

## 短報

# 肺炎マイコプラズマの検出状況および 薬剤耐性菌出現状況の解析 (2013～2016年度)

大屋日登美, 古川一郎, 中嶋直樹,  
三谷詠里子, 鈴木美雪, 黒木俊郎\*

## The epidemiological characteristics and drug resistance of *Mycoplasma pneumoniae* (April 2013- March 2016)

Hitomi OHYA, Ichiro FURUKAWA,  
Naoki NAKAJIMA, Eriko MITANI,  
Miyuki SUZUKI, and Toshiro KUROKI

### はじめに

肺炎マイコプラズマ (*Mycoplasma pneumoniae*) 感染症は非定型肺炎などの呼吸器感染症で, 小児の感染症においては重要な位置を占めている. かつてこの感染症の流行は4年周期で繰り返され, オリンピック開催年と重なっていたために五輪病とも呼ばれていたが, 1990年代からこの周期が崩れてきた. 本症は小児に多く, 軽症例が多いことからウォーキングニューモニアともよばれているが, 成人や高齢者の感染事例や脳炎や脊髄炎などの重症例も報告されるようになってきた<sup>1,2)</sup>. 本疾病は, 感染症法において五類感染症に指定されており, 厚生労働省がとりまとめる感染症発生動向調査の定点把握疾患として全国の定点医療機関からの報告により患者の発生状況が把握されている.

病原菌である肺炎マイコプラズマの検査は, 遺伝子検査も可能であるが, 培養に2週間程度を要するなど菌分離が困難であり, 国内外における病原体検出状況の報告は少ないのが現状である. 神奈川県では, 1976年から肺炎マイコプラズマの分離培養による検査を継続して実施している.

マイコプラズマ肺炎治療に用いられる抗菌薬は, マク

ロライド系 (MLs), テトラサイクリン系 (TCs) 及びニューキノロン系 (FQs) 薬剤がある. 第一選択薬剤としては一般的にMLsが用いられる. しかし, 国内の患者でMLs耐性肺炎マイコプラズマ (*macrolide-resistant Mycoplasma pneumoniae*, 以下, MRMPとする) が増加してきたことに伴い<sup>3,4)</sup>, 成人においては, FQs薬剤が治療に使用されるようになってきた<sup>5)</sup>. 一方, 小児領域においては使用可能なFQsの種類は限られていることから, FQs耐性肺炎マイコプラズマが出現した場合, 小児領域への影響が懸念される.

そこで, 薬剤耐性菌の蔓延状況を調べるため, 肺炎マイコプラズマ検出状況に加え, 耐性菌出現状況の解析を行ったので報告する.

### 対象と方法

2013～2016年度に神奈川県内定点等の医療機関で採取した咽頭ぬぐい液200検体について遺伝子検査 (PCR)<sup>6)</sup> と分離培養によって肺炎マイコプラズマの検出を試みた.

分離された肺炎マイコプラズマの薬剤耐性菌出現状況を調べるために, 薬剤感受性試験を実施した. 使用薬剤は, 12薬剤で内訳はMLs 5薬剤で14員環2薬剤: エリスロマイシン (EM), クロリスロマイシン (CAM), 15員環1薬剤: アジスロマイシン (AZM), 16員環2薬剤: ジョサマイシン (JM), ロキタマシ (RKM), TCs 2薬剤: テトラサイクリン (TC), ミノサイクリン (MINO), FQs 5薬剤: レボフロキサシン (LVFX), シプロフロキサシン (CPFX), トスフロキサシン (TFLX), スパルフロキサシン (SPFX), ガチフロキサシン (GFLX) とした. 薬剤感受性試験には, 微量液体希釈法を用い, 最少発育阻止濃度 (MIC: Minimum inhibitory concentration) を調べた. 各薬剤の供試菌株は, 2013～2016年度の臨床分離株115株のうちMLsとTCsで106株, FQsで91株とした. また, 薬剤感受性試験のコントロールとして今回供試した薬剤に感受性がある標準株3株 (M129, FH, Mac) を用いた.

