

福井県におけるヒト由来薬剤耐性菌の遺伝子解析と耐性遺伝子の伝播状況に関する研究

東方美保・岩崎理美・外川佳奈・檀野由季子・
山本政弘・小木圭子・石畝 史・大村勝彦

Genetic Analysis of Clinically Isolated Drug-resistant Gram-Negative Bacilli
and Investigation into Spread of Antimicrobial Resistance Genes in Fukui Prefecture

Miho TOHO, Satomi IWASAKI, Kana TOGAWA, Yukiko DANNO,
Masahiro YAMAMOTO, Keiko KOGLI, Fubito ISHIGURO, Katsuhiko OMURA

1. はじめに

最初の抗菌薬であるペニシリンが、1928年に発見され1940年代に実用化されてから、さまざまな耐性機構による薬剤耐性菌が出現し、社会的な問題となっている。中でもβ-ラクタマーゼはβ-ラクタム系抗菌薬を加水分解する酵素で、その産生により多剤耐性化する腸内細菌科細菌およびブドウ糖非発酵菌群などのグラム陰性桿菌が重要視されている¹⁾。

β-ラクタマーゼについては、ペニシリナーゼ、第三世代セファロスポリンを分解する基質スペクトル拡張型β-ラクタマーゼ(Extended-Spectrum β-Lactamase: 以下、ESBL)²⁾、AmpC型β-ラクタマーゼ³⁾、カルバペネマーゼ⁴⁾等いろいろな種類が知られている⁵⁻⁷⁾。特にカルバペネマーゼは、セファロスポリン系抗菌薬やカルバペネム系抗菌薬を含む全てのβ-ラクタム系抗菌薬を分解するため、カルバペネマーゼ産生菌による感染症は治療が難航する傾向にある。海外においては、NDM型⁸⁾やKPC型⁹⁾等の新たなタイプのカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌(carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: CPE)の拡散が報告されており、国内における浸淫状況および検出動向が注目されている¹⁰⁾。さらに、プラスミド性の遺伝子による耐性獲得の可能性もあるESBL、AmpC型β-ラクタマーゼ、カルバペネマーゼは、同一菌種間だけでなく菌種の違いを超えてその耐性遺伝子が伝播される可能性があり⁷⁾、その動向が警戒されている。

そこで、福井県内においてヒトから分離された薬剤耐性グラム陰性桿菌の複数の菌種について薬剤耐性状況を調査した。さらに、β-ラクタマーゼ遺伝子を検索し、薬剤耐性遺伝子の伝播状況を解析したので報告する。

2. 方法

2. 1 供試患者由来株

2. 1. 1 薬剤耐性菌

平成25年4月～平成26年4月に福井県内の協力医療機関から提供されたヒト由来薬剤耐性菌(サルモネラ属菌、大腸菌以外の菌種)187株を薬剤感受性試験および薬剤耐性遺伝子検索の対象とした。また、平成28年5月～平成29年3月に、1協力医療機関から提供された薬剤耐性菌100株について、β-ラクタマーゼ遺伝子をスクリーニング的に検索した。

2. 1. 2 サルモネラ属菌および大腸菌

平成25年4月～平成29年2月に、福井県内の協力医療機関から提供されたヒト由来のサルモネラ属菌57株および大腸菌602株について、血清型別を行い、解析対象とした。

2. 2 方法

2. 2. 1 薬剤感受性試験

ドライプレート法による薬剤感受性試験は、ドライプレート‘栄研’(栄研化学)のDP33またはDP35を使用し、添付文書に従って抗菌剤(17剤または19剤)についての最少発育阻止濃度(minimum inhibitory concentration: MIC)を測定した。

Kirby-Bauer(KB)法による薬剤感受性試験は、セフトキシム(CTX)、シプロフロキサシン(CPFX)、ナリジクス酸(NA)、アンピシリン(ABPC)、テトラサイクリン(TC)、ストレプトマイシン(SM)、スルフィソキサゾール(Su)、ST合剤(ST)、ゲンタマイシン(GM)、カナマイシン(KM)、クロラムフェニコール(CP)およびホスホマイシン(FOM)の12種類の薬剤感受性試験用ディスク(BBL)を使用して行った。

