

[原 著]

尿路感染症例から分離された大腸菌のレボフロキサシン耐性と患者背景因子の解析

小倉健一・齊藤冬彦・鶴岡 全・齋藤生朗
(財)東京都保健医療公社 多摩南部地域病院 検査科

(平成 20 年 3 月 14 日受付, 平成 20 年 8 月 1 日受理)

2001 年 1 月から 2005 年 12 月までの 5 年間に, 多摩南部地域病院・泌尿器科外来を受診した症例の尿検体より分離された大腸菌を対象とし, その中の levofloxacin (LVFX) 耐性大腸菌の割合とその薬剤耐性パターン, および耐性菌分離例における背景因子について調べることを目的とした。本病院は多摩地域 5 市の地域医療支援病院として, 連携医からの紹介患者を主な対象としている二次医療機関である。総検査材料 811 検体から大腸菌 125 株が分離され, そのうちの 27 株が LVFX 耐性 (MIC: $\geq 4 \mu\text{g/ml}$) であった。耐性菌は年次的に少しずつ増加しており, 市中においても LVFX 耐性菌が増加しつつあることが示された。患者背景因子の解析では, 慢性疾患を有し, さらにキノロン薬の前投与歴のある症例が, LVFX 耐性大腸菌による尿路感染症に罹患しやすいことが統計学的に明らかにされた。

特定地域の医療を担う総合病院の細菌検査室においては, 一次医療機関において使用されている経口抗菌薬の各種細菌に対する耐性化動向を常に把握し, それらの成績を感染情報としてフィードバックすることが必要であると結論された。併せて, 地域全体の耐性菌分離状況を監視し, コントロールしていく必要もあると考える。

Key words: Levofloxacin 耐性, 大腸菌, 尿路感染症, 地域医療, 患者背景因子

序 文

ヒトの腸管内に常在する *Escherichia coli* (大腸菌) は臨床検査材料から比較的多く検出されるが, 特に, 泌尿器科領域における尿路感染症の原因菌として最も多く分離される細菌でもある。腸内細菌科の各属に幅広い抗菌スペクトルを有するキノロン系薬 (キノロン薬) は, 大腸菌にも優れた抗菌力と殺菌性を示すことから, 尿路感染症治療薬の第一選択薬として使用されることが多い¹⁾。

それに伴い, 近年, 本邦においてもキノロン薬に耐性を示す大腸菌の分離例が増加しつつあるとされる²⁻⁵⁾。このようなキノロン薬耐性化は, 標的遺伝子上の変異であることがすでに明らかにされているが⁶⁾, それらの遺伝子変異は菌が抗菌薬にさらされる

ことによって比較的容易に選択されるといわれている。したがって, 外来受診例であっても, キノロン薬が使用された既往歴を有する症例では, 腸管内に常在する大腸菌においてキノロン薬耐性菌が選択され, 持続して保菌された状態となり, 時にそれらの菌による尿路感染症が惹起されると考えられる。しかし, 外来患者由来の大腸菌について, LVFX 耐性化状況とそれらが分離された症例の背景因子, 特にキノロン薬の投与歴について解析した報告は少ないと思われる。

そのようなことから, われわれは, 所属する病院が一次医療機関 (開業医) からの紹介患者を受ける二次医療機関であるという特徴を活かし, 泌尿器科外来受診患者で尿路感染症と診断された症例から分離された大腸菌について, 原因菌と推定された株のみに限定し, levofloxacin (LVFX) 耐性化状況, 薬剤耐性パターン, そして LVFX 耐性菌の分離例における患者背景因子を明らかにしたいと考えた。

以下に, 得られた成績について報告する。

著者連絡先: (〒203-0036) 東京都多摩市中沢 2-1-2
(財)東京都保健医療公社 多摩南部地域病院 検査科
小倉健一
TEL: 042-338-5111 (内) 2254
FAX: 042-338-6111
E-mail: ogura@tamanan-hp.com

材料と方法

1. 検査材料

対象とした検査材料は、2001年1月から2005年12月までの5年間に、南多摩保健医療圏（日野市、町田市、多摩市、八王子市、稲城市）の連携医より、「尿路感染症疑い」で当病院の泌尿器科を紹介された症例から採取された尿検体である。5年間の総計は811件であった。同一患者からの重複菌株を除き、大腸菌125株が分離された。それらは、 10^5 cfu/ml以上の菌量と炎症反応を示す多核白血球が認められ、尿路感染症の原因菌と見なされた。