MRMPは, 23S rRNA遺伝子ドメインV領域の点変異により発現し<sup>7)</sup>, その中でも2063番目のアデニン (A) がグアニン (G) に変異した株 (A2063G) が臨床から最も多く分離されている. 他には, Aがチミン (T), シトシン (C) に変異したA2063T/Cや2064番目の変異したA2064G, 2617番目の変異したC2617Gも報告されている<sup>3,4)</sup>. 今回, Matsuokaら<sup>3)</sup>の方法によるPCR-RFLP法を用いて遺伝子変異の解析を行った. 確認できなかったMRMPについては, ダイレクトシーケンスで塩基配列を確認した.

さらに, 今回得られた2013～2016年度のデータを

神奈川県衛生研究所 微生物部  
〒253-0087 茅ヶ崎市下町屋1-3-1  
\* 現 岡山理科大学 獣医学部

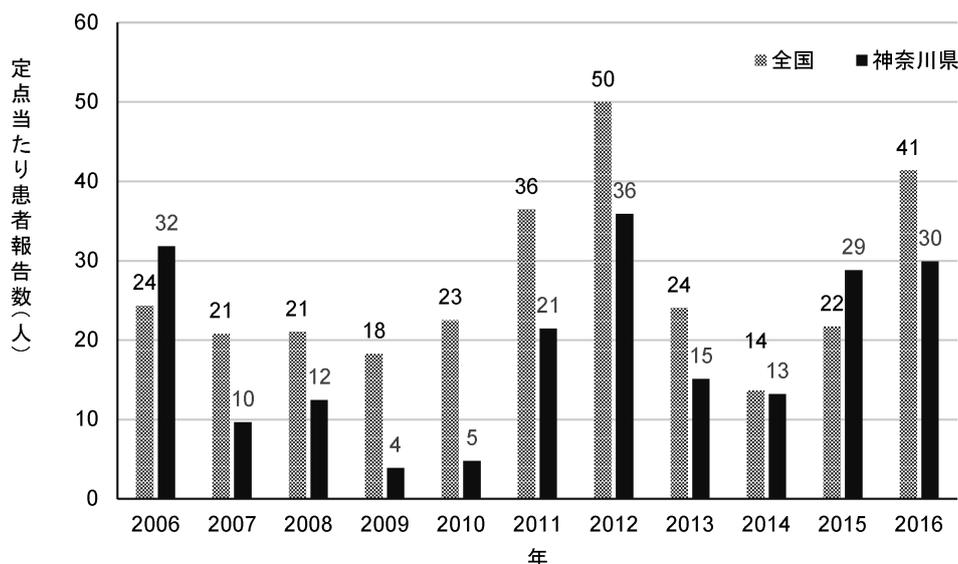


図1 マイコプラズマ肺炎患者の累積定点当たり報告数

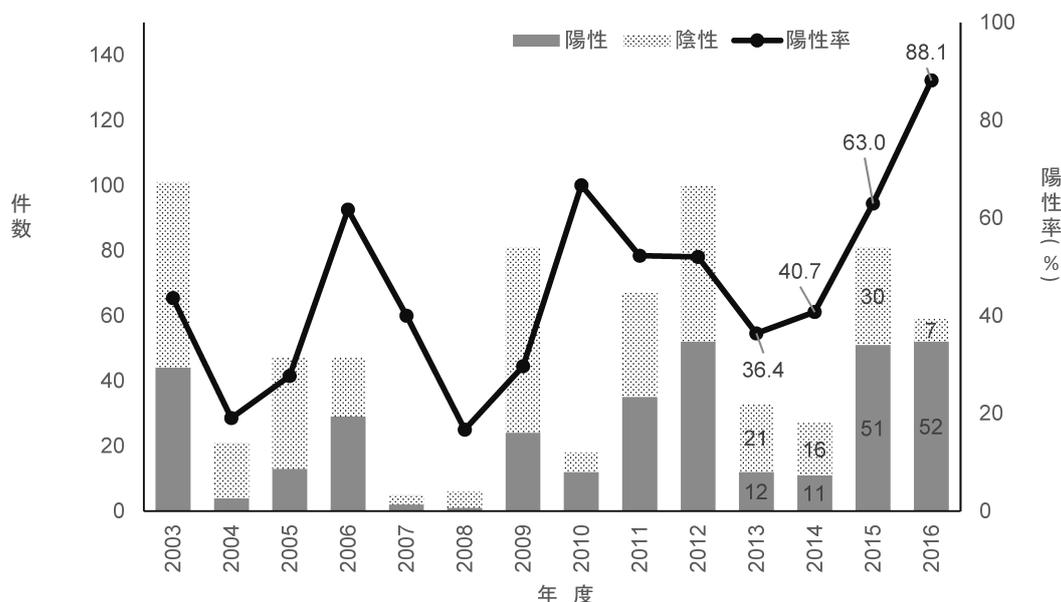


図2 肺炎マイコプラズマの検出状況 (2003～2016年度)

2003～2012年度の当所検出データ<sup>8)</sup>と比較した。

結果及び考察

1. 肺炎マイコプラズマの検出状況

