stock らの報告¹⁷⁾と一致した。よって、*E. albertii* の FOM 感受性は良好であると考ええる。細菌性腸炎の多くは対症療法のみで軽快するため抗菌薬の使用は細菌性赤痢や *Campylobacter* 腸炎の場合などに限られている⁷⁾ことから、*E. albertii* 感染症における FOM の適用は慎重に判断する必要がある。また、佐藤ら²⁰⁾は食中毒原因菌として知られている *Campylobacter* における FOM 耐性株を報告した。このことから *E. albertii* でも耐性株が存在する可能性が考えられ今後も継続調査する必要がある。

抗菌薬はヒトだけでなくトリやブタなどの家畜においても感染症治療や発育促進を目的に使用されている^{3, 14)}。抗菌薬が家畜に投与された際、家畜体内ではその薬剤に感性の菌が死滅する、あるいは薬剤に暴露され死滅しなかった菌の耐性遺伝子変異により耐性誘導が起こるなどで耐性菌が優位になり、喫食などでヒトに感染し感染症を発症したとき、治療が困難になるといわれている³⁾。そこで本研究ではヒトや家畜に使用されている OFLX, CPFX, TC を対象薬剤として追加した。OFLX, CPFX はニューキノロン系薬剤であり、細菌の DNA ジャイレースやトポイソメラーゼ IV を阻害する²⁾。本薬剤の抗菌スペクトルは幅広く、肺炎や尿路感染症など全身の感染症に適応される^{2, 21)}。キノロン系薬剤は薬剤暴露による遺伝子変異で耐性化すると指摘されており²²⁾、本研究では 72 株中 OFLX, CPFX 耐性 2 株 (2.8%) であったことから、ヒトや家畜の感染症治療などで薬剤に暴露された菌株が耐性化した可能性が考えられた。また、*E. coli* においてキノロン系薬剤耐性株の増加が報告されている^{2, 21)}。本研究では耐性 2 株 (2.8%) で感受性状況は良好であったが、今後 *E. albertii* においてもキノロン系薬剤耐性株の増加が予想される。また、*E. coli* において DNA ジャイレースのサブユニット A をコードする *GyrA* 遺伝子の変異により、キノロン系薬剤に耐性を示すとされている²²⁾。Konno ら²³⁾は、*E. albertii* においても、この *GyrA* 遺伝子の変異でキノロン系薬剤に耐性を示すと報告していることから、今回検出されたキノロン系耐性株における遺伝子変異を調査する必要がある。

テトラサイクリン系薬剤の TC は細菌のタンパク質合成を阻害し、グラム陽性菌や陰性菌、クラミジアやマイコプラズマ、リケッチア感染症の治療に用いられる²⁾。テトラサイクリン耐性には、テトラサイクリンを排出する膜関連タンパクをコードする *tet* 遺伝子が関与しており、この排出タンパクを持つことで菌はテトラサイクリン耐性を獲得する²²⁾。Stock ら¹⁷⁾は、*E. albertii* は TC 特異的薬剤排出ポンプの存在により自然耐性であると報告したが、本研究では 72 株中感性 62 株 (86.1%)、耐性 10 株 (13.9%) であったことから、*E. albertii* は TC に自然感性であると考ええる。

また、*E. coli* において TC 耐性 72.4%、感性 23.6%との報告¹⁸⁾があり、本研究の *E. albertii* の結果と大きく異なっていた。この相違点が *E. albertii* と *E. coli* の鑑別に有効である可能性が考えられた。TC は耐性遺伝子がプラスミド上に存在し、プラスミドの水平伝播で TC 感性菌が耐性菌に変化するとされている²²⁾ことから、本研究での耐性 10 株 (13.9%) は耐性遺伝子を保有していると考えられ、今後は *E. albertii* における耐性遺伝子の保有状況を調査し、耐性機序を明らかにする必要があると考える。

