

原著

男性外来患者における基質特異性拡張型 β-ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌の直腸内長期間保菌について

窪亜紀¹⁾ 川端舞香¹⁾ 川村研二²⁾ 古木孝二¹⁾ 谷内正人¹⁾ 二川真子³⁾
井上慎也⁴⁾ 中澤佑介⁴⁾ 山本詩織⁵⁾

¹⁾ 恵寿総合病院 臨床検査課 ²⁾ 恵寿総合病院 泌尿器科 ³⁾ 恵寿総合病院 家庭医療科
⁴⁾ 金沢医科大学 泌尿器科 ⁵⁾ 国立医薬品食品衛生研究所

【要約】

【はじめに】現在まで、入院患者における基質特異性拡張型 β-ラクタマーゼ (extended-spectrum β-lactamase : ESBL) 産生菌の長期保菌についての報告は散見されるが、健常人・外来通院患者の ESBL 産生菌の長期保菌期間についての報告はない。男性外来患者について、ESBL 産生菌の直腸内保菌期間を検討した。

【対象と方法】恵寿総合病院において前立腺特異抗原 (prostate-specific antigen: PSA) 高値で直腸培養、尿培養を施行し、直腸培養で ESBL 産生大腸菌が検出された外来男性通院患者 10 例 (PSA 高値 7 例、前立腺癌疑い 1 例、急性細菌性前立腺炎 2 例、年齢中央値 73.5 歳、範囲 59–88 歳) を対象とした。患者は定期通院に合わせて、尿培養と直腸培養を施行した。培養は ESBL スクリーニング寒天培地を用いた。

【結果】観察期間の中央値は 34 ヶ月 (範囲 : 25–41 ヶ月) であり、直腸培養回数中央値は 7.5 回 (範囲 : 6–13 回) であった。全例で尿培養では ESBL 産生菌は検出されず、直腸培養でのみ ESBL 産生菌が検出された。陰性化例は 10 例中 6 例 (60%) であり、4 例は初診時または 2 回目まで ESBL 産生大腸菌が検出され、その後陰性化した。1 例は 12 ヶ月間 ESBL 産生大腸菌を継続的に検出したが、その後 41 ヶ月目まで陰性化、1 例は 8 ヶ月目まで ESBL 産生大腸菌を検出、その後 2 回の陰性を経て 18 ヶ月目に直腸培養で ESBL 産生 *Klebsiella pneumoniae* を 1 回のみ検出、その後 34 ヶ月まで陰性化した。陽性継続例は 10 例中 4 例 (40%) であり、陽性継続期間は 12, 20, 25, 29 ヶ月間であった。陰性化例、陽性継続例の比較では、手術歴 ($P=0.571$)、糖尿病の有無 ($P=0.999$)、検出前の抗菌薬投与 ($P=0.524$)、検出後の抗菌薬投与 ($P=0.133$) に有意差を認めなかった。

【結語】重篤な基礎疾患のない外来通院患者でも、長期間、直腸内に ESBL 産生菌を保有する群が存在していることが明らかとなった。今後、生体内における ESBL 産生菌の遺伝動態等に関するさらなる研究が必要である。

Key Words : ESBL産生菌, 直腸内長期間保菌, 外来患者

【はじめに】

1980 年代に最初に報告された基質特異性拡張型 β-ラクタマーゼ (extended-spectrum β-lactamase : ESBL) 産生菌は、世界的に臨床材料から分離される

ようになり¹⁻⁴⁾、我々は ESBL 産生菌が長期尿道カテーテル留置例の約 20~30%、急性単純性膀胱炎の約 3~7%に分離されることを報告した⁵⁻⁸⁾。近年本邦では、ESBL 産生菌は健常人及び医療者の糞便か

らも5-10%前後検出されると報告されている⁹⁻¹²⁾。*Escherichia coli* (*E. coli*)や*Klebsiella pneumoniae* (*K.pneumoniae*)などの腸内細菌科に属する菌は、ヒトの腸管に常在する代表的な菌種であり、糞便から検出された場合、常在菌として扱われることが多く、感受性試験は行わないためESBL産生菌であっても確認できないのが現状である¹²⁾。ESBLのβラクタマーゼは伝達性のプラスミド上に存在し、グラム陰性桿菌に容易に伝播するため、感染は院内だけではなく、市中でも問題になっている¹¹⁾¹²⁾。また、ESBL産生菌の検出頻度は病院ごと、国・地域ごとに異なっており、ESBL産生菌保有の危険因子が報告されている³⁾⁴⁾¹⁰⁾。重症入院患者でのESBL産生菌の長期保菌については、ESBL産生菌検出24ヵ月後で約30%の患者でESBL産生菌保菌状態が継続したとの報告¹⁾、ESBL産生菌保菌状態が42例中12%の患者で約58ヵ月間継続したとの報告²⁾がある。これらの報告はいずれも入院重症患者での検討であり、健常人または外来通院患者におけるESBL長期保菌についての報告は我々が検索した限りでは報告されていない。