R(耐性)、I(中間)、S(感性)の判定はClinical and Laboratory Standards Instituteによるブレイクポイント規定文書M100-S22¹¹⁾に準拠した。

2. 2. 2 薬剤耐性遺伝子の検索

薬剤耐性遺伝子については、17種類のβ-ラクタマーゼ遺伝子を4系統のマルチプレックスPCR法により検出する中村らの方法¹²⁾で検索を行った(カルバペネマーゼ: IMP-1型、IMP-2型、VIM-2型、KPC型、NDM型、GES型の6種類、AmpC型β-ラクタマーゼ: MOX型、CIT型、DHA型、ACC型、EBC型、FOX型の6種類、ESBL: CTX-M-1 group(以下、G)、CTX-M-2 G、CTX-M-9 G、TEM型、SHV型の5種類)。

2. 2. 3 β-ラクタマーゼ産生の確認

β-ラクタマーゼ遺伝子がPCR法で陽性となった菌株について、国立感染症研究所による薬剤耐性菌研修会資料¹³⁾に準じてβ-ラクタマーゼ産生を確認した。すなわち、各種β-ラクタマーゼ阻害剤を用いたディスク法において、阻止円径の拡張が認められるかどうかにより、β-ラクタマーゼ産生の有無を判定した。またカルバペネマーゼ産生の確認にはCarbaNPテストも実施した。

2. 2. 4 薬剤耐性遺伝子配列の確認

β-ラクタマーゼ産生菌である可能性が高い菌株について、国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センターに依

表1 セフトアジジム (CAZ) に対する MIC

セフトアジジム(CAZ)	>16	16	8	4	2	1	1>	計	R (耐性)	I (中間)	耐性率 (%)
<i>Klebsiella</i> spp.		1			3	1	6	11	1	0	9.1
<i>Enterobacter</i> spp.	7	5	5	1	2		52	72	12	5	23.6
<i>Serratia</i> spp.							11	11	0	0	0.0
<i>Citrobacter</i> spp.	6		2	1			4	13	6	2	61.5
<i>Morganella</i> spp.	1	1	1				1	4	2	1	75.0
<i>Proteus</i> spp.							13	13	0	0	0.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	1	2	6	15	1	3	39	11	1	30.8
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	8	4	4		2		2	20	8	4	60.0
<i>Acinetobacter</i> spp.				1				1	0	0	0.0
その他の非腸内細菌科細菌	1	1					1	3	1	1	66.7
	34	13	14	9	22	2	93	187	41	14	29.4

表2 セフェピム (CFPM) に対する MIC

セフェピム(CFPM)	>16	16	8	4	2	1	1>	計	R (耐性)	I (中間)	耐性率 (%)
<i>Klebsiella</i> spp.	5			2	1		3	11	5	0	45.5
<i>Enterobacter</i> spp.			1	1	2		68	72	0	0	0.0
<i>Serratia</i> spp.							11	11	0	0	0.0
<i>Citrobacter</i> spp.	2				1		10	13	2	0	15.4
<i>Morganella</i> spp.					1		3	4	0	0	0.0
<i>Proteus</i> spp.							13	13	0	0	0.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	3	11	7	6	2	2	39	8	3	28.2
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	14	2					4	—	—	—	—
<i>Acinetobacter</i> spp.		1						1	0	1	100.0
その他の非腸内細菌科細菌	1		1	1				3	1	0	33.3
	30	6	13	11	11	2	114	167	16	4	12.0

表3 イミペネム (IPM) に対する MIC
イミペネム(IPM)

	>8	8	4	2	1	0.5	0.25	0.25>	計	(耐性)	(中間)	(%)
<i>Klebsiella</i> spp.							3	8	11	0	0	0.0
<i>Enterobacter</i> spp.				2	6	22	10	32	72	0	2	2.8
<i>Serratia</i> spp.					2	4		5	11	0	0	0.0
<i>Citrobacter</i> spp.						2		11	13	0	0	0.0
<i>Morganella</i> spp.			1	1	2				4	1	1	50.0
<i>Proteus</i> spp.			1	5	3			4	13	1	5	46.2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	6	4	1	11	6		1	39	16	4	51.3
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	16				1			2	—	—	—	—
<i>Acinetobacter</i> spp.	1								1	1	0	100.0
その他の非腸内細菌科細菌		1	1			1			3	0	1	33.3
	27	7	7	9	25	35	13	63	167	19	13	19.2

