

第47回薬剤耐性菌研究会

プログラム・抄録集

平成30年11月16日(金)・17日(土)
長野県松本市 ホテル翔峰

第 47 回薬剤耐性菌研究会

会 期：平成 30 年 11 月 16 日（金）12:55 ～
平成 30 年 11 月 17 日（土）12:20

会 場：ホテル翔峰
2 階 コンベンションホール『芙蓉の間』

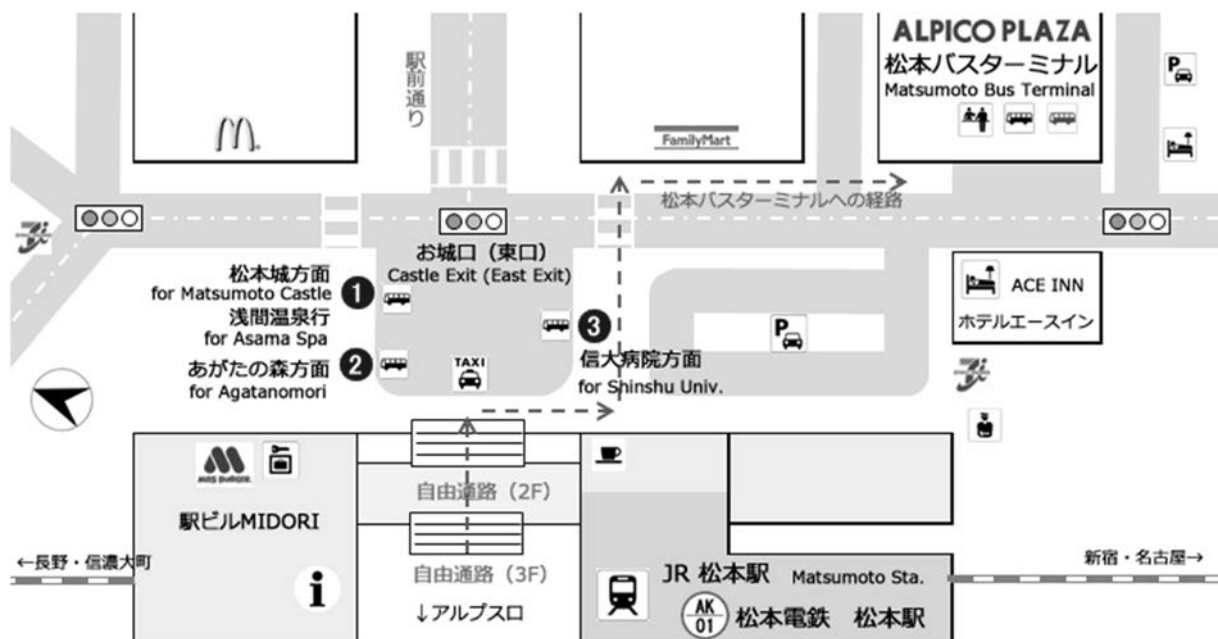
〒390-0221 長野県松本市大字里山辺 527 Tel:0263-38-7711
<http://www.hotel-shoho.jp/>

会 長：菅井 基行（国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター）
開催当番：長野 則之（信州大学大学院医学系研究科）

研究会事務局
連絡先：群馬大学大学院医学系研究科・薬剤耐性菌実験施設
代 表：富田 治芳

TEL: 027-220-7992 FAX: 027-220-7996

JR 松本駅からのご案内



- 松本駅の「お城口出口」を出て右に行くと交番があります。その交番前にホテル翔峰の無料送迎特別バスが待っています。マイクロバスが 11:45 発、次に大型バスが 12:15 発で利用可能です (両方で 70 名ほど)。
- 路線バスの場合、松本駅から徒歩で数分の松本バスターミナル（上記地図の点線）の 3 番乗り場より美ヶ原温泉線行（松本城経由）に乗り、ホテル翔峰前で下車します。
(所要約 20 分、大人 340 円)