今回、*E. albertii* 72 株中 CPFX 耐性 2 株 (2.8%)、TC 耐性 10 株 (13.9%) であった。Li ら²³⁾は *E. albertii* 51 株中 CPFX 耐性 15 株 (29.4%)、TC 耐性 32 株 (62.7%) と報告し、本研究よりも高い割合で薬剤耐性 *E. albertii* を分離した。この要因として、本研究ではヒト下痢便から分離された *E. albertii* を対象とした一方、Li ら²⁴⁾は 51 株中ヒト由来が 6 株で、これらうち TC 耐性 3 株 (50%)、CPFX 耐性 1 株 (1.67%) で耐性菌の大部分が環境由来株であることが考えられた。また *E. albertii* の保菌宿主は主にトリである⁵⁾とされており、日本国内ではトリレバー²⁵⁾や河川水²⁶⁾から *E. albertii* 分離例が報告されている。今後はこれら環境検体中から *E. albertii* を分離し、薬剤感受性状況を調査することで、ヒト由来と環境由来を含めた *E. albertii* の薬剤感受性状況を明らかにする必要がある。

本研究では食中毒や腸管感染症の治療によく用いられる 5 薬剤を対象に *E. albertii* の薬剤感受性状況を調査した。*E. albertii* の近縁種である *E. coli* では TC 耐性株が多い¹⁸⁾とされるが、今回 *E. albertii* では TC 感性株が多く、鑑別が困難な 2 菌種間ではこの TC 感受性状況が鑑別に有効となる可能性が示唆された。尿路感染症や髄膜炎の治療薬であるペニシリン系などのβラクタム系薬剤はグラム陽性球菌を中心に用いられ、グラム陰性桿菌が主な原因となる腸管感染症では通常使用されない^{2,7)}が、今後はこれらの薬剤を対象に *E. albertii* と *E. coli* の感受性状況を調査していきたい。

利益相反 開示すべき利益相反はありません。

引用文献

- 1) Antimicrobial Resistance: Tackling a Crisis for the health and wealth of nations, The Review on Antimicrobial Resistance Chaired by Jim O'Neill December 2014. Review on Antimicrobial Resistance. https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf (2020 年 10 月 26 日アクセス)
- 2) 一般社団法人日本臨床検査技師会. JAMT 技術教本シリーズ 臨床微生物検査技術教本. pp56-80, 丸善出版, 東京, 2017.
- 3) 浅井鉄夫: 特集 近年注目されている感染症 動物や食品に由来する薬剤耐性菌のヒトへの影響. 感染防御と予防衛生, 3(1): 29-34, 2019.