表4 メロペネム (MEPM) に対する MIC

メロペネム(MEPM)	>8	8	4	2	1	0.5	0.25	0.25>	計	R (耐性)	I (中間)	耐性率 (%)
<i>Klebsiella</i> spp.									11 11	0	0	0.0
<i>Enterobacter</i> spp.						2	1		69 72	0	0	0.0
<i>Serratia</i> spp.									11 11	0	0	0.0
<i>Citrobacter</i> spp.				1		1			11 13	0	1	7.7
<i>Morganella</i> spp.									4 4	0	0	0.0
<i>Proteus</i> spp.									13 13	0	0	0.0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	4	1	8	1	6		8	39	15	1	41.0
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	15				1			4	—	—	—	—
<i>Acinetobacter</i> spp.	1								1	1	0	100.0
その他の非腸内細菌科細菌	1	1						1	3	1	1	66.7
	28	5	1	9	2	9	1	132	167	17	3	12.0

頼して次世代シーケンサー (Next Generation Sequencer : NGS) 解析による網羅的遺伝子配列解析を実施し、薬剤耐性遺伝子配列が解読されるか確認した。

3. 結果および考察

3. 1 薬剤耐性菌株 (サルモネラ属菌、大腸菌以外の菌種) の解析

3. 1. 1 ドライプレート法による薬剤感受性試験

β -ラクタム系抗菌薬に対する MIC 測定結果を表 1~4 に示した。なお、抗菌薬に対する細菌の感受性は菌種により異なるため、R、I、S の判定基準は菌種ごとに設定されている¹¹⁾。菌種によっては、もともとその薬剤の作用部

位を持たず自然耐性である等、判定基準自体が設定されていない場合があり、その場合耐性度等を評価する母数から除いた。ドライプレート法においては、R または I と判定された場合に薬剤耐性株とみなした。

セフェム系薬剤については、セファロスポリン系第三世代のセフトジジム (CAZ) (表 1) では 55/187 株 (29.4%)、セファロスポリン系第四世代のセフェピム (CFPM) (表 2) では 20/167 株 (12.0%) と差がみられた。また、カ

ルバペネム系薬剤については、イミペネム (IPM) (表 3) で 32/167 株 (19.2%)、メロペネム (MEPM) (表 4) で 20/167 株 (12.0%) と比較的割合が低かった。また、カルバペネム系薬剤耐性株の多くが *Pseudomonas aeruginosa* 等のブドウ糖非発酵菌群であり、腸内細菌科細菌は 11 株のみであった (表 3、4)。

3. 1. 2 β -ラクタマーゼ遺伝子の検出状況

17 種類の型の β -ラクタマーゼ遺伝子を 4 系列のマルチ

表 5 カルバペネマーゼの遺伝子検査および産生検査

β -ラクタマーゼ遺伝子	検査数	カルバペネマーゼ							陽性数 計	うち 産生テスト 陽性
		IMP-1	IMP-2	VIM-2	NDM	GES	IMP-1, GES	IMP-2, NDM		
<i>Klebsiella</i> spp.	11								0	0
<i>Enterobacter</i> spp.	71	3	2	3	1			1	10	4
<i>Serratia</i> spp.	11								0	0
<i>Citrobacter</i> spp.	13					1			1	0
<i>Morganella</i> spp.	4								0	0
<i>Proteus</i> spp.	13				10				10	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	39						1		1	1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	19		2		1				3	2
<i>Acinetobacter</i> spp.	1								0	0
その他の非腸内細菌科細菌	3	1							1	1
	185	4	4	3	12	1	1	1	26	8

表 6 AmpC 型 β -ラクタマーゼの遺伝子検査および産生検査

β -ラクタマーゼ遺伝子	検査数	AmpC						陽性数 計	うち 産生テスト 陽性
		EBC	CIT	DHA	FOX	CIT, FOX	MOX, CIT		
<i>Klebsiella</i> spp.	11	5		1				6	0
<i>Enterobacter</i> spp.	71	12			2			14	13
<i>Serratia</i> spp.	11	1						1	1
<i>Citrobacter</i> spp.	13		4		1	3		8	6
<i>Morganella</i> spp.	4			3				3	0
<i>Proteus</i> spp.	13							0	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	39	1						1	0
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	19	1	14				1	16	0
<i>Acinetobacter</i> spp.	1		1					1	0
その他の非腸内細菌科細菌	3	1						1	0
	187	21	19	4	3	3	1	51	20