路線バス：アルピコ交通

松本バスターミナル（3 番乗り場）→（松本城経由）→ホテル翔峰行き

（平日）9 時台から 21 時台 15 分 45 分 の 30 分間隔

お帰りの時

- 特別送迎としまして、松本駅行のマイクロバスと大型バスが研究会終了に合わせて利用可能です。
- 路線バスの場合、ホテル翔峰前から松本駅行が利用可能です。時刻表は当日研究会にて配布予定です。

ご 案 内

1. 参加受付

受付は11月16日（金）11:30より2F（玄関は3Fのため、1F下ります）
コンベンションホール「芙蓉の間」付近にて行います。

2. 宿泊／参加費

17,000 円（内訳：年会費 1,000 円、研究会参加費 6,000 円、宿泊費 10,000 円）
（個室希望の方は別途 7,000 円）

3. 口演発表

- ・一般演題の口演時間は10分程度とし、質疑応答を含めて15分です。
- ・1演題あたりスライド12枚程度でお願いします。
- ・発表はマイクロソフトパワーポイントでお願いします。
- ・液晶プロジェクターの入力端子はDsub-15ピンのみです。必要な場合はアダプターをご持参下さい。USBメモリ等で発表データをお持ちの方は、発表用PC（windows10, PowerPoint2013）を使用して頂くこともできます。Macintoshをご利用の方はご自身のPC本体をご持参下さい。
- ・発表に際し、COIやスポンサーシップ等につきましては、先生方ご自身で対応願います。

第 47 回薬剤耐性菌研究会プログラム

平成 30 年 11 月 16 日 (金)

12:55～18:30

12:55～13:00

開会の挨拶

菅井 基行(広島大学)

一般演題：発表 12 分、討論 3 分

13:00～

座長:平川 秀忠(群馬大学)

ESBL 産生菌

腸内細菌科細菌に見出される ESBL 遺伝子の多様化・進化における水系環境の役割

○田中隼斗¹，林 航¹，谷口 唯¹，松尾奈緒²，前山佳彦¹，小出将太¹，川村久美子²，長野由紀子²，荒川宜親²，長野則之¹

(¹信州大学大学院 医学系研究科，²名古屋大学大学院 医学系研究科)

基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ産生肺炎桿菌の次世代シーケンスによる網羅的解析

○野々垣里奈¹，飯島杏奈¹，鈴木匡弘²，荒川宜親³，川村久美子¹

(¹名古屋大学大学院医学系研究科医療技術学専攻，²藤田医科大学医学部微生物学講座，³名古屋大学大学院医学系研究科分子病原細菌学)

在宅医療患者および高齢者施設入所者から分離された基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ(CTX-M-27)産生大腸菌が保有するプラスミドの解析

○松尾奈緒¹，林謙吾²，藤本修平³，村上啓雄⁴，飯沼由嗣⁵，荒川宜親⁶，川村久美子¹

(¹名古屋大学大学院医学系研究科医療技術学専攻，²名古屋大学医学部附属病院検査部，³東海大学医学部基礎医学系生体防御学，⁴岐阜大学医学部附属病院生体支援センター，⁵金沢医科大学感染症学，⁶名古屋大学大学院医学系研究科分子病原細菌学)

13:45～

座長：多田 達哉(順天堂大学)

ゲノム解析

ドラフトゲノムによる IMP-1 保有プラスミド拡散様式の検討

○鈴木匡弘¹，伊藤亮太¹，和久田光毅²，石井潤一²，土井洋平¹

(¹藤田医科大学医学部，²藤田医科大学病院)

次世代シーケンス解析による *Klebsiella pneumoniae* の遺伝学的解析

○飯島杏奈¹, 鈴木匡弘², 川村久美子¹, 土井洋平², 荒川宜親³

(¹名古屋大学大学院 医学系研究科 医療技術学専攻, ²藤田医科大学 医学部 微生物学講座, ³名古屋大学大学院 医学系研究科 分子病原細菌学)

Genomic surveillance of *Neisseria gonorrhoeae* to investigate the distribution and evolution of antimicrobial resistance determinants and lineages