2. 菌種の同定と薬剤感受性の測定

菌種の同定と薬剤感受性の測定は、自動同定機器（MicroScan Walk/Away, NC5J パネル：DADE）を用いて行った。

感受性を測定した薬剤は、ampicillin (ABPC), piperacillin (PIPC), cefazolin (CEZ), cefotiam (CTM), cefotaxime (CTX), ceftazidime (CAZ), cefmetazole (CMZ), cefaclor (CCL), flomoxef (FMOX), sulbactam/cefoperazone (SBT/CPZ), ceftiofime (CPR), gentamicin (GM), amikacin (AMK), imipenem/cilastatin (IPM/CS), minocycline (MINO), sulfamethoxazole/trimethoprim 合剤 (ST 合剤), fosfomycin (FOM), levofloxacin (LVFX) の18薬剤とした。

LVFXのブレイクポイント (BP) は、CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) 法⁷⁾に準じ、2 μ g/ml以下を感性、4 μ g/ml以上を耐性とした。その他の薬剤に対する感性/耐性の判定もCLSIに準じ、*E. coli* ATCC 25922株を精度管理株として測定を行った。

なお、薬剤耐性パターンの集計は、上述したCLSIの判定で「I」あるいは「R」と判定されたものを集計した。その際、PIPCはABPCとほぼ同一の挙動のためABPCとして、またCTM, CMZ, FMOXに「R」と判定された1株はCTMのみで表した。つまり、LVFX, ABPC, CEZ, CTM, MINO, GM, ST, FOMの系統の異なる8薬剤で表記することにした。

3. 患者背景因子の検討

全125症例のうち、患者背景の調査が可能であったのは120症例であった。その内訳はLVFX耐性大腸菌の分離例が26例、LVFX感性の大腸菌分離例が94例であった。症例はLVFX感性菌と耐性菌が分離された2群に分け、患者背景因子として(i)年齢、(ii)性別、(iii)尿路感染症の急性、慢性の別、(iv)抗菌薬の投与歴とその種類の別を調査し、どのようなファクターがLVFX耐性菌の分離と関連性があるのかを統計的に解析した。