*ACCは全ての株で不検出

表 7 ESBL の遺伝子検査および産生検査

β -ラクタマーゼ遺伝子	検査数	CTX-M G			検査数	SHV	TEM	うち 産生テスト 陽性
		M-1 G	M-2 G	M-9 G				
<i>Klebsiella</i> spp.	11		4	3	10	2	3	7
<i>Enterobacter</i> spp.	71				65		3	0
<i>Serratia</i> spp.	11				11			0
<i>Citrobacter</i> spp.	13		2		8		3	0
<i>Morganella</i> spp.	4	1		1	3			1
<i>Proteus</i> spp.	13				13			0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	39				36		1	0
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	19				19	3	1	0
<i>Acinetobacter</i> spp.	1				1			0
その他の非腸内細菌科細菌	3				3			0
	185	1	6	4	169	5	11	8

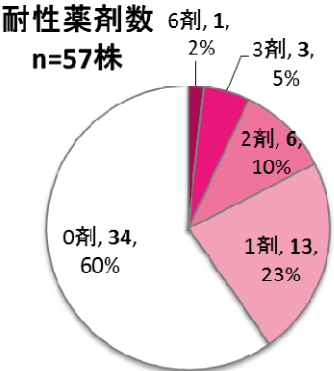


図1 サルモネラ属菌の薬剤耐性状況

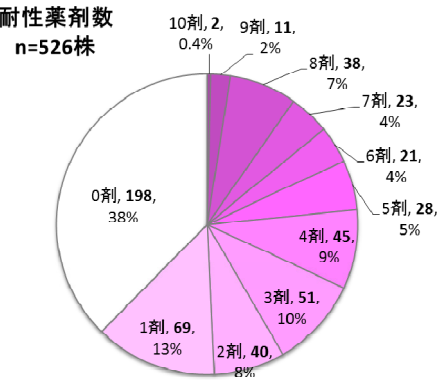


図2 大腸菌の薬剤耐性状況

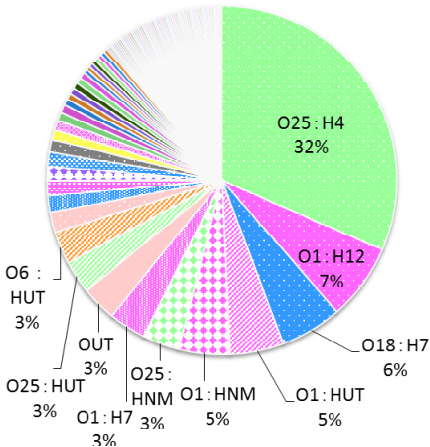


図3 大腸菌の血清型

プレックス PCR 法で検索したところ、表 5～7 のような検出結果となった。1 株で複数の種類の β -ラクタマーゼ遺伝子が陽性となる菌株が 22 株存在し、1 種類以上の型の β -ラクタマーゼ遺伝子が PCR 法で陽性となった菌株は 81 株であった。

3. 1. 3 β -ラクタマーゼ産生試験結果

PCR 法で β -ラクタマーゼ遺伝子陽性となった菌株について、各種酵素阻害剤を用いたディスク法および Carba NP test を実施して β -ラクタマーゼ酵素作用を確認したところ、PCR 法による薬剤耐性遺伝子検出結果から推定される性状と合致する菌株は 35 株であった。