神奈川県感染症情報センターのマイコプラズマ肺炎患者の累積定点当たりの報告によると、2006年、2011～2012年、2015～2016年に患者数が増加しており、全国の状況と同様の傾向であった (図1)。

肺炎マイコプラズマの検出状況を図2に示した。2013～2016年度には、200検体中126検体 (陽性率63.0%) から肺炎マイコプラズマが検出された。2003～2012年度の検出状況<sup>8)</sup>と比較すると2013～2014年度は、

検査件数、陽性率ともに減少したが、2015年度以降は再び増加し、特に2016年の陽性率が高く88.1%であった。

2. 薬剤耐性菌出現状況

薬剤感受性試験によるMRMPの検出状況を図3に示す。2013～2014年度は検体数、分離株数ともに少なく流行規模も小さかったが耐性率は52.6%と高く、流行期の2015～2016年度の耐性率とほとんど変わらなかった。神奈川県におけるMRMPは、調査を始めた2003年度ごろから増加傾向にあり、2011～2012年度の検出率は83.9%まで増加したが<sup>9)</sup>、2013年度以降は50%程度で推移していることが明らかとなった。

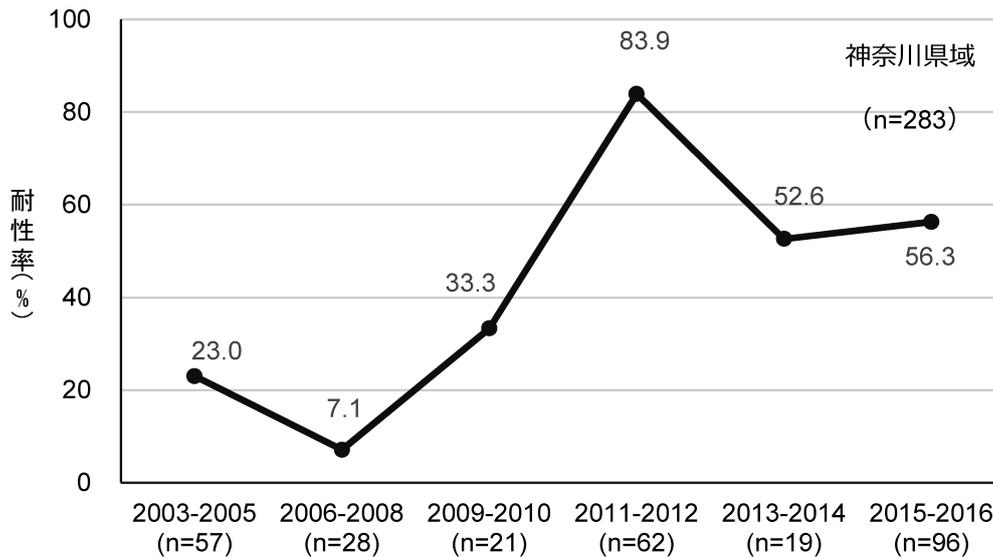


図3 MRMPの検出状況 (2003~2016年度)

表1 臨床分離株のMLs薬剤に対するMIC (μg/mL)