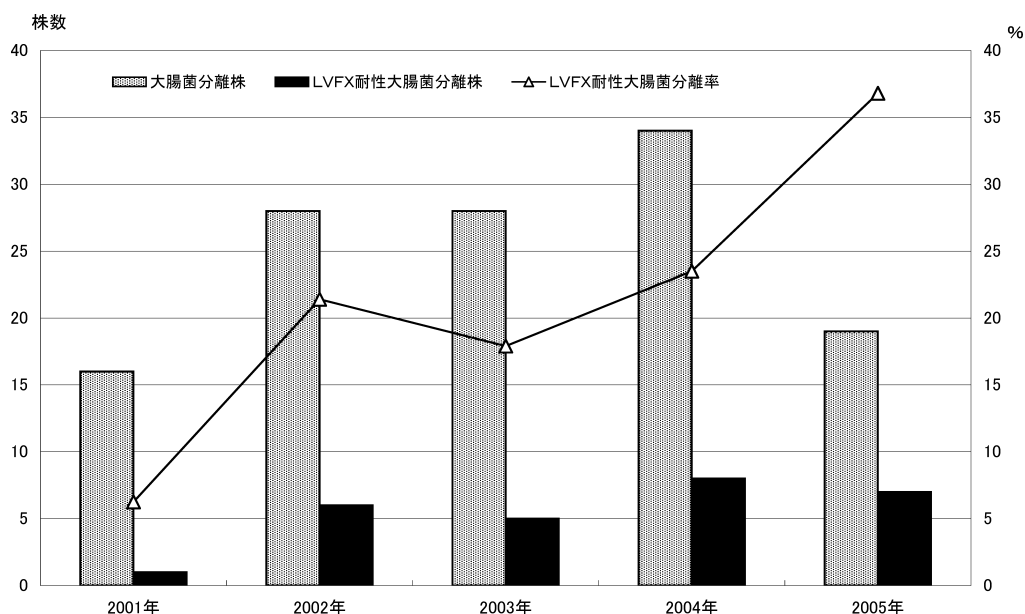


図1. 尿路感染症由来の尿検体から分離された大腸菌と levofloxacin 耐性株の割合

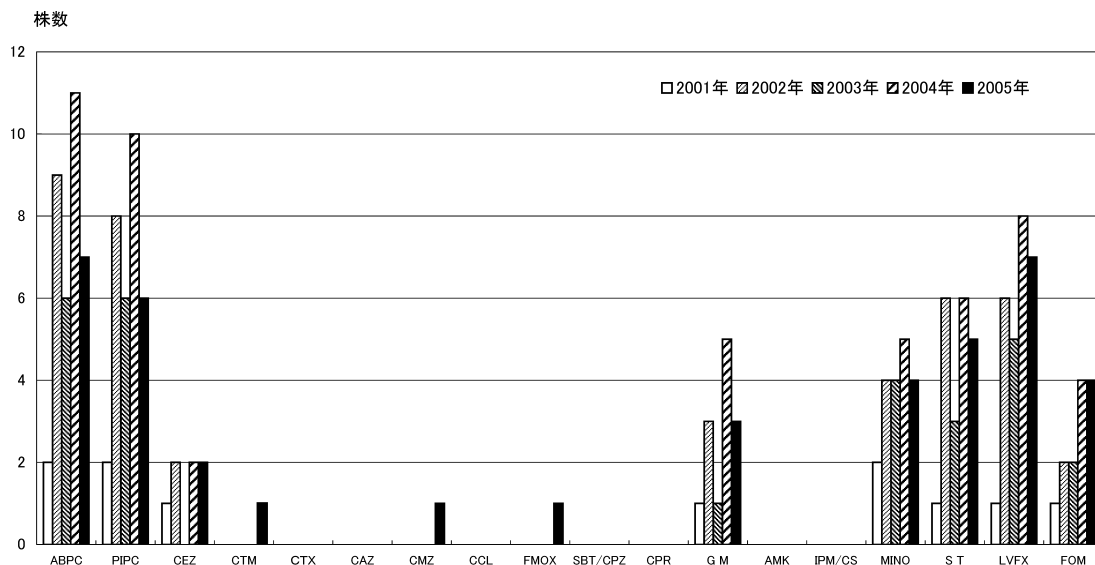


図 2. 尿路感染症由来の尿検体から分離された大腸菌における薬剤耐性化状況

結果

1. 年次別分離状況

対象期間の 5 年間に、尿路感染症が疑われた症例から採取された計 811 検体の尿検査材料が当微生物検査室において検査された。そのうち、大腸菌が原因菌と見なされたのは 125 検体 (13.4%) であった。

図 1 には、年次別に見た大腸菌の検出数と LVFX に耐性を示した大腸菌の検出数および割合を示す。年次別では、2001 年は 102 検体から 16 株 (15.7%), 2002 年は 165 検体から 28 株 (16.5%), 2003 年は 161 検体から 28 株 (17.4%), 2004 年は 219 検体から 34 株 (15.5%), 2005 年は 164 検体から 19 株 (11.6%), 合計 125 株であった。分離率は 5 年間にわたって 12% から 17% 前後で推移していた。

それらの菌株の中で LVFX に耐性を示した株は 27 株 (21.6%) 認められたが、2001 年は 1 株 (6.3%), 2002 年は 6 株 (21.4%), 2003 年は 5 株 (17.9%), 2004 年は 8 株 (23.5%), 2005 年は 7 株 (36.8%) と、経年的にその耐性率は増加傾向にあると判断可能であった。

2. 薬剤感受性と薬剤耐性パターン

MicroScan Walk/Away で測定を行った 18 薬剤について、年次的な耐性株数を図 2 に示す。耐性株が毎年分離された薬剤は、ABPC, PIPC, GM, MINO, ST 合剤, LVFX および FOM の 7 薬剤で、CTX, CAZ, CCL, SBT/CPZ, CPR, AMK, IPM/CS の 7 薬剤では、5 年間を通じ耐性株は 1 株も分離されなかった。