性状が合致しなかった菌株で多くを占めたのは、そもそも耐性を示さない S (感性) の菌株であるため産生テスト

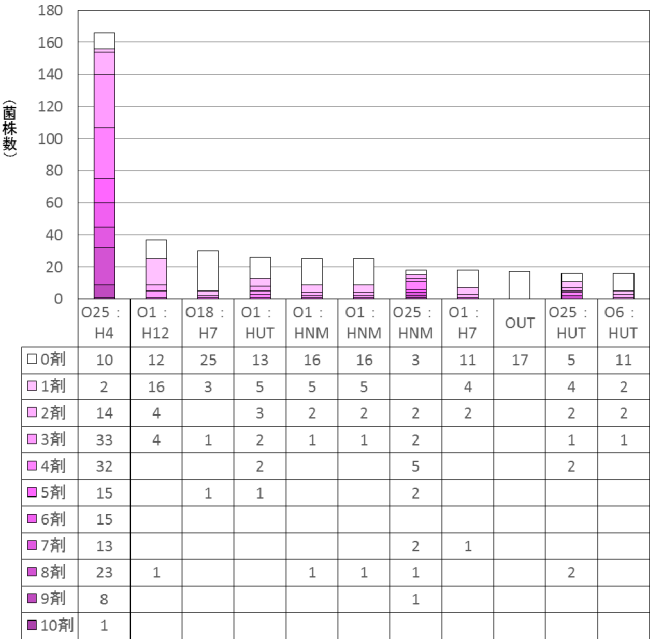


図4 主な血清型での薬剤耐性状況 (大腸菌)

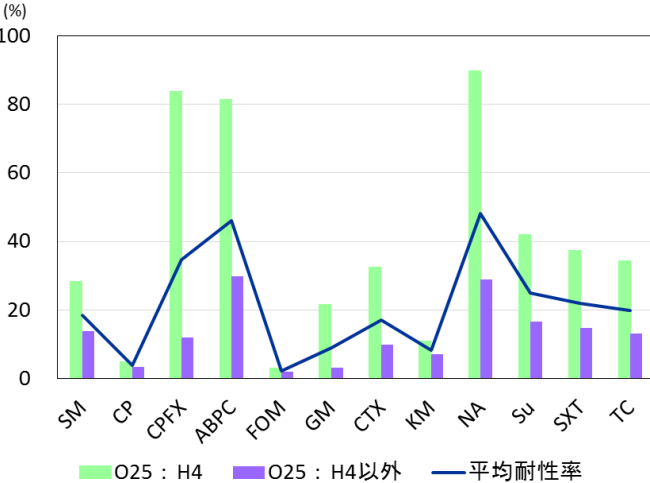


図5 大腸菌の薬剤別耐性率 (O25:H4, O25:H4 以外の比較)

での阻止円拡張の判定が困難なケースであった。また、特定の菌種について特定の型の β -ラクタマーゼ遺伝子が過半数超の高率で陽性を示したが産生テストでは陰性となった組み合わせとして、*Proteus* spp.における NDM 型、*Stenotrophomonas maltophilia* における CIT 型等が挙げられる。これらは菌種ゲノム配列に特異的な偽陽性反応である可能性も考えられる。

3. 2 サルモネラ属菌および大腸菌の解析
3. 2. 1 KB 法による薬剤感受性試験

KB 法による薬剤感受性試験に基づく薬剤耐性の判定においては、R (耐性) を薬剤耐性菌とし、I (中間) は感受性菌とみなした。

サルモネラ属菌は図 1 のとおり、耐性薬剤数が 1 剤以上である薬剤耐性菌は 40%であったが、その耐性薬剤数は 3 剤以下がほとんどで、4 剤以上は 1 株 (6 剤耐性) のみだった。それに対し、大腸菌は薬剤耐性菌の占める割合が 62%と過半数を超え、また耐性薬剤数が 4 剤以上である株

は31%に及ぶなど、多剤耐性の傾向がより強かった(図2)。

薬剤感受性試験の対象とした大腸菌の血清型は図3のとおりであり、O25:H4が166株と多く、32%を占めた。O1:H12、O18:H7、O1:HUT、O1:HNH等が続き、主要10血清型ではほぼ70%に達する。これらの血清型別での薬剤耐性状況は図4のとおりで、特にO25:H4の薬剤耐性度が高い傾向が見られた。平均耐性薬剤数でいえば、大腸菌全体では2.5剤となるのに対し、O25:H4では4.7剤、O25:H4以外では1.5剤となる。また、薬剤別の耐性率は図5のとおりで、特にCPFX、NA、GM、CTX、ABPC等においてO25:H4とO25:H4以外での耐性率の差が大きい傾向が見られた。