今回、前立腺特異抗原 (prostate-specific antigen: PSA) 高値の男性外来患者において、ESBL産生菌の直腸内保菌期間について検討したので報告する。

【対象と方法】

2012年12月から2018年3月までに恵寿総合病院においてPSA高値で直腸培養、尿培養を施行し、直腸培養でESBL産生大腸菌が検出された外来男性通院患者10例 (年齢中央値73.5歳、範囲59-88歳) を対象とした。患者は定期通院に合わせて、尿培養と直腸培養を施行した。患者から得られた直腸スワブをバイタルメディアESBLスクリーニング寒天培地 (極東製薬工業) で培養した¹³⁾。PSA高値の原因としては、前立腺癌疑い8例、急性細菌性前立腺炎2例であった。ESBL培地に発育し腸内細菌科と同定された菌についてESBL産生確認試験を行った。CPXとESBL-CPX/CVA‘栄研’、CAZとESBL-CAZ/CVA‘栄研’、CTXとESBL-CTX/CVA‘栄研’、CPRとESBL-CPR/CVA‘栄研’を用い、完全に菌の発育が阻止され

ている阻止円直径を計測・比較し、単独薬剤ディスクの阻止円直径とクラブラン酸 (CVA) を添加含有した薬剤ディスクの阻止円直径に5mm以上の差が認められた場合、ESBL産生菌と判定した。尿培養はESBLスクリーニング寒天培地を用いず、通常の培養検査を行い細菌数が 1×10^4 /ml以上を陽性とした。

尿培養と直腸培養の再検は、初診1~2ヵ月後から継続的に行い、初診後1年以上の検査継続を目標とした。

ESBL産生菌保有の定義は、尿培養または直腸培養がESBL産生菌陽性であることとした。ESBL産生菌陰性化の基準は、Papstら¹⁾の報告に従い、尿培養と直腸培養で3回連続ESBL産生菌陰性、かつESBL産生菌陰性が6ヵ月以上継続した場合とした。ESBL産生菌が陰性化後にESBL産生菌が尿培養または直腸培養で再陽性となった場合はreacquisition(再獲得)と定義した。

抗菌薬投与については5年間のカルテを閲覧して、抗菌薬投与の有無を確認した。統計学的検討はFisher正確確率検定を用い、 $P < 0.05$ を有意とした。統計解析にはStatView5.0 for Windows, AbacusCorporation, USAを使用した。

この研究は恵寿総合病院倫理委員会の承認のもとに行った (審査番号2016-23-3号)。

【結果】

観察期間の中央値は34ヵ月 (範囲:25-41ヵ月) であり、直腸培養回数中央値は7.5回 (範囲:6-13回) であった。

陰性化例は10例中6例 (60%, 症例1-6) であり、陽性継続例は10例中4例 (40%, 症例7-10)、再獲得例は認めなかった。

図1に尿培養・直腸培養のESBL産生菌検出結果を示した。症例1-6はESBL産生菌が陰性化した症例であり、尿培養陽性例は認めなかった。症例1,2,4は初診時の直腸培養のみでESBL産生*E.coli*が検出され、その後は陰性化した。症例3は2回目の直腸培養でもESBL産生*E.coli*が検出されたが、その後陰性化、症例5では12ヵ月間5回中4回の直腸スワブでESBL産生*E.coli*を検出したが、その後16

症例番号	年齢	培養種類	初診時	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41						
1	63	尿培養 直腸スワブ	◇ ■			◇			◇			◇			◇						◇																													
2	64	尿培養 直腸スワブ	◇ ■																																															
3	84	尿培養 直腸スワブ	◇ ■		◇																																													
4	88	尿培養 直腸スワブ	◇ ■																																															
5	81	尿培養 直腸スワブ	◇ ■		◇																																													
6	71	尿培養 直腸スワブ	◇ ■		◇																																													
7	66	尿培養 直腸スワブ	◇ ■																																															
8	76	尿培養 直腸スワブ	◇ ■		◇																																													
9	59	尿培養 直腸スワブ	◇ ■																																															
10	77	尿培養 直腸スワブ	◇ ■		◇																																													