表 1. Levofloxacin 耐性大腸菌の薬剤耐性パターン

薬剤耐性パターン	菌株数 (%)
LVFX 耐性株	
LVFX, ABPC, CEZ, CTM, MINO, ST, FOM	2 (7.4)
LVFX, ABPC, CEZ, GM, MINO, ST	2 (7.4)
LVFX, ABPC, GM, MINO, ST	5 (18.5)
LVFX, ABPC, MINO, ST, FOM	2 (7.4)
LVFX, ABPC, GM, ST	5 (18.5)
LVFX, ABPC, ST	6 (22.2)
LVFX, MINO, ST	3 (11.1)
LVFX, GM	1 (3.7)
LVFX	1 (3.7)
Subtotal	27(100.0)

ABPC は PIPC に、CTM は CMZ と FMOX にも耐性を示す。

表 1 に LVFX 耐性株 (n=27) の薬剤耐性パターンについて集計した成績を示す。薬剤耐性パターンは、LVFX+ABPC に ST 合剤耐性も加わった 3 薬剤耐性が 6 株 (22.2%) と最も多く、次いで LVFX+ABPC+GM+ST の 4 薬剤耐性が 5 株 (18.5%), さらに MINO 耐性も加わった 5 薬剤耐性が 5 株 (18.5%) と、多剤耐性株が多数を占めた。LVFX 単独耐性は 1 株のみであった。

3. LVFX 耐性株が分離された患者背景因子

大腸菌が原因菌と見なされた外来症例について、i) 年齢, ii) 性別, iii) 尿路感染症の急性、慢性の別, iv)

表 2. LVFX 感性株と耐性株分離別の患者背景因子の比較

解析項目	区分	症例数	LVFX 感性菌 (n=94)	LVFX 耐性菌 (n=26)	p 値	Odds 比	95%信頼限界
年齢	≥65 歳	85	64	21	0.2079	1.9688	0.6697- 5.7874
	≤64 歳	35	30	5			
男女の別	女性	81	63	18	0.8314	1.1071	0.4295- 2.8538
	男性	39	31	8			
急性・慢性の別	慢性	40	26	14	0.0122*	3.0513	1.2370- 7.5265
	急性	80	68	12			
キノロン薬の使用歴	あり	21	8	13	0.0000**	10.7500	3.6979-31.2506
	なし	99	86	13			
キノロン薬以外の 抗菌薬使用歴	あり	14	9	5	0.3114	2.2487	0.6738- 7.5047
	なし	106	85	21			

*: $p < 0.05$ **: $p < 0.001$

キノロン薬およびその他の抗菌薬の前投与歴を調べ、LVFX 耐性菌が検出された群（耐性菌群）と LVFX 感性菌が検出された群（感性菌群）とに層別して、耐性菌分離例におけるリスクファクターの解析を行った。その結果を表 2 に示す。感性菌群の患者平均年齢は 68.0 歳、耐性菌群のそれは 69.3 歳で、65 歳以上と 64 歳以下の年齢についての有意差は認められなかった ($p=0.2079$)。また、対象例は男性に比べ明らかに女性が多かったが、感性菌群と耐性菌群の間には男女比に有意差は認められなかった ($p=0.8314$)。

一方、尿路感染症例でも急性疾患と記載されていた例と、慢性疾患（腎盂腎炎と記載された例と反復例を含む）とに層別して比較すると、 $p=0.0122$ となり、LVFX 耐性株は慢性疾患例から有意に検出される結果であった。Odds 比では 3.0513 となり、耐性菌群では感性菌群に比べそのリスクファクターは約 3 倍高いと算出された。

最も有意差の見られたのは、キノロン薬の前投与歴の有無であった。すなわち、耐性菌群ではその 50% に前投与歴が認められたのに対し、感性菌群では 8 例 (8.5%) にしか認められず、 $p=0.0000$ と明らかな有意差を認めた。Odds 比でも 10.7500 となり、キノロン薬の投与歴がある症例の LVFX 耐性菌の分離される確率は約 11 倍高いという結果であった。

キノロン薬以外の抗菌薬、すなわち β -ラクタム系薬などの前投与歴は 14 例に認められたが、LVFX 耐性菌群と感性菌群との間に有意差は認められなかった ($p=0.3114$)。