3.2.2 CTX-M型ESBL遺伝子のPCR法による検出(大腸菌)

薬剤感受性試験(KB法)でCTXに耐性となった90株および医療機関でESBLと判定された123株について、CTX-M型ESBL遺伝子をgroup別に検出するマルチプレックスPCR法により検索した。その結果、CTX-M-1Gが32株、CTX-M-2Gが14株、CTX-M-9Gが95株で陽性となった。

3.3 NGS解析による薬剤耐性遺伝子の検索および確認

β-ラクタマーゼ遺伝子がPCR法で陽性となった80株について、NGS解析による網羅的遺伝子配列解析を実施し、薬剤耐性遺伝子配列を検索した(表8)。

β-ラクタマーゼ遺伝子としては、CTX-M型が53株、TEM型が18株、AmpC型が9株、SHV型が6株で確認できた。さらに、カルバペネマーゼであるIMP-1型が2株で確認できたが、水平伝播による拡散の危険性が高い腸内細菌科細菌でなく、*Pseudomonas monteilii*であった。結局、延べ95種類のβ-ラクタマーゼ遺伝子が確認された。

3.4 医療機関への検査結果フィードバック定期化の試み

平成28年5月～平成29年3月に1医療機関から提供された薬剤耐性菌の菌株100株について、17種類の型のβ-ラクタマーゼ遺伝子を4系列のマルチプレックスPCR法で検索した。その結果、延べ112種類の型のβ-ラクタマーゼ遺伝子が80株において陽性となった。なお、即時性を重視し、スクリーニング検査的な結果であると断ったうえで、早期に結果をフィードバックするべく、定期的な結果報告を心がけた。

3.5 考察

今回、福井県内の医療機関より提供を受けたヒト由来のグラム陰性桿菌菌株(平成25年4月～平成26年4月に収集)および大腸菌菌株(平成25年4月～平成29年2月に収集)について、薬剤耐性状況を解析し、薬剤耐性遺

伝子のうち特にセフェム系薬剤およびカルバペネム系薬剤に耐性を獲得するβ-ラクタマーゼ遺伝子に焦点を絞って検索を行った。

その結果、最も警戒すべきCPEは確認されなかった。特に、“スーパー耐性菌”などと報道される海外由来の新たなタイプであるNDM型⁸⁾やKPC型⁹⁾の伝播は確認されず、国内にすでに定着しているとされるIMP-1型が、*Pseudomonas monteilii*で確認されたのみであった。

日本国内でのCPE確認の研究としては、平成22年9～12月に国立感染症研究所細菌第二部に送付された153株の薬剤耐性腸内細菌科細菌(カルバペネム系、フルオロキノロン系、アミノ配糖体系の3系統全てにRと判定された菌株)において、NDM-1型が2株、KPC型が2株、IMP-1型が72株で確認され、CTX-M型β-ラクタマーゼ遺伝子が48株で陽性だったとの報告¹⁴⁾がある。さらに、その研究も含めての数字と考えられるが、平成22年～平成26年11月に国立感染症研究所細菌第二部に送付された外来型CPEは、NDM型が25株、KPC型が15株、OXA-48型が2株とされている¹⁵⁾。これらの菌株が全国の医療機関から収集されていることを考慮すると、今回の調査対象菌株において外来型CPEが確認されなかったのは妥当な結果ともいえる。

なお、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: CRE)感染症は、感染症法に基づく感染症発生動向調査の5類全数把握疾患に平成26年9月19日に追加された。その届出基準は、今回の調査における耐性菌株の定義よりも厳しい条件で、今回解析対象とした菌株のうち届出対象に該当するのは2株程度と、それほど強い耐性を示す株は含まれていなかったともいえる。同様の調査としては愛媛県において、CRE感染症届出患者由来菌株を解析したがCPEではなく、薬剤耐性緑膿菌においてIMP-1型が9株確認され、またESBL産生菌として収集した菌株においてAmpC型β-ラクタマーゼ遺伝子が確認された報告¹⁶⁾がある。