◇ : 尿 ESBL産生大腸菌 陰性
 □ : 直腸 ESBL産生大腸菌 陰性
 ■ : 直腸 ESBL産生大腸菌 陽性
 ■K : 直腸 ESBL産生 *K. pneumoniae* 陽性
 横軸 : 経過月数

図1 10症例の尿培養と直腸培養のESBL産生菌の検出結果

表1 症例の特徴について：ESBL産生菌陰性化・陽性化判定，観察期間，糖尿病，手術歴，抗菌薬投与歴等のまとめ

年齢	観察期間(月)	直腸スワブ回数	初回陽性日	診断名	手術歴	糖尿病	検出前の抗菌薬投与	ESBL産生菌検出後の抗菌薬投与
63	34	7	2015年12月1日	PSA高値	(-)	(-)	(-)	2015年12月 CCL 2日間
64	29	6	2015年12月1日	PSA高値	(-)	(+)	(-)	2016年 CMZ, AMK 1日間
84	35	10	2015年11月1日	PSA高値	腎臓がん手術	(-)	2012年 FMOX 5日間	2017年 CMZ, AMK 1日間 2015年 CEZ 1日間
88	34	6	2015年12月1日	PSA高値	S状結腸癌手術 膀胱結石手術	(-)	2010年7月 GM, CTM 1日間 2013年6月 CMZ 6日間	2017年2月 CFDN 5日間
81	41	12	2015年6月1日	PSA高値	経尿道的膀胱腫瘍切除術 経尿道的前立腺切除術	(-)	2015年3月 CFDN 6日間	2016-2018 AMK 6回 2015 CEZ 1日間 2015 AMK 6回 2015 LVFX 6回
71	34	10	2015年4月7日	急性前立腺炎	(-)	(+)	2009年12月 CTM 1日間 2010年1月 CTM 2日間 2013年6月 CEZ 3日間	2015年4月 AMK 2015年12月 AMK 3日間 2016年9月 AMK 1日間 2015年4月 CFTM-PI 3日間 2015-2017 CCL 3日間 x 7回
66	25	7	2015年12月1日	PSA高値	(-)	(-)	(-)	(-)
76	25	8	2016年8月1日	PSA高値	(-)	(-)	(-)	2016年8月 AMK, CTR X 3日間 2016年11月-2017年12月 AMK 4回
59	39	6	2015年8月1日	急性前立腺炎	(-)	(-)	(-)	2015年8月 CTM 7日間
77	32	13	2016年3月1日	前立腺癌	胆のう炎 (ESBL感染) 胆嚢摘除術	(+)	2015年12月 SBT/CPZ 7日間	(-)

FMOX: flomoxef, GM: gentamycin, CTM: cefotiam, CMZ: cefmetazole, CFDN: cefdinir, SBT/CPZ: sulbactam/cefoperazone, CCL: cefaclor, AMK: amikacin, LVFX: levofloxacin, CFTM-PI: ceftam-pivoxil, CTRX: ceftriaxone

から41ヵ月目まで7回連続でESBL産生 *E.coli* は陰性化した。症例6は初診時と8ヵ月目に直腸培養でESBL産生 *E.coli* が検出されたが、その後2回の陰性を経て18ヵ月目に直腸培養でESBL産生 *K.pneumoniae* が検出された。その後20~34ヵ月の間の5回の検査でESBL産生 *E.coli* は陰性化した。

症例7-9はESBL産生 *E.coli* の陽性継続例であり、尿培養陽性例は認めなかった。陽性継続期間は20,25,12,29ヵ月間であった。症例7-10のいずれにおいても、直腸培養でESBL産生 *E.coli* が検出されない期間を認めた。症例8では陽性継続期間25ヵ月間であったが、ESBL産生 *E.coli* が2回連続一時的に検出されない期間を2度認め25ヵ月目に再度ESBL産生 *E.coli* が検出された。症例10は胆嚢炎で胆嚢摘出術の手術既往があり、胆汁の培養でESBL産生 *E.coli* が検出されていた。胆嚢手術4ヵ月目の直腸培養で初回陽性となり、その後29ヵ月間12回ESBL産生 *E.coli* 陽性が継続した。

表1に10症例の疾患，手術歴，糖尿病の有無，抗菌薬の使用について示した。陰性化例，陽性継続例の比較では，手術歴($P=0.571$)，糖尿病の有無($P=0.999$)，検出前の抗菌薬投与($P=0.524$)，検出後の抗菌薬投与($P=0.133$)に有意差を認めなかった。