○Koji Yahara¹, Shu-ichi Nakayama², Ken Shimuta², Ken-ichi Lee², Masatomo Morita², Takuya Kawahata³, Toshiro Kuroki⁴, Yuko Watanabe⁴, Hitomi Ohya⁴, Mitsuru Yasuda⁵, Takashi Deguchi⁵, Xavier Didelot⁶, Makoto Ohnishi^{1,2} on behalf of Antibiotic-Resistant Gonorrhea Study Group

(¹ Antimicrobial Resistance Research Center, National Institute of Infectious Diseases,

²Department of Bacteriology I, National Institute of Infectious Diseases, ³ Division of Microbiology Virology Section, Osaka Institute of Public Health, ⁴ Department of Microbiology, Kanagawa Prefectural Institute of Public Health, ⁵ Department of Urology, Graduate School of Medicine, Gifu University, ⁶ Department of Infectious Disease Epidemiology, Imperial College)

～☕～☕～**coffee break** 14:30～14:45 ～☕～☕～

14:45～

座長: 山田 景土(東邦大学医療センター大森病院)

グラム陽性菌

愛玩動物臨床材料由来 MRSA の特性解析: ヒト臨床材料由来株との系統発生的比較

○谷口 唯¹, 小出将太¹, 前山佳彦^{1,2}, 林 航¹, 田中隼斗¹, 飯村将樹¹, 玉井清子², 鈴木匡弘³, 長野由紀子⁴, 荒川宜親⁴, 長野則之¹

(¹信州大学大学院 医学系研究科, ²ミロクメディカルラボラトリー, ³藤田医科大学 医学部, ⁴名古屋大学大学院 医学系研究科)

同一医療施設におけるペニシリン低感受性 B 群レンサ球菌 sequence type 1 の長期流行期間における血清型変遷事象の解明

○小出将太¹, 長野由紀子², 林 航¹, 谷口 唯¹, 田中隼人¹, 前山佳彦¹, 鈴木匡弘³, 木村幸司², 荒川宜親², 長野則之¹

(¹信州大学大学院 医学系研究科, ²名古屋大学大学院 医学系研究科, ³藤田医科大学 医学部)

日本のペニシリン低感受性 B 群レンサ球菌における、比較的高いセフトキシム、セフトリアキソン非感性株の割合

北村 証騎, ○木村 幸司, 井戸 綾香, 関 友望, 坂野 弘嗣, 金 万春, 和知 野純一, 山田 景子, 荒川 宜親

(名古屋大学大学院医学系研究科 分子病原細菌学)

15:30～

座長：鈴木 匡弘 (藤田医科大学)

診断・検出と抗菌素材

多剤耐性グラム陰性菌に有効な抗菌ポリマーの開発

成瀬 秀則¹, 一久 和弘¹, 井本 裕顕², 平林 亜希³, 柴山 恵吾⁴, ○鈴木 仁人³

(¹JSR 株式会社, ²京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科, ³国立感染症研究所薬剤耐性研究センター, ⁴国立感染症研究所細菌第二部)

耐性菌定義ファイルの標準化と標準化ファイル作成ツールの開発、公開

○藤本 修平¹, 谷本 弘一², 富田 治芳², 八木 哲也³, 柴山 恵吾⁴, 荒川 宜親³, 村上 啓雄⁵

(¹東海大学, ²群馬大学, ³名古屋大学, ⁴国立感染症研究所, ⁵岐阜大学)

LAMP 法による β -lactamase 遺伝子(OXA-48)検出

○笹野 まり^{a,b}, 関 みつ子^{a,c}, 高野 智圭^a, 早川 智^a

(^a日本大学医学部 病態病理学系微生物学分野, ^b日本大学医学部 脳神経外科学系神経外科学分野, ^c明海大学歯学部 口腔小児科学分野)

16:15～

座長：林 航 (信州大学)

