

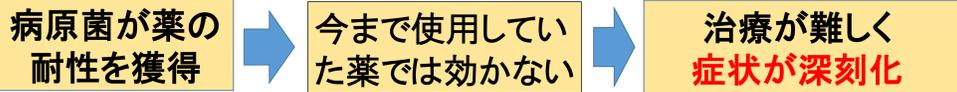
東京都内の河川等から分離される薬剤耐性菌－耐性薬剤とその分布－

岩井拓海* 金子直樹* 蜂谷真基** 小山優花* 松田友花* 西川可穂子**

* 中央大学・法, ** 中央大学・商

研究の背景

・薬剤耐性とは、治療目的に使用される抗菌剤が有効でなくなることを指し、世界的には、細菌、ウイルス、真菌、寄生虫などが問題となっている。



世界各国で問題となっているのは、院内感染による薬剤耐性菌である。複数の抗菌薬に耐性を持つ多剤耐性菌の存在が脅威となっており、社会問題となっている

入院期間の延長 医療費の増大 死亡率の上昇

<環境における薬剤耐性菌研究>

・臨床における薬剤耐性菌の研究報告数が多い。2014年には、3,000件を超える報告があった。一方、河川における薬剤耐性菌の報告は2016年には、400件を超える程度の報告数であった。その上、多くは中国や発展途上国などの報告であり、日本における水環境中の薬剤耐性菌の研究例は圧倒的に少ない*1

研究の目的

本研究では、あまり調査されていない一般市民がアクセスできる身近な水環境での環境菌について薬剤耐性の現状を調査することを目的とした。

・対象地域 東京都内を中心とした全20か所



ST2:琵琶湖 ST3:針江 ST4:不忍池 ST5:雲場池 ST6:井の頭公園 ST8:善福川 ST9:多摩川 ST10:根川 ST11:浅川 ST12:排水口流入点(多摩川) ST13:派川合流域(多摩川) ST14:派川上流(多摩川) ST15:目黒川 ST16:新宿御苑 ST17:乞田川 ST18:多摩センター ST19:葛西臨海公園(上の池) ST20:葛西臨海公園(蓮池) ST21:新横浜公園 ST22:入江川 *比較のため地方(ST2,3,5)も加えた

・調査方法



・薬剤感受性テスト(薬剤耐性)

Muller Hinton培地に単離した菌を塗布し、薬剤ディスクを置いて、一晚37°Cで培養した。薬剤として以下の6種:amikacin, 30 µg (AN30); tetracycline, 30 µg (TE30); ampicillin with sulbactam, 10/10 µg (SAM20); levofloxacin, 5 µg (LVX5); imipenem, 10 µg (IPM10); clarithromycin, 15 µg (CLR15)を使用した。薬剤ディスクの周囲の阻止円を測定し、薬剤感受性の強さを判定した。薬剤感受性の判定はCLSIガイドライン(2015)を採用した*2

結果

表1. 調査地点ごとの試験成績

調査地点	単離菌数	TE30	SAM20	AM30	LVX5	IPM10	CLR15
St2	4		● (4)	● (3)			● (2)
St3	1			● (1)			● (1)
St4	5	● (1)	● (2)			● (1)	● (1)
St5	4		● (3)	● (1)			● (2)
St6	3		● (1)		● (1)		● (1)
St8	3	● (1)	● (3)	● (1)			● (2)
St9	4		● (2)				● (1)
St10	3		● (1)				● (2)
St11	4						● (2)
St12	3		● (3)				● (2)
St13	3		● (1)				● (2)
St14	2	● (1)	● (2)				
St15	3				● (2)		● (1)
St16	4	● (1)	● (4)	● (1)	● (2)		● (1)
St17	3		● (3)				● (2)
St18	4		● (4)				● (4)
St19	8	● (1)	● (2)				● (2)
St20	6		● (4)				● (5)
St21	7	● (2)	● (6)	● (1)		● (1)	● (4)
St22	12	● (7)	● (12)	● (2)		● (3)	● (9)
合計	86	14	55	10	5	5	46
耐性検出率 (%)		16.3	64.0	11.6	5.8	5.8	53.5