【考察】

健康人におけるESBL産生菌の直腸内分離頻度は、我々の検討⁹⁾¹⁰⁾では外来通院患者で9.8%，吉川ら¹²⁾は外来患者で5.1%，栄養管理室職員で8.3%であり、健康人もESBL産生菌を直腸内に保菌している。

では、なぜ健康人にESBL産生菌が検出されるのであろうか。山本ら¹¹⁾は、ニワトリおよび鶏肉等の食肉を介した伝播が寄与していると想定している。ESBL産生菌陽性率はニワトリで約6割、愛玩動物で約4割、ウシが約2割、ブタが約1割と報告されている¹¹⁾。食品を介したヒトでのESBL産生菌感染の成立には、①食品由来のトリ型等のESBL産生菌のヒトへの直接伝播、②ヒト体内に侵入したトリ型等のESBL産生菌からヒト腸内細菌叢へと耐性遺伝子の伝播、が生じヒト型腸内細菌における安定化した新たなESBL産生菌が出現する可能性がある¹¹⁾。抗菌薬に暴露されていないヒトにおいては、トリ型のESBL産生菌が検出される場合もしばしばあるが、これらは排菌過程にある菌体が偶然に検出された可能性があり¹¹⁾、今回の症例1, 2は抗菌薬の内服の既往はなく、排菌過程のトリ型等の安定化していないESBL産生菌が一時的に検出された可能性がある。

一方、トリ型とは異なるゲノム配列または耐性プ

ラスミド配列を示す菌が、ヒト臨床患者から多数検出される疫学実態は、ヒト体内に侵入したトリ型 ESBL 産生菌からヒト腸内細菌叢へと耐性遺伝子の伝播が生じ、ヒト型 ESBL 産生菌の新たな誕生と安定化を招いている可能性がある¹¹⁾。症例 7,8,9 は陽性継続例であり、ヒト体内に侵入したトリ型等の ESBL 産生菌からヒト腸内細菌叢へと耐性遺伝子の伝播が生じ、ヒト型 ESBL 産生菌の新たな誕生と安定化が生じ長期間 ESBL 産生菌が検出されたと考えられた。症例 6 では ESBL 産生 *E.coli* が検出された後に ESBL 産生 *K. pneumoniae* が検出された。ESBL 産生 *E.coli* から ESBL 産生 *K. pneumoniae* へと耐性遺伝子の伝播が生じ、ESBL 産生 *K. pneumoniae* が新たに誕生した可能性、ESBL 産生 *E.coli* が陰性化して、トリ型等の *Klebsiella pneumoniae* が一時的に検出されたと考えられた。症例 10 は胆嚢手術時に ESBL 産生 *E.coli* が検出され、その後 29 ヶ月と長期間 ESBL 産生 *E.coli* が直腸から検出されており、安定化した ESBL 産生菌の直腸内保菌者と考えられた。ESBL 産生性は、βラクタマーゼをコードする遺伝子配列の多型性に基づき、TEM 型、SHV 型、CTX-M 型などに大別されると報告されているが¹⁴⁾、今回の検討の問題点は、耐性遺伝子型の解析は行っていないことである。今後、生体内における ESBL 産生菌の遺伝動態等に関するさらなる検討が必要である。

Papst ら¹⁾の報告では入院重症患者で ESBL 産生菌の保菌状態が 24 ヶ月で約 70%陰性化、約 30%陽性継続したと報告しており、今回の検討は対象が外来健常者であるが、観察期間中央値 34 ヶ月で ESBL 産生菌が経過で陰性化する例が 60%、直腸スワブで ESBL 産生菌陽性が約 1 年以上遷延して陽性が継続する症例が 40%とほぼ同等の結果であった。ESBL 産生菌の市中感染が問題となっており⁶⁻¹²⁾、入院患者以外でも長期間 ESBL 産生菌を保有して、日常生活を送っている群が存在することを認識することが重要である。