- 4) Huys G, Cnockaert M, *et al.*: *Escherichia albertii* sp. nov., a diarrhoeagenic species isolated from stool specimens of Bangladeshi children. *Int J Env Microbiol*, 53: 807-810, 1991.
- 5) 大岡唯祐：新興病原体 *Escherichia albertii*. *日食微誌*, 34: 151-157, 2017.
- 6) Ooka T, Seto K, *et al.*: Clinical Significance of *Escherichia albertii*. *Emerg Infect Dis*, 18: 488-492, 2012.
- 7) JAID/JSC 感染症治療ガイド・ガイドライン作成委員会：JAID/JSC 感染症治療ガイドライン 2015—腸管感染症—. *日化療会誌*, 64：31-65, 2016.
- 8) 農林水産省：飼料の適正使用について（畜産農家の皆様へ）. <https://www.maff.go.jp/syouan/tikusui/siryo/> (2020年10月26日アクセス)
- 9) 日本細菌学会：細菌および細菌感染症に関する研究を実施する際の倫理的な留意事項（付表）（V3）
<http://jsbac.org/material/rinri.pdf> (2020年11月17日アクセス)
- 10) Bauer AW, Kirby WMM, *et al.*: Antimicrobial susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol*, 45: 493-496, 1966.
- 12) Versalovic J, Carroll KC, *et al.*: *Manual of Clinical Microbiology* 10th Edition. pp1122-1143, American Society for Microbiology, Washington, D.C., 2011.
- 11) Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests 10th Edition(M2-A10). Clinical and Laboratory Standards Institute, America, 2009.
- 13) Murakami K, Etoh Y, *et al.*: Shiga Toxin 2f-Producing *Escherichia albertii* from a Symptomatic Human. *Jpn J Infect Dis*, 67: 204-208, 2014.
- 14) 高橋敏雄, 浅井鉄夫, 他：家畜衛生分野における耐性菌の現状と今後の対策. *感染症学雑誌*, 80(3): 185-195, 2006.
- 15) 平松和史, 門田淳一：特集／日常診療に役立つすりの選び方・使い方 抗菌薬の使い分け マクロライド系薬剤. *臨床と研究*, 86(5): 557-560, 2000.
- 16) 西野武志：薬剤耐性菌の耐性機構に関する研究 —とくに自然耐性機構の解明—. *日化療会誌*, 62(2): 177-191, 2014.
- 17) Stock I, Rahman M, *et al.*: Natural antimicrobial susceptibility patterns and biochemical identification of *Escherichia albertii* and *Hafnia alvei* strains. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 51: 151-163, 2005.
- 18) Kibret M, Abera B: Antimicrobial susceptibility patterns of *E. coli* from clinical sources in northeast Ethiopia. *Afr Health Sci*, 11(1): 40-45, 2011.
- 19) 河田宗一郎, 森内浩幸：特集／小児診療のピットフォール III 小児の薬物療法 —抗菌薬の適正使用—. *臨床と研究*, 96(9): 1013-1019, 2019.
- 20) 佐藤瑠海, 佐藤拓弥, 他：弘前地区における下痢症患者由来 *Campylobacter* の分離状況. *保健科学研究*, 8(2): 1-5, 2018.
- 21) 渡辺雅人, 後藤元：特集／日常診療に役立つすりの選び方・使い方 抗菌薬の使い分け ニューキノロン系薬剤. *臨床と研究*, 86(5): 552-556, 2009.
- 22) 小澤真名緒：一動物用抗菌性物質を取り巻く現状（IV）—薬剤耐性機構. *日獣会誌*, 69, 713-717, 2016.
- 23) Konno T, Kashio H, *et al.*: Detection of a Quinolone Resistance Mutation in *gyrA* in *Escherichia albertii*. *Jpn J Infect Dis*, 73:83-84, 2020.
- 24) Li Q, Wang H, *et al.*: Mutidrug-resistant *Escherichia albertii*: Co-occurrence of β -Lactamase and MCR-1 Encoding Genes. *Front Microbiol*, 9: 1-8, 2018.
- 25) Asoshima N, Matsuda M, *et al.*: Isolation of *Escherichia albertii* from Raw Chicken Liver in Fukuoka City, Japan. *Jpn J Infect Dis*, 68: 248-250, 2015.
- 26) 高橋志保, 今野貴之, 他：秋田県内の環境水中からの *Escherichia albertii* の検出と分離株の性状. *日食微誌*, 37(2): 81-86, 2020.

【Original article】

Antibiotic Sensitivity in Emerging Pathogen *Escherichia albertii*

SHO YOSHIOKA^{*1} MASAHIKO ITHO^{*2} MASAHIRO ISOZAKI^{*3}
SEIKO TAMAI^{*4} SEISHIN TSUKIASHI^{*5} MIYUKI FUJIOKA^{*1}

(Received November 13, 2020 ; Accepted November 30, 2020)

Abstract: *Escherichia albertii* has attracts attention as a food poisoning pathogen. The biochemical properties and genetic characteristics of this bacterium are becoming clear, but many questions remain regarding its antibiotic sensitivity. Here, we investigated the antibiotic sensitivity of 72 *E. albertii* strains isolated from diarrhea stool specimens. In antibiotic sensitivity tests, erythromycin (EM), fosfomycin (FOM), ofloxacin (OFLX), ciprofloxacin (CPFX), and tetracycline (TC) were used with the disk diffusion method. As a result of this experiment, 67 strains were resistant and five strains were intermediate to EM. FOM was identified as effective against *E. albertii*, as all strains were FOM-sensitive. Therefore, it is necessary to consider the clinical application of FOM carefully. In addition, two strains were resistant to OFLX and CPFX, and ten strains were resistant to TC. In recent years, the number of bacteria resistant to quinolones, such as OFLX and CPFX, and TC have increased; thus, it was necessary to clarify which tolerance genes and resistance mechanisms against these drugs were present in the *E. albertii* strains evaluated in this study. It was also necessary to clarify the antibiotic sensitivity of *E. albertii* strains isolated from the environment, as antibiotic-resistant *E. albertii* strains were isolated from the environment.

Keywords: *Escherichia albertii*, antibiotic sensitivity, antimicrobial disk susceptibility tests, antimicrobial resistant bacteria