菌株	株数	14員環		15員環	16員環	
		E M	CAM	AZM	J M	RKM
耐性株	55					
A2063G	54	≥256	16 - ≥256	4 - 64	4 - 16	0.063 - 1
不明	1	64	16	4	4	0.25
感受性株	51	0.004 - 0.016	0.004 - 0.016	<0.00024 - 0.00098	0.016 - 0.063	0.004 - 0.063
標準株	3					
M129	1	0.004	0.004	0.00098	0.063	0.016
FH	1	0.016	0.016	0.00098	0.063	0.063
Mac	1	0.004	0.004	<0.00024	0.063	0.063

臨床分離株のMLs薬剤に対するMICを表1に示した。薬剤感受性試験を実施した106株中MLs耐性株が55株(51.9%)で感受性株が51株(48.1%)であった。MLs耐性株は、14員環MLsのEMとCAMで高度耐性を示したが、16員環MLsのRKMは感受性株と同程度の低いMICを示した。このことは、これまで検出されたMLs耐性株と同様の傾向であった<sup>3,4)</sup>。MLsは、構造の違いにより14員環、15員環、16員環に分けられるが、1990年代以降抗菌力の強いニューマクロライドの15員環AZMが使用されたことにより、MRMPが増加したと考えられた<sup>10~12)</sup>。薬剤使用状況が耐性菌の出現に影響することから、使用薬剤と耐性菌の動向を合わせて監視する必要があると思われる。

MLs耐性55株についてPCR-RFLP法による遺伝子変異の解析を行ったところ、今回検出された変異は、55株中54株(98.2%)がA2063Gで1株(1.8%)が不明であった。不明株についてはダイレクトシーケンスで変異を確認したが、報告されているA2063G以外の変異株<sup>3,4)</sup>で

はなかった。ドメインVの変異箇所によってMRMPに対する各抗菌薬の効果に特徴があり、A2063G/T/C、A2064G変異株は、14員環、15員環および16員環MLsのJMには高度耐性を示すが、RKMでは感受性を示している。またC2617G変異株では、すべてのMLsに低度の耐性を示す<sup>3,4)</sup>。我々はMRMPのMICにおける特徴について、既に報告しているが<sup>10~12)</sup>、実験的に作製されたMRMPでは臨床から検出されていない変異株も出現しているため、MRMPの動向については継続して監視する必要があると思われる。

患者から分離されたMLs耐性株(48株)および感受性株(43株)と標準株(3株)のFQs薬剤に対するMICを表2に示した。これらの株は、FQs薬剤に全て感受性であった。また、今回、薬剤感受性試験を実施した菌株はTCs薬剤に対して全て感受性であった。MRMP以外の薬剤耐性について調べたところ、臨床分離株では、まだFQs耐性株やTCs耐性株は出現していないことが示された。しかし、FQs耐性株については、フランスで実験由

表2 臨床分離株のFQs薬剤に対するMIC

菌株	株数	LVFX	CPFX	TFLX	SPFX	GFLX
耐性株	48					
A2063G	47	0.25 - 1	0.5 - 1	0.25 - 1	0.0625 - 0.125	0.0625 - 0.125
不明	1	1	1	0.25	0.0625	0.0625
感受性株	43	0.25 - 1	0.25 - 2	0.25 - 1	0.0625 - 0.25	0.0625 - 0.125
標準株	3					
M129	1	0.5	1	0.5	0.125	0.125
FH	1	0.5	1	0.25	0.125	0.125
Mac	1	0.5	1	0.25	0.0625	0.0625

来株の報告<sup>13)</sup>があるため、継続した観察が必要と思われる。

### まとめ

2013～2016年度の肺炎マイコプラズマの病原体検出状況は、患者報告数の流行による増減と同様の傾向を示した。また、2013～2016年度のMRMP出現状況は、2011～2012年度の流行期に比べ減少してきているが50%以上を維持していること、A2063G変異を持つ耐性株が多かったことが示された。さらに、現在のところ臨床分離株にFQs耐性肺炎マイコプラズマの出現がないことも確認された。

今後も肺炎マイコプラズマの病原体検出を継続して実施し、新しい耐性菌出現に備えるため薬剤感受性試験によって薬剤耐性化の動向を把握する必要がある。一方で、菌株の遺伝子解析を行い、出現している薬剤耐性菌の遺伝子変異を長期的に捉えていく必要があると思われる。