クラス A、B、C、3 種の β -lactamase を同時に検出する簡易迅速法

○松本 佳巳^{1, 2}, 松永 直樹², 中山 典久², 霞 征和², 御子柴 孝晃²

(¹大阪大学産業科学研究所, ²株式会社フコク μ TAS 事業ユニット)

新規 DSTM チップを用いたカルバペネム耐性大腸菌の β -ラクタマーゼの迅速検査

○小川 美保¹, 坂田 竜二¹, 市村 禎宏¹, 霜島 正浩¹, 御子柴 孝晃², 松本 佳巳^{2, 3}

(¹(株) ビー・エム・エル総合研究所, ²(株) フコク マイクロ TAS 開発グループ, ³大阪大学産業科学研究所)

～☞～☞～ **coffee break** 16:45～17:00～☞～☞～

17:00～17:25

座長：富田 治芳（群馬大学）

ミニシンポジウム 1

医療関連感染を察知する

川上 小夜子（国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター）

17:25～17:50

ミニシンポジウム 2

日常検査における薬剤耐性菌の検出 ー表現型検査の使い方・考え方ー

中村 文子（順天堂大学医学部附属順天堂医院 臨床検査部）

17:50～18:30

座長：長野 則之（信州大学）

特別講演

JANIS から見たわが国の薬剤耐性菌の現状

柴山 恵吾

（国立感染症研究所
細菌第二部・薬剤耐性研究センター）

2 日目

平成 30 年 11 月 17 日 (土)

9:00～12:20

一般演題：発表 12 分、討論 3 分

9:00～

座長：和知野 純一（名古屋大学）

カルバペネム耐性

日本の医療施設で伝播・拡大する GES-5 カルバペネマーゼ産生 MDRP の分子疫学解析

○菱沼知美¹，多田達哉²，霜島正浩³，切替照雄²

(¹順天堂大学医学部 微生物学，²順天堂大学大学院医学研究科 微生物学，³株式会社ビー・エム・エル)

広島県にて海外渡航者より分離された *bla*_{NDM-7} 保有株および *bla*_{KPC-2} 保有株の解析

○鹿山鎮男^{1,2}，森三郎^{1,3}，池田光泰^{1,2,4}，鈴木仁人⁵，矢原耕史⁵，柴山恵吾⁶，大毛宏喜^{1,7}，菅井基行^{1,5,8}

(¹広島大学 院内感染症プロジェクト研究センター，²広島大学大学院 医歯薬保健学研究科 細菌学，³尾道市立市民病院 中央検査室，⁴JA 広島総合病院 臨床研究検査科，⁵国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター，⁶国立感染症研究所 細菌第二部，⁷広島大学病院 感染症科，⁸広島大学大学院 医歯薬保健学研究科 薬剤耐性学講座)

海外渡航歴のない患者より初めて確認された *bla*_{NDM-7} 保有 *Escherichia coli* ST1585 及び *Citrobacter freundii* の解析

○飯村将樹¹，白石淑子²，鷲野恵一²，小出将太³，林航³，谷口唯³，田中隼人³，前山佳彦³，長野由紀子⁴，長野則之^{1,3}

(¹信州大学医学部 保健学科，²長野赤十字病院 検査部，³信州大学大学院 医学系研究科，⁴名古屋大学大学院 医学系研究科)

9:45～

座長：鹿山 鎮男（広島大学）

洗浄用シンクより検出された NDM-1 産生 *Acinetobacter pittii* の解析

○春日恵理子¹，名取達矢¹，林航²，長野由紀子³，長野則之²，堀内一樹¹，根岸達哉¹，松岡美奈¹，樋口祥子¹，松本剛¹，本田孝行¹

(¹信州大学医学部附属病院 臨床検査部，²信州大学大学院 医学系研究科，³名古屋大学大学院 医学系研究科)

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌病原体サーベイランス、2017 年

○松井真理¹，川上千晶²，鈴木里和¹，松井珠乃³，大石和徳³，菅井基行¹

(¹国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター，²国立感染症研究所 実地疫学専門
家養成コース，³国立感染症研究所 感染症疫学センター，全国地方衛生研究所)