遺伝子検出に用いたマルチプレックスPCR系については、多種類の遺伝子をまとめて解析可能であるが、偽陽性が見込まれる可能性も推定された。特定の菌種について、PCR陽性であるがβ-ラクタマーゼ産生が陰性となる株が複数存在した。ただし、遺伝子として存在していても、発現等のプロセスに至らない場合も考えられる。また、特にAmpC型β-ラクタマーゼ遺伝子については、染色体上に元々保有する菌種もある³⁾。より詳細な遺伝子配列解読まで行わないとどのケースか確認できないこともあり、スクリーニング検査としての活用にとどめ、より確かな判定が必要な場合には増幅遺伝子配列の確認やβ-ラクタマーゼ産生の確認等を併用すべきと思われる。

結局、確認されたβ-ラクタマーゼ遺伝子については、

表8 NGS解析により確認したβ-ラクタマーゼ遺伝子

β-ラクタマーゼ遺伝子	NGS 解析 菌株数	CTX-M型				SHV型	TEM型	AmpC型	カルバペネマーゼ	その他
		CTX-M-15	CTX-M-2	CTX-M-14	CTX-M-27					
<i>Escherichia coli</i>	48	4	1	12	27		15	1		3
<i>Klebsiella</i> spp.	7		4	1		6				1
<i>Enterobacter</i> spp.	11							4		
<i>Citrobacter</i> spp.	4		2				2	2		2
<i>Morganella</i> spp.	2			1			1	2		
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	6		1							1
<i>Pseudomonas</i> spp.	2								2	
	80	4	8	14	27	6	18	9	2	7

菌種によって種類に偏りが見られ、腸内細菌科細菌の菌種を超えての水平伝播と考えられるような症例はあまり見いだせなかった。しかし、これまで福井県内でのヒト由来菌株について確認できていたのは、大腸菌においてのESBL 遺伝子だけであり¹⁷⁻¹⁹⁾、他の 10 菌種において、CTX-M 型、SHV 型、TEM 型、AmpC 型等のβ-ラクタマーゼ遺伝子を確認できた意義は大きい。

大腸菌については、特に CTX-M 型 ESBL 遺伝子の拡散が問題となっており²⁰⁾、当センターにおいても平成 19 年以降ヒト由来株における検索を行ってきた¹⁷⁻¹⁹⁾。今回、213 株中 141 株が CTX-M group 別 PCR で陽性となり、その割合は CTX-M-1 G が 22.7%、CTX-M-2 G が 9.9%、CTX-M-9 G が 67.4%であった。他の報告¹⁷⁻²⁰⁾と比べるとやや CTX-M-2 G が少ないが、調査時期の違いによる可能性もある。4 剤以上の多剤耐性菌株 48 株について NGS 解析を行ったところ、*bla*CTX-M-27、*bla*TEM-1B、*bla*CTX-M-14、*bla*CTX-M-15 等のβ-ラクタマーゼ遺伝子を延べ 63 種類確認できた。諸外国では同一クローンで病原性を有する CTX-M-15 型の血清型 O25 : H4²¹⁾が、ヒトから高頻度に分離されていることから公衆衛生学的に注目されている。今回確認された *bla*CTX-M-15 は 9 剤等の多剤耐性菌株での検出で、また MLST の型も ST131 であることが同時に判明し、NGS 解析の有用性を痛感した。

4. まとめ

平成 25 年 4 月～平成 26 年 4 月に福井県内の協力医療機関から提供されたヒト由来薬剤耐性菌(サルモネラ属菌、大腸菌以外の菌種) 187 株について、β-ラクタマーゼ産生菌を検索した。その結果、20 株において延べ 32 種類のβ-ラクタマーゼ遺伝子配列が確認された。カルバペネマーゼとしては *bla*IMP-1 が 2 株確認されたが、腸内細菌科細菌ではなく、また海外由来の新たなタイプでもなかった。

また、平成 25 年 4 月～平成 29 年 2 月に、福井県内の協力医療機関から提供されたヒト由来のサルモネラ属菌 57 株および大腸菌 602 株について、薬剤感受性試験を行い、その薬剤耐性傾向を解析した。サルモネラ属菌については、薬剤耐性菌が占める割合は 40%で、比較的低かった。それに対し大腸菌は薬剤耐性菌の占める割合が 62%と過半数を超え、また耐性薬剤数が 4 剤以上である株が 31%を占めるなど、多剤耐性の傾向がより強かった。