### 謝辞

本研究は平成28年度大同生命助成研究、平成26～27年度神奈川県地域資源活用研究事業の一部として実施した。

本研究にご指導・ご協力いただきました先生方、施設、機関に深謝いたします（敬称略）。

堀野敦子、見理剛（国立感染症研究所）、大石智洋（川崎医科大学病院）、小田洋一郎（茅ヶ崎市立病院）、成田光男（札幌徳洲会病院）、茅ヶ崎市立病院小児科、神奈川県感染症発生動向調査定点医療機関、神奈川県保健福祉局（現健康医療局）

### 参考文献

- 1) 上原すゞ子, 砂川慶介監修: 小児科呼吸器感染症診断ガイドライン2007, 16-17, 135-136(2007)
- 2) 吉田眞一, 柳雄介編集: 戸田細菌学, 南山堂, 693-702(2002)
- 3) Matsuoka M, Narita M, Okazaki N, Ohya H,

Yamazaki T and Ouchi K *et al.*, Characterization and molecular analysis of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* clinical isolates obtained in Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* 48:4624-4630(2004)

- 4) Morozumi M, Iwata S, Hasegawa K, Chiba N, Takayanagi R and Matsubara K, *et al.*, Increased macrolide resistance of *Mycoplasma pneumoniae* in pediatric patients with community-acquired pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother.* 52:348-350(2008)
- 5) Principi N, Esposito S. Macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae*: its role in respiratory infection. *J. Antimicrob Chemother.* 68:506-11 (2013)
- 6) Ieven M, Ursi D, Van Bever H, Quint W, Niesters HG and Goossens H: Detection of *Mycoplasma pneumoniae* by Two Polymerase Chain Reactions and Role of *M. pneumoniae* in acute respiratory tract infections in pediatric patients, *J. Infect. Dis.*, 173,1445-1452(1996)
- 7) Okazaki N, Narita M, Yamada S, Izumikawa K, Umetsu M and Kenri T *et al.*: Characteristics of macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* strains isolated from patients and induced with erythromycin *in vitro*. *Microbiol. Immunol.* 45:617-620(2001)
- 8) 大屋日登美, 岡崎則男, 日本マイコプラズマ学会編集, 技術編 *Mycoplasma pneumoniae* の培地, 分離培養, 保存法: 最新マイコプラズマ学, 近代出版, 166-175 (2016)
- 9) 大屋日登美, 古川一郎, 相川勝弘, 大石智洋, 堀野敦子, 小田洋一郎ほか: 薬剤耐性肺炎マイコプラズマの検出状況と遺伝子型別, 日本マイコプラズマ学会雑誌, 43,42-45 (2016)
- 10) 大屋日登美, 成田光生, 鈴木五三男, 渡辺祐子, 黒

- 木俊郎, 岡崎則男: 試験管内でセレクションされたマクロライド耐性 *Mycoplasma pneumoniae* について—エリスロマシシンとクラリスロマシシンにおける耐性菌セレクションの比較—, 日本マイコプラズマ学会雑誌, 36,58-61 (2009)
- 11) 大屋日登美, 成田光生, 小田洋一郎, 古川一郎, 渡辺祐子, 黒木俊郎ほか: 試験管内でセレクションされたマクロライド耐性 *Mycoplasma pneumoniae* について—アジスロマシシンとロキタマシシンにおける耐性菌セレクションの比較—, 日本マイコプラズマ学会雑誌, 37,55-58 (2010)
- 12) 大屋日登美, 小田洋一郎, 古川一郎, 相川勝弘, 渡辺祐子, 相川勝弘ほか: 試験管内でセレクションされたマクロライド耐性 *Mycoplasma pneumoniae* について—ジョサマイシンにおける耐性菌セレクション—, 日本マイコプラズマ学会雑誌, 40,45-49 (2013)
- 13) Gruson D, Pereyre S, Renaudin H, Charron A, Bébéar C, Bébéar C.M. In vitro development of resistance to six and four fluoroquinolones in *Mycoplasma pneumoniae* and *Mycoplasma hominis*, respectively. Antimicrob Agents Chemother. 49,1190-1193 (2005)