メタロ-β-ラクタマーゼ阻害剤開発の試み

○和知野純一，金万春，木村幸司，荒川宜親

(名古屋大学大学院医学系研究科 分子病原細菌学)

～☪～☪～ **coffee break** 10:30～10:45～☪～☪～

10:45～

座長：鈴木 仁人(国立感染症研究所)

コリスチン耐性 (*mcr-1*)

日本の医療施設で分離された *mcr-1* 陽性コリスチン耐性腸内細菌科細菌

○内田大貴¹，多田達哉¹，上地幸平²，菅原美絵³，宮入烈³，藤田次郎²，切替照
雄¹

(¹順天堂大学大学院微生物学，²琉球大学医学部附属病院，³国立成育医療研究セ
ンター)

水系環境から検出されたコリスチン耐性腸内細菌科細菌の耐性機序の多様性と長期定着の危険性

○林航¹，田中隼斗¹，谷口唯¹，松尾奈緒²，小出将太¹，前山佳彦¹，川村久美子²，
長野由紀子²，荒川宜親²，長野則之¹

(¹信州大学大学院 医学系研究科，²名古屋大学大学院 医学系研究科)

11:15～

座長：鈴木 里和(国立感染症研究所)

疫 学

高齢者介護施設における多剤耐性菌保菌の実態と保菌リスク因子の検討

○小椋正道¹，阿部敏子²，大島利夫³，大楠清文⁴，藤本修平⁵

(¹東海大学医学部看護学科，²特別養護老人ホームたまプラーザ倶楽部，³千葉科
学大学危機管理学部，⁴東京医科大学 微生物学分野，⁵東海大学医学部 基礎医学
系生体防御学)

臨床材料由来 *Campylobacter jejuni* の薬剤感受性と遺伝的特徴

○山田景土¹，齋藤良一²，武藤沙起里³，佐々木雅一¹，村上日奈子¹，青木弘太郎⁴，石井良和⁴，舘田一博⁴

(¹ 東邦大学医療センター大森病院臨床検査部，² 東京医科歯科大学大学院，³ 東京都保健医療公社豊島病院，⁴ 東邦大学医学部微生物・感染症学講座)

JANIS 検査部門における検査材料別薬剤感受性集計の検討

○島川宏一¹，川上小夜子¹，安齋栄子¹，平林亜希¹，筒井敦子¹，矢原耕史¹，柴山恵吾^{1,2}，菅井基行¹

(¹ 国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター，² 細菌第二部)

JANIS 公開情報における薬剤耐性菌の動向と地域別分布状況(2017 年)

○川上小夜子¹，島川宏一¹，安齋栄子¹，平林亜希¹，筒井敦子¹，矢原耕史¹，柴山恵吾^{1,2}，菅井基行¹

(¹ 国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター，^{1,2} 細菌第二部)

12:15～12:20

閉会の挨拶

11 月 16 日（金） 17:00～17:25

ミニシンポジウム 1 抄 録

医療関連感染を察知する

川上 小夜子

（国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター）

医療関連感染を察知する

川上 小夜子

国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター

医療関連感染とは、急性期病院、長期療養施設、外来クリニック、透析センター、日帰り全身麻酔手術施設、在宅医療サービスなどで発生した感染症を示し、医療従事者が医療施設内で結核菌などに感染した職業感染も含まれる。本シンポジウムでは、薬剤耐性菌による院内感染の察知に局限して解説する。

厚生労働省からは平成 26 年に「医療機関における院内感染対策について」の通達が出されており(医政地発 1219 第 1 号 平成 26 年 12 月 19 日)、その中の多剤耐性菌によるアウトブレイクの定義と対応の項は、薬剤耐性菌による院内感染を察知する上で重要な基準となる。また、厚生労働省院内感染対策サーベイランス(JANIS)では、参加医療機関ごとに月報還元情報として自施設から分離された特定の耐性菌の分離率を箱ひげ図で示すとともに、分離患者数を折れ線グラフで表示し、病棟別・検体別にも分離患者数を集計し返却していることから、自施設での薬剤耐性菌の動向を月単位で察知することができる。一方、各医療機関の細菌検査室においては、細菌が分離された時点で、問題となる薬剤耐性菌か否かの判断やアウトブレイクの早期察知が求められている。本シンポジウムでは、厚生労働省の通達内容や JANIS データの活用法を含めて、細菌検査室で薬剤耐性菌の増加やアウトブレイクを早期に察知するための注意事項とコツについて解説したい。