考 察

本研究は、2001 年から 2005 年までの 5 年間にわたり、当病院泌尿器科外来を受診した尿路感染症例から分離された大腸菌を対象として、LVFX 耐性大腸菌の分離状況とその薬剤耐性パターンについて解析し、さらにそれらの耐性菌が分離されるリスクファクターについて、前投与薬剤との関連性を中心に検討したものである。

本病院は、地域の一次医療機関である開業医（連携医）からの紹介患者を主として対象とする地域密着型の二次医療機関であることから、紹介による外来受診患者における LVFX 耐性化状況、その他の抗菌薬耐性化状況、さらには症例の背景因子を調べることにより、市中での LVFX 耐性大腸菌による感染症のリスクファクターが明らかにできるのではないかと考えた。

わが国におけるキノロン薬耐性大腸菌の分離動向は、山口や吉田らによって隔年的に全国規模で調査されてきている。それらの成績を見ると、山口ら²⁾は、1996 年が 2.5~2.8%、1998 年は 3.3~4.7%、2000 年は 8.1~9.5%、2002 年は 11.8~12.6% と、6 年間で約 6 倍に上昇したと報告している。吉田らも 1998 年³⁾には 7.7%、2000 年⁴⁾には 7.9%、2002 年⁵⁾には 14.2% と報告している。両成績を見ると、2002 年以降に耐性菌の分離頻度が 10% を上回り、しだいに増加傾向にあることが認められている。同様に、石川ら⁸⁾は 2002 年度に大学病院の泌尿器科を受診した症例より分離された大腸菌において、15% がキノロン薬耐性であったと報告している。

一方、海外での尿路感染症における LVFX 耐性大

腸菌の分離動向に関しての報告⁹⁾では、欧州の分離率の低い国では1~2%台、高い国で5~14%となっている。米国においても、CPF_X、あるいはLVF_X耐性大腸菌は、それぞれ5.5%と5.1%との報告¹⁰⁾が見られ、わが国のみならず、世界的に大腸菌のキノロン薬耐性化が進行していると推定される。ただし、耐性率に差が見られるは、それぞれの国によって抗菌薬の使用量とその使用方法の違い、あるいは疫学解析の対象の違いによるものではないかと推察される。

結果に示したように、われわれの成績においても、菌株数は少ないものの、外来受診例の尿路感染症におけるLVF_X耐性大腸菌分離状況も、2000年以降に増加傾向にあることが示された。また、LVF_X耐性菌の場合には、ABPCを含むそれ以外の抗菌薬に対しても耐性の場合の多いことも示された。

LVF_X耐性菌分離例と感性菌分離例の背景因子の解析では、慢性化した尿路感染症例においてキノロン薬の前投与歴がある症例は、それ以外の症例に比べLVF_X耐性菌の分離される頻度がOdds比で3~10倍高いことが統計学的に示された。このことは、外来症例に対し、キノロン薬が繰り返し処方されていると、腸管内においてキノロン薬の標的である遺伝子上に変異を生じた耐性菌が容易に選択され、時にそれが感染症の原因菌になりうることを示唆している。また、LVF_X耐性株は多剤耐性化傾向の強いことも明らかにされた。慢性の尿路感染症、あるいは尿路感染症を繰り返す症例においては、原因菌とその感受性を調べ、感受性のある抗菌薬を選択して治療することが望まれる。

なお、今回対象となった大腸菌は、全株がCTX感受性であり、ESBL産生株と思われる株は見いだされなかった。しかし、キノロン薬耐性大腸菌の中には、同時にESBL産生株が存在し、さらに多剤耐性化傾向を示すことが報告されている¹¹⁾。今後、治療薬選択に対しては、外来診療においても十分な注意が必要であろう。

最後に、地域医療全体で耐性菌を増やさないためにも、ここで述べたキノロン薬耐性菌に関する情報は、院内の医療関係者のみならず、本病院の連携医へフィードバックすることが重要である。