Papst ら¹⁾は、入院患者において、スクリーニング目的で尿、直腸、喀痰、創、咽頭培養等種々の部位からの培養を行い、尿培養または直腸培養を行う

ことで 99%以上の患者で ESBL 保菌状態を判別できることから、ESBL 産生菌の判定には尿培養と直腸培養を行うことを推奨している。今回は、この条件に従い、尿培養と直腸培養で ESBL 産生菌の長期保有期間について検討した。ESBL 産生菌陰性化の基準は、尿培養と直腸培養で 3 回連続 ESBL 産生菌が陰性、かつ ESBL 産生菌が 6 ヶ月以上の期間陰性が継続した場合とした¹⁾。これは、ESBL 産生菌が直腸培養等で一時的に検出されない事象が報告されているからである¹²⁾。今回の検討でも症例 6, 8 では ESBL 産生菌が 2 回連続一時的に検出されない期間を認めた。一時的に ESBL 産生菌が検出されない原因については、不適切な検体採取、直腸に少量の ESBL 産生菌しか存在していなかったため検出できない可能性、実際に ESBL 産生菌が陰性化して、ESBL 産生菌を再獲得した可能性等が報告されている¹²⁾。1~2 回の ESBL 産生菌が検出されないだけで陰性化の判定はできず、上記条件に従った判定が必要と考えた。

今後、生体内における ESBL 産生菌の遺伝動態等に関するさらなる知見の集積を行い、医学、農学、水産学、獣医学、食品衛生学などが領域を超えた協力関係の基に、ESBL 産生菌の蔓延に対する対策を講じる必要がある¹¹⁾¹²⁾。

【結語】

PSA 高値の男性外来患者において、ESBL 産生菌の直腸内保菌期間について検討し、ESBL 産生菌陰性化例 60%、ESBL 産生菌陽性継続例は 40%であり、陽性継続期間は 12 から 29 ヶ月間であった。重篤な基礎疾患のない外来通院患者でも、長期間 ESBL 産生菌を保有している群が存在していることが明らかとなった。今後、生体内における ESBL 産生菌の遺伝動態等に関するさらなる研究が必要である。

【参考文献】

1) Papst L, Beović B, Seme K, et al.: Two-year prospective evaluation of colonization with extended-spectrum beta-lactamase-producing

- Enterobacteriaceae: time course and risk factors. *Infect Dis* 47: 618-624, 2015
- 2) Alsterlund R, Axelsson C, Olsson-Liljequist B: Long-term carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Scand J Infect Dis* 44: 51-54, 2012
- 3) Kantele A, Lääveri T, Mero S, et al: Antimicrobials increase travelers' risk of colonization by extended-spectrum betalactamase-producing enterobacteriaceae. *Clin Infect Dis* 60: 837-846, 2015
- 4) Hijazi SM, Fawzi MA, Ali FM, et al: Prevalence and characterization of extended-spectrum beta-lactamases producing Enterobacteriaceae in healthy children and associated risk factors. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 15:3 DOI 10.1186/s12941-016-0121-9, 2016
- 5) 川村研二, 窪亜紀, 古木孝二, 他: 恵寿総合病院における 2011 年度の尿路感染分離菌頻度と薬剤感受性. 恵寿病医誌 1: 50-52, 2012
- 6) 川村研二, 窪亜紀, 古木孝二, 他: 恵寿総合病院における 2013 年度の大腸菌薬剤感受性について. 恵寿病医誌 3: 58-61, 2015
- 7) 樋上拓哉, 川村研二, 窪亜紀, 他: 恵寿総合病院における ESBL 産生菌の臨床的特徴と薬剤感受性について. 恵寿病医誌 4: 14-16, 2016
- 8) 圓山尚, 宮本幸恵, 川端舞香, 他: 急性単純性膀胱炎の分離菌と薬剤感受性に関する検討. 恵寿病医誌 5: 34-37, 2017
- 9) 川村研二: 前立腺生検における細菌培養による予防的抗菌薬の検討. *泌尿器外科* 26: 169-172, 2013
- 10) 川村研二: 外来患者と長期入院患者における ESBL 産生菌の直腸内保有率と危険因子. *泌尿器外科* 29: 1769-1773, 2016
- 11) 山本詩織, 朝倉宏, 五十君静信: 基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ(ESBL)産生菌に関わる最近の動向とその拡散に関する考察～食品汚染実態とその危害性について～. *食衛誌* 58: 1-11, 2017
- 12) 吉川耕平, 長川隼也, 園田美代子, 他: 糞便中における ESBL と MBL 産生腸内細菌科菌の検出状況. *日臨微生物誌* 24: 9-16, 2014
- 13) 石松昌己, 河口豊, 田村昌代, 他: 新しく開発された「バイタルメディア ESBL/MBL スクリーニング寒天培地」の基礎的検討. *医学検査* 63: 94-98, 2014
- 14) Hawkey PM, Jones AM: The changing epidemiology of resistance. *J Antimicrob Chemother* 64, i3-i10, 2009