



Emergence of fluoroquinolone-resistant strains of *Salmonella enterica* in Surabaya, Indonesia

柳, 大介

(Degree)

博士 (医学)

(Date of Degree)

2012-03-25

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲5446

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/D1005446>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(課程博士関係)

学位論文の内容要旨

Emergence of fluoroquinolone-resistant strains of

Salmonella enterica in Surabaya, Indonesia

インドネシア、スラバヤにおけるサルモネラ菌の

フルオロキノロン耐性株の出現

神戸大学大学院医学研究科医科学専攻

感染制御学

(指導教員：川端真人教授)

柳 大介

腸チフスはチフス菌によって引き起こされる全身性の炎症性疾患である。腸チフスは特に途上国においては依然として重大な健康問題となっている。2000年に腸チフスは全世界で約2160万人の罹患者と約21万人の死者を出したと推定されており、その90%以上はアジアに集中している。途上国で腸チフスの多くは細菌培養設備のない施設で診断と治療をされている。診断は他の熱性疾患と鑑別が難しい臨床徴候に基づいて行われることが多く、微生物学的検査や薬剤感受性の情報がない状況で治療が行われている。1948年にクロラムフェニコールが腸チフスの治療薬として導入されて死亡率は1%未満に減少したが、1972年にはクロラムフェニコール耐性菌が出現し始めた。クロラムフェニコール、アンピシリン、トリメトプリムに耐性を示す多剤耐性菌が1989年に出現して以来、シプロフロキサシンのようなフルオロキノロンが腸チフスに対する第一選択薬となった。しかし、フルオロキノロンの普及と乱用によりナリジク酸に耐性やフルオロキノロンに対する感受性低下を示すチフス菌の出現が報告されるようになった。ヨーロッパ、アジア、アフリカからフルオロキノロンでの治療失敗の報告もされるようになってきた。感染症を治療する際に抗菌薬の感受性の経時的変化を知ることが極めて重要である。しかしながら、他の腸チフス流行国と比較してもインドネシアでの薬剤耐性チフス菌の分布に関する報告はほとんどみられない。

インドネシアのジャカルタで1995年から2003年まで行った複数の調査ではチフス菌はナリジク酸とシプロフロキサシンを含む抗菌薬に対して感受性を認めたと報告があるが、ジャカルタ以外の地域での報告はほとんどない。この研究ではインドネシアのスラバヤで収集した腸チフス菌の17菌株(2006年の9菌株、2008年の8菌株)について抗菌薬に対する薬剤感受性を調査した。

キノロン耐性にはDNAジャイレースやDNAトポイソメラーゼIVをコードする遺伝子が関与していると報告されている。その中でもgyrA遺伝子の変異は最もキノロン耐性を生じることから、フルオロキノロン感受性低下の指標として使用できると考えられている。この研究ではこれまで多くの研究で示されてきたようにgyrAのコドン83と87における変異を調査した。

17菌株(2006年の菌株、2008年8菌株)はインドネシアのスラバヤで患者から収集された。

患者から得られた検体はサルモネラシグラ培地で培養し、コロニーはサルモネラ抗血清を用いて血清学的に同定した。ディスク法によりアンピシリン、ナリジク酸、レボフロキサシン、シプロフロキサシン、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、セフトリアキソン、イミペネム、ST 合剤の 9 剤に対する薬剤感受性試験を行い、O9 群陽性の菌株に関しては DNA を抽出した。DNA 抽出までをスラバヤで行い、その後 DNA はさらなる分析のために日本に持ち帰った。まず DNA サンプルは PCR 法を用いてチフス菌であることを確認した。次に、gyrA を含む断片を PCR 法で増幅し、PCR 産物（195 bp）を制限酵素 Hinf I を用いて切断する PCR-RFLP 法による gyrA 遺伝子の変異の検索、変異のあったものに関しては塩基配列決定のためにシーケンスを行った。