大腸菌については、4 剤以上の多剤耐性菌株 48 株について NGS 解析を行ったところ、β-ラクタマーゼ遺伝子を延べ 63 種類確認できた。その中には、*bla*CTX-M-15 保有かつ ST131 の菌株が 4 株含まれていた。

謝辞

菌株提供にご協力いただきました、福井県内の医療機関(福井県済生会病院、福井勝山総合病院、市立敦賀病院、杉田玄白記念公立小浜病院、福井県立病院)の検査担当者の皆様にお礼申し上げます。また、NGS 解析を実施いただきました国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター黒田誠先生に深謝いたします。

参考文献

1) 矢野寿一 他：海外における薬剤耐性グラム陰性桿菌の

- 動向,日本化学療法学会雑誌, 59(1), 8-16(2011)
- 2) Zhao W. et al. : Epidemiology and Genetics of CTX-M Extended-Spectrum β-Lactamases in Gram-Negative Bacteria, Crit Rev Microbiol, 39(1), 79-101(2013)
- 3) Jacoby G. : AmpC β-Lactamases, Critical Microbiol Reviews, 22(1), 161-182(2009)
- 4) Queenan A. et al. : Carbapenemases : the Versatile β-Lactamases, Critical Microbiology Reviews, 20(3), 440-458(2007)
- 5) 荒川宜親：広域β-ラクタム薬耐性に関与するβ-ラクタマーゼの特徴と遺伝的相関,日本臨床微生物学雑誌, 13(3), 150-161(2003)
- 6) Bush K. et al. : Updated Functional Classification of β-Lactamases, Antimicrob Agents Chemother, 54(3), 969-976(2010)
- 7) 荒川宜親：β-ラクタマーゼの出現の歴史と世界的な動向,臨床と微生物, 42, 297-304(2015)
- 8) Yong D. et al. : Characterization of a New Metallo-β-Lactamase Gene Blandm-1, and a Novel Erythromycin Esterase Gene Carried on a Unique Genetic Structure in Klebsiella Pneumoniae Sequence Type 14 from India, Antimicrob Agents Chemother, 53, 5046-5054(2009)
- 9) Yigit H. et al. : Novel Carbapenem-Hydrolyzing β-Lactamase, KPC-1, from a Carbapenem-Resistant Strain of Klebsiella Pneumoniae, Antimicrob Agents Chemother, 45, 1151-1161(2011)
- 10) 感染研感染症疫学センター：カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症, IASR, 35, 281-282(2014)
- 11) Clinical and Laboratory Standards Institute, Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing ; Twenty-Second Informational Supplement, M100-S22, 32(3),(2012)
- 12) 中村彰宏 他：耐性遺伝子検出,臨床と微生物, 39, 591-599(2012)
- 13) 国立感染症研究所細菌第二部第一室：薬剤耐性菌研修会資料(2016)
- 14) 荒川宜親 他：我が国における新たな多剤耐性菌の実態に関する研究,厚生労働科学研究費補助金「新型薬剤耐性菌等に関する研究」平成 22 年度報告書, 11-27(2011)
- 15) 鈴木里和 他：外来型カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌の検出状況, IASR, 35, 287-288(2014)
- 16) 仙波敬子 他：地研における薬剤耐性菌解析の取り組み,衛生微生物技術協議会第 36 回研究会講演抄録集, 28(2015)
- 17) 石畝史 他：福井県内における人および鶏肉由来基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ産生大腸菌の分子疫学的解析,日獣会誌, 63, 883-887(2010)
- 18) 石畝史 他,鶏肉およびヒト由来 CTX-M 型基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ産生大腸菌の分子疫学的解析,福井県衛生研究センター年報, 9, 33-37(2011)
- 19) 石畝史 他：ヒト由来 CTX-M 型基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ産生大腸菌の性状,福井県衛生環境研究センター年報, 10, 96-98(2012)
- 20) Suzuki S. et al. : Change in the Prevalence of Extended-Spectrum β-lactamase-Producing Escherichia coli in Japan by Clonal Spread, J Antimicrob Chemother, 63, 72-79(2009)
- 21) Nicolas-Chanoine M.H. et al. : Intercontinental Emergence of Escherichia coli Clone O25 : H4-ST131 Producing CTX-M-15, J Antimicrob Chemother, 61, 273-281(2008)