●は耐性菌が検出された地点、()内の数字は耐性菌の数を示す

- 全調査地点からの分離株は86株となった。
- 20か所すべての調査地点において、試験薬剤の内、少なくとも1剤以上に耐性がある菌が検出された(100%検出率)。調査地点別にみると、SAMは17か所(85%)、CLR15は19か所(95%)で耐性菌が検出され、高い検出率となった。
- 分離した86株の中で、最も耐性菌が多かった薬剤は、SAM20で55株耐性(約64%)、次いでCLR15で46株耐性(約54%)となった。また、二剤以上に耐性を持つ菌も42株あり、表2に詳細を示す

表2. 二剤以上に薬剤耐性を示す耐性菌

薬剤1	薬剤2	薬剤3	薬剤4	耐性株数
SAM20	CLR15			21
SAM20	CLR15	AN30		2
SAM20	CLR15	TE30		6
SAM20	CLR15	TE30	LVX5	1
SAM20	CLR15	TE30	IPM10	2
SAM20	CLR15	TE30	AN30	2
SAM20	IPM10			3
SAM20	TE30			1
SAM20	TE30	AN30		2
SAM20	AN30	LVX5		1
CLR15	AN30			1
			合計	42

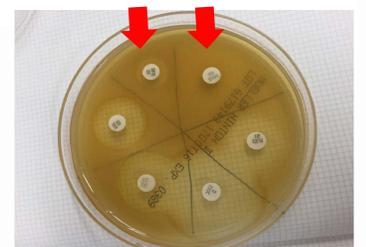


図1. 二剤に耐性を示した試験例

- 採取した全86株のうち、2つ以上の薬剤に耐性をもつものは42株あり、全体の49%に及ぶ。また3つ以上に耐性を持つ菌が16株(8%)、4つ以上では5株(6%)検出された

表3. 本研究で使用した薬剤のWHOのクライテリア(抜粋)*3

WHOによる分類	薬剤の系統	薬剤
critically important	Macrolides and ketolides	クラリスロマイシン (CLR15)
critically important	Quinolones	レボフロキサシン (LVX)
critically important	Aminoglycosides	アミカシン (AN)
critically important	Carbapenems and other penems	イミペネム (IPM)
critically important	Penicillins (natural, aminopenicillins, and antipseudomonal)	アンピシリン・スルバクタム (SAM)
highly important	Tetracyclines	テトラサイクリン (TE)
important	該当薬剤なし	該当薬剤なし

- WHOは臨床において重要な抗菌剤を3つに分類している(表3)。薬剤耐性が深刻な薬剤を”Critically important”と分類しており、本調査で耐性が確認された薬剤も5つが該当し、もう一つは”Highly important”に該当した。

まとめ

本研究における薬剤感受性試験結果から、環境菌における薬剤耐性菌の存在を確認できた。特に、アンピシリン(SAM)とクラリスロマイシン(CLR)の耐性獲得率が高い。アンピシリンは50年以上、クラリスロマイシンは25年以上という長い期間、日本の臨床で使用されてきた。また、両剤とも抗菌スペクトラムが広いため、よく使用されていた薬剤である。特に、クラリスロマイシンは半合成の抗菌剤であり、自然界にそのままの形で存在しない。このため、環境中から検出された薬剤耐性は、人の使用による人為的な汚染による影響が考えられる。

本研究の調査では、環境菌における薬剤耐性の広がりは予想以上であった。しかし、調査数がまだまだ少ないため、人への健康リスクを評価するためにも環境中の耐性菌の分布の確認を今後も継続することが重要である。

<参考文献>

- *1 西川「環境中に拡散する薬剤耐性菌」～どうして川や池に存在するのか～ In press, “中央大学論集第39号”
- *2 Clinical and Laboratory Standards Institute (2015). 10th edn, Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically: Approved Standard M07-A10. CLSI, Wayne, PA, USA.
- *3 WHO Critically Important Antimicrobials for Human Medicine 5th revision Advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance (AGISAR) October 2016