薬剤感受性試験の結果は 2006 年の 9 菌株はすべて調査した抗菌薬に対して感受性があり、gyrA 遺伝子の変異も認めなかったのに対して、2008 年の 8 菌株はすべてナリジク酸とアンピシリンに対する耐性と gyrA 遺伝子のコドン 87 に変異を認めた。加えて、2008 年の 8 菌株中 3 菌株はクロラムフェニコール、ST 合剤、シプロフロキサシンに多剤耐性を示した。gyrA 遺伝子の変異はすべてコドン 87 に生じており、GAC (Asp) → TAC (Tyr) であった。

WHO の報告によるとジャカルタで 2002 年から 2003 年の間では調査したアンピシリン、ナリジク酸、シプロフロキサシン、クロラムフェニコール、ST 合剤を含む抗菌薬すべてに感受性を示したが、この研究の結果はインドネシアのスラバヤにおいてフルオロキノロン耐性チフス菌とアンピシリン、クロラムフェニコール、ST 合剤のような古い薬剤に対する多剤耐性菌が同時に出現しているという深刻な問題を表している。このことはスラバヤで腸チフスに対する抗菌薬を選択する際に重大な問題である。このような状況においてセフトリアキソン、セフィキシム、アジスロマイシンのような新しい薬剤は有効だと思われるが、高価なために使用は限られる。そこで定期的に抗菌薬に対する感受性の経時的変化を調査し、実際に治療に従事する医師に推奨される抗菌薬に関する情報を提供することで無効な抗菌薬による治療を防ぎ、薬剤耐性の出現を遅らせることが出来ると考える。

この研究はシプロフロキサシン耐性を含む多剤耐性チフス菌が 2008 年にスラバヤで出現したことを示している。この結果によると、細菌検査があまり

行われないスラバヤにおいてはもはやシプロフロキサシンを使用すべきではないことを強く示している。この研究はインドネシアにおける薬剤耐性チフス菌の出現に関する最初の報告である。薬剤感受性試験を含む細菌学的検査はスラバヤでの腸チフス治療の抗菌薬選択に非常に重要である。

論文審査の結果の要旨			
受付番号	甲 第2241号	氏 名	柳 大介
論文題目 Title of Dissertation	Emergence of fluoroquinolone-resistant strains of <i>Salmonella enterica</i> in Surabaya, Indonesia インドネシア、スラバヤにおけるサルモネラ菌のフルオロキノロン耐性株の出現		
審査委員 Examiner	主 査 森 康子 Chief Examiner 副 査 西尾 久英 Vice-examiner 副 査 荒川 創一 Vice-examiner		

(要旨は1,000字～2,000字程度)

腸チフスはチフス菌によって引き起こされる全身性の炎症性疾患である。腸チフスは特に途上国においては依然として重大な健康問題となっている。2000年に腸チフスは全世界で約2160万人の罹患者と約21万人の死者を出したと推定されており、その90%以上はアジアに集中している。途上国で腸チフスの多くは細菌培養設備のない施設で診断と治療をされている。診断は他の熱性疾患と鑑別が難しい臨床徴候に基づいて行われることが多く、微生物学的検査や薬剤感受性の情報がない状況で治療が行われている。1948年にクロラムフェニコールが腸チフスの治療薬として導入されて死亡率は1%未満に減少したが、1972年にはクロラムフェニコール耐性菌が出現し始めた。クロラムフェニコール、アンピシリン、トリメトプリムに耐性を示す多剤耐性菌が1989年に出現して以来、シプロフロキサシンのようなフルオロキノロンが腸チフスに対する第一選択薬となった。しかし、フルオロキノロンの普及と乱用によりナリジク酸に耐性やフルオロキノロンに対する感受性低下を示すチフス菌の出現が報告されるようになった。ヨーロッパ、アジア、アフリカからフルオロキノロンでの治療失敗の報告もされるようになってきた。感染症を治療する際に抗菌薬の感受性の経時的変化を知ることは極めて重要である。しかしながら、他の腸チフス流行国と比較してもインドネシアでの薬剤耐性チフス菌の分布に関する報告はほとんどみられない。