厚生労働省通達の多剤耐性菌によるアウトブレイクの定義に関する要約

アウトブレイク:一定期間内に同一病棟や同一医療機関といった一定の場所で発生した院内感染の集積が通常よりも高い状態。

サーベイランス:各医療機関は、疫学的にアウトブレイクを把握できるよう、日常的に菌種ごと及び下記③の多剤耐性菌についてサーベイランスを実施する。

各医療機関では、JANIS 等の全国的なサーベイランスデータと比較し、自施設での薬剤耐性菌の分離率や感染症の発生率が他施設に比べて高くなっていないかを、日常的に把握するように努める。

アウトブレイクに従じた基準:

- ①1 例目の発見から 4 週間以内に、同一病棟において新規に同一菌種による感染症の発病症例が計 3 例以上特定された場合。
- ②1 例目の発見から 4 週間以内に、同一医療機関内で同一菌株と思われる感染症の発病症例(抗菌薬感受性パターンが類似した症例等)が計 3 例以上特定された場合。
- ③カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)、バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌(VRSA)、多剤耐性緑膿菌(MDRP)、バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)及び多剤耐性アシネトバクター属(MDRA)の 5 種類の多剤耐性菌については、保菌も含めて 1 例目の発見をもって、アウトブレイクに準じて嚴重な感染対策を実施する。
- ④同一医療機関内で同一菌種又は共通する薬剤耐性遺伝子を含むプラスミドを有 すると考えられる細菌による感染症の発病症例(上記③の多剤耐性菌は保菌者を含む)が多発した場合(目安として 1 事例につき 10 名以上となった場合)。

11 月 16 日（金） 17:25～17:50

ミニシンポジウム 2 抄 録

**日常検査における薬剤耐性菌の検出
ー表現型検査の使い方・考え方ー**

中村 文子

（順天堂大学医学部附属順天堂医院 臨床検査部）

日常検査における薬剤耐性菌の検出
ー表現型検査の使い方・考え方ー

順天堂大学医学部附属順天堂医院 臨床検査部
中村 文子

本邦では、1990 年代より Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)、metallo beta-lactamase (MBL)、AmpC beta-lactamase (AmpC) といった β -ラクタム系薬分解酵素を産生するグラム陰性桿菌が台頭し、院内流行事例も報告されている。これらの多くはプラスミドを介し菌種を超えて伝達することから、感染対策上重要な薬剤耐性菌に位置づけられている。また、最近では本邦で検出例のない遺伝子型のカルバペネマーゼが諸外国から持ち込まれ、さらには‘ステルス型’と称されるカルバペネム系薬低感受性の Carbapenemase producing Enterobacteriaceae (CPE) が、日常検査での判定を悩ませている。

一般に微生物検査室では、腸内細菌科細菌における上記 β -ラクタマーゼ産生菌の検出の手順として、第 1 に薬剤感受性検査結果でスクリーニングし、次に酵素阻害試験など表現型の検査を確認試験として実施する。表現型の検査は、ESBL 産生菌を除いて Gold standard は設定されておらず、施設ごとに模索しながら実施しているのが実情であろう。

例えば、CPE を正しく検出するには Sodium Mercaptoacetate (SMA) や Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)、Dipicolinic acid (DPA)、Boronic acid (BA) などの酵素阻害薬をどのように組み合わせるか、Modified Carbapenemase Inactivation Method (mCIM) や Hodge's test などカルバペネム系薬不活化確認試験も同時に実施しなければならない。また、最近ではこれらを modified した新たな方法も考案されている。日常検査で用いる表現型検査の使い方、注意点や特徴などを整理し、効率的な検出法を考えてみたい。