謝辞 最後に稿を終えるにあたり、論文作成のご指導・ご校閲をいただきました北里大学北里生命科学研究所大学院感染制御科学府 教授 生方公子先生、な

らびに同研究室の皆様にご心より感謝申し上げます。

文 献

- 1) 松本哲朗. 2002. 抗菌薬使用の手引き. p.76-82, 編集 日本感染症学会 日本化学療法学会, 協和企画, 東京.
- 2) Yamaguchi, K., A. Ohno, 2005. Investigation of the susceptibility trends in Japan to fluoroquinolones and other antimicrobial agents in a nationwide collection of clinicates: A longitudinal analysis from 1994 to 2002. *Diagn. Microbial. Infect. Dis.* 52: 135-143.
- 3) 吉田 勇, 東山伊佐夫, 木村美司, 他. 2000. 各種抗菌薬に対する臨床分離株の感受性サーベイランス. その2. 1998年分離グラム陰性菌. *日本化学療法学会雑誌* 48: 610-632.
- 4) 吉田 勇, 杉森義一, 東山伊佐夫, 他. 2003. 各種抗菌薬に対する臨床分離株の感受性サーベイランス. 2000年分離グラム陰性菌に対する抗菌力. *日本化学療法学会雑誌* 51: 209-232.
- 5) 吉田 勇, 藤村享滋, 地主 豊, 他. 2006. 各種抗菌薬に対する2002年臨床分離株好気性グラム陰性菌の感受性サーベイランス. *日本化学療法学会雑誌* 54: 355-377.
- 6) Mazzariol, A., Y. Tokue, T. M. Kanegawa, et al. 2000. High-level fluoroquinolone-resistant clinical isolates of *Escherichia coli* overproduce multidrug efflux protein AcrA. *Antimicrob. Agents and Chemother.* 44: 3441-3443.
- 7) Clinical and Laboratory Standards Institute. 2005. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 15th informational supplement CLSI/NCCLS M100-S15. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa, USA.
- 8) 石川清仁, 早川 敏, 宮川真三郎, 他. 2003. 2002年度尿中分離菌の各種抗菌薬に対する感受性. *日本化学療法学会雑誌* 51: 638-646.
- 9) Kahlmeter, G. 2003. An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infection: ECO-SENS Project. *J. Antimicrob. Chemother.* 51: 69-76.
- 10) Zhanel, G., T. Hisanaga, N. Laing, et al. 2006. Antibiotic resistance in *Escherichia coli* outpatient urinary isolates: Final results from the North American Urinary Tract Infection Collaborative Alliance (NAUTICA). *Int. J. of Antimicrob. Agents* 27: 468-475.
- 11) 高橋康一, 村谷哲郎, 飯塚清隆, 他. 2002. 尿路感染症より分離される抗菌薬耐性菌 (ニューキノロンおよびセフェム耐性菌) の治療. *西日本泌尿器学会誌* 64: 295-301.

The Analysis of Levofloxacin-resistant *Escherichia coli* Isolated from the Patients of Urinary Tract Infections and Their Background Factors

Ken-ichi Ogura, Fuyuhiko Saito, Akira Turuoka, Ikuo Saito
Department of Clinical Laboratory, Tama-Nambu Chiiki Hospital

The objective of this study is to investigate the prevalence of levofloxacin (LVFX) resistant *Escherichia coli*, its drug-resistance pattern, and the background factors on resistant bacteria isolation for *Escherichia coli* isolated from urine specimens of the patients visited outpatient department of Urology, Tama-Nambu Chiiki Hospital for 5 years from January 2001 to December 2005. As the regional medical support hospital for 5 cities in Tama region, this hospital is the secondary medical institute and mainly accepts referral patients by registered physicians. 125 strains of *Escherichia coli* out of total 811 testing specimens were isolated and 27 strains among them were found to be LVFX-resistant (MIC: $\geq 4 \mu\text{g/ml}$) It was shown that resistant bacteria were gradually increased year by year and LVFX resistant bacteria, even in the community, were also increasing. The analysis of patients background factors statistically clarified that the patients with chronic diseases and the history of prior administration of quinolone drug had the tendency to be easily affected urinary tract infection due to LVFX resistant *Escherichia coli*.

In conclusion, the microbiology laboratory at a general hospital assuming medical treatment for the specific region should always grasp the trend of bacterial resistance of oral antibiotics frequently used at the primary medical institute and give feedback those results as the infectious information. At the same time, we feel obligated to monitor and control the isolation status of resistant strains in the whole region.