インドネシアのジャカルタで1995年から2003年まで行った複数の調査ではチフス菌はナリジク酸とシプロフロキサシンを含む抗菌薬に対して感受性を認めたと報告があるが、ジャカルタ以外の地域での報告はほとんどない。この研究ではインドネシアのスラバヤで収集した腸チフス菌の17菌株(2006年の9菌株、2008年の8菌株)について抗菌薬に対する薬剤感受性を調査した。

キノロン耐性にはDNAジャイレースやDNAトポイソメラーゼIVをコードする遺伝子が関与していると報告されている。その中でもgyrA遺伝子の変異は最もキノロン耐性を生じることから、フルオロキノロン感受性低下の指標として使用できると考えられている。この研究ではこれまで多くの研究で示されてきたようにgyrAのコドン83と87における変異を調査した。

17菌株(2006年の菌株、2008年8菌株)はインドネシアのスラバヤで患者から収集された。患者から得られた検体はサルモネラシグラ培地で培養し、コロニーはサルモネラ抗血清を用いて血清学的に同定した。ディスク法によりアンピシリン、ナリジク酸、レボフロキサシン、シプロフロキサシン、テトラサイクリン、クロラムフェニコール、セフトリアキソン、イミペネム、ST合剤の9剤に対する薬剤感受性試験を行い、O9群陽性の菌株に関してはDNAを抽出した。DNA抽出までをスラバヤで行い、その後DNAはさらなる分析のために日本に持ち帰った。まずDNAサンプルはPCR法を用いてチフス菌であることを確認した。次に、gyrAを含む断片をPCR法で増幅し、PCR産物(195bp)を制限酵素HinfIを用いて切断するPCR-RFLP法によるgyrA遺伝子の変異の検索、変異のあったものに関しては塩基配列決定のためにシーケンスを行った。

薬剤感受性試験の結果は2006年の9菌株はすべて調査した抗菌薬に対して感受性があり、gyrA遺伝子の変異も認めなかったのに対して、2008年の8菌株はすべてナリジク酸とアンピシリンに対する耐性とgyrA遺伝子のコドン87に変異を認めた。加えて、2008年の8菌株中3菌株はクロラムフェニコール、ST合剤、シプロフロキサシンに多剤耐性を示した。gyrA遺伝子の変異はすべてコドン87に生じており、GAC(Asp)→TAC(Tyr)であった。

WHO の報告によるとジャカルタで2002年から2003年の間では調査したアンピシリン、ナリジク酸、シプロフロキサシン、クロラムフェニコール、ST 合剤を含む抗菌薬すべてに感受性を示したが、この研究の結果はインドネシアのスラバヤにおいてフルオロキノロン耐性チフス菌とアンピシリン、クロラムフェニコール、ST 合剤のような古い薬剤に対する多剤耐性菌が同時に出現しているという深刻な問題を表している。このことはスラバヤで腸チフスに対する抗菌薬を選択する際に重大な問題である。このような状況においてセフトリアキソン、セフィキシム、アジスロマイシンのような新しい薬剤は有効だと思われるが、高価なために使用は限られる。そこで定期的に抗菌薬に対する感受性の経時的变化を調査し、実際に治療に従事する医師に推奨される抗菌薬に関する情報を提供することで無効な抗菌薬による治療を防ぎ、薬剤耐性の出現を遅らせることが出来ると考える。

この研究はシプロフロキサシン耐性を含む多剤耐性チフス菌が2008年にスラバヤで出現したことを示している。この結果によると、細菌検査があまり行われないスラバヤにおいてはもはやシプロフロキサシンを使用すべきではないことを強く示している。この研究はインドネシアにおける薬剤耐性チフス菌の出現に関する最初の報告である。薬剤感受性試験を含む細菌学的検査はスラバヤでの腸チフス治療の抗菌薬選択に非常に重要である。