11 月 16 日（金） 17:50～18:30

特別講演 抄 録

JANIS から見たわが国の薬剤耐性菌の現状

柴山 恵吾

国立感染症研究所
細菌第二部
薬剤耐性研究センター

JANIS から見たわが国の薬剤耐性菌の現状

○柴山恵吾^{1,2}、矢原耕史²、平林亜希²、筒井敦子²、川上小夜子²、安齋栄子²、
島川宏一²、菅井基行²

(国立感染症研究所細菌第二部¹、薬剤耐性研究センター²)

日本の薬剤耐性対策アクションプランでは、成果指標として主な菌種について薬剤耐性率を減少させる目標値が設定されている。アクションプランに基づく取り組みのフォローアップの一環として 2017 年 10 月に厚生労働省は、国内における人分野、家畜分野の主な薬剤耐性に関する動向調査の結果をまとめた薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書(2017)を作成し、ホームページで公開した(https://www.mhlw.go.jp/stf/shingi/other-kenkou_412188.html)。この報告書には、人分野では厚生労働省院内感染対策サーベイランス(JANIS)、動物分野では動物由来薬剤耐性菌モニタリング(JVARM)などのデータが集約されている。また、これらを見やすくするため、国立国際医療研究センターAMR 臨床リファレンスセンターがホームページで薬剤耐性率の年次推移の図などを公開している(<https://amr-onehealth.ncgm.go.jp>)。このセッションでは、JANIS などこれらの動向調査のデータを用いて我が国の薬剤耐性菌の状況を説明したい。またアクションプランでは、薬剤耐性の動向調査の強化、国際協力の推進が目標に含まれている。国立国際医療研究センターAMR 臨床リファレンスセンターは、感染対策連携共通プラットフォーム(J-SIPHE: Japan Surveillance for Infection Prevention and Healthcare Epidemiology)を立ち上げ、JANIS のデータを使いながら任意のグループ間で自施設との比較が可能なシステムを構築し、現在試行が行われている。国際協力については、国立感染症研究所が JANIS その他国内の動向調査で集計したデータを集約して WHO が実施している薬剤耐性グローバルサーベイランス(GLASS)に提供したり、JANIS 検査部門を海外の医療機関も利用できるようにして、インフラが脆弱な発展途上国の病院のサーベイランス体制の構築に協力している。薬剤耐性の動向調査について、これら今後に向けた取り組みについても紹介したい。

一般演題抄録集

腸内細菌科細菌に見出される ESBL 遺伝子の多様化・進化における水系環境の役割

田中 隼斗¹, 林 航¹, 谷口 唯¹, 松尾 奈緒², 前山 佳彦¹, 小出 将太¹, 川村 久美子²
長野 由紀子², 荒川 宜親², 長野 則之¹

¹信州大学大学院 医学系研究科, ²名古屋大学大学院 医学系研究科

【目的】 ヒト由来薬剤耐性菌の中でも ESBL 産生腸内細菌科細菌は多様化・進化を遂げ、その伝播・拡散が世界的な最重要問題の一つとなっている。われわれはワンヘルスの概念から国内でいまだ実態が不明な水系環境がこのような ESBL 産生菌の多様化・進化に果たす役割について検討を試みた。

【材料と方法】 2017年に長野県内の同一処理施設内の3箇所の流入入口を対象に4ヶ月間にわたり採水した下水流入水12試料について CTX 耐性 *Escherichia coli* 及び *Klebsiella pneumoniae* を対象に *bla*_{CTX-M} の検出・同定を行った。また、*E. coli* については系統発生群別、MLST、O25b 型別、*fimH* 型別を行った。また、下水流入水由来 *bla*_{CTX-M64} 及び *bla*_{CTX-M123} 保有 *E. coli* に加え、比較解析を目的に新奇なキメラ型 ESBL 遺伝子として Nagano ら (AAC, 2009) が初めて報告した *bla*_{CTX-M64} を保有する中国帰国者下痢症患者由来 *Shigella sonnei* 及び Kawamura ら (MDR, 2017) が国内の愛玩動物で初めて報告した *bla*_{CTX-M123} を保有する *E. coli* の4株を対象に NGS 解析(染色体 and/or プラスミド)を行った。

【結果と考察】 ESBL 産生菌は *E. coli* で 50 株、*K. pneumoniae* で 18 株の計 68 株が検出された。また、保有 ESBL 遺伝子は *E. coli* 50 株中 *bla*_{CTX-M14} が 14 株、*bla*_{CTX-M15} が 12 株、*bla*_{CTX-M27} が 10 株、*bla*_{CTX-M55} が 5 株と多かった。*K. pneumoniae* では 18 株中 *bla*_{CTX-M3} が 14 株と優位であった。ESBL 産生 *E. coli* の系統発生群別では F 群が 14 株、B2 群が 11 株、A 群が 10 株と多かった。*E. coli* 50 株は 26 の ST 型に分類され多様であった。しかしながら、ST131 が 7 株、ST648 が 6 株、ST10 が 5 株、ST38 が 5 株とヒト由来株で多く報告のあるクローンが検出された。特にヒト世界流行クローンに属する B2-O25b-ST131-H30R/Rx lineage が *bla*_{CTX-M15} 保有の 1 株、B2-O25b-ST131-H30R/non-Rx lineage が *bla*_{CTX-M27} 保有の 3 株で確認された。

注目すべきことに国内を起源とするヒト臨床分離株からは確認されていなかったキメラ型 ESBL 遺伝子の *bla*_{CTX-M64} 及び *bla*_{CTX-M123} が同一流入口由来の *E. coli* C-O8:H17-ST10-*fimH41* 及び F-O11:H25-ST1674-*fimH138* の各 1 株からそれぞれ検出された。CTX-M-64、-123 のアミノ酸配列はともに N 末側と C 末側が CTX-M-15 のアミノ酸配列と一致し、中央領域が CTX-M-14 のアミノ酸配列と一致していた。Nagano らの *bla*_{CTX-M64} は周辺構造 *ISEcp1-bla*_{CTX-M64}-*Δorf477-yajA-orf1-orf2-dnaJ-orf3* を有し、IncI2 プラスミド上に存在していた。一方、下水流入水由来 *bla*_{CTX-M64} 保有 *E. coli* については接合伝達株や形質転換株は得られなかったが、本株の NGS 解析の結果、少なくとも *bla*_{CTX-M64} の周辺構造 *ISEcp1-bla*_{CTX-M64}-*Δorf477-yajA-orf1-orf2-dnaJ-orf3* の 5,797 bp 塩基配列が上述の周辺構造配列と一致しており、*ISEcp1* の上流の 125.3 kb の塩基配列は染色体の塩基配列由来であることが確認された。従って *ISEcp1* 媒介による染色体への *bla*_{CTX-M64} の転移が示唆される。一方、下水流入水及び Kawamura らの愛玩動物由来 *E. coli* 保有の *bla*_{CTX-M123} は周辺構造 *ISEcp1-bla*_{CTX-M123}-*Δorf477-yajA-orf1-orf2-dnaJ* の塩基配列が一致し、いずれも IncI1 プラスミド上に存在していたが、pMLST 型はそれぞれ新規 ST 及び ST108 と異なっていた。

本研究から、下水などの水系環境が ESBL 遺伝子の多様化・進化に重要な役割を果たしているものと考えられる。地球温暖化による異常気象がもたらす豪雨により、地上への下水の溢水が頻繁化している現状にあって、われわれの知見は市中における薬剤耐性菌の拡散リスクの観点から公衆衛生上重要な問題を提起している。

基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ産生肺炎桿菌の 次世代シーケンスによる網羅的解析

○野々垣里奈¹、飯島杏奈¹、鈴木匡弘²、荒川宜親³、川村久美子¹

(¹ 名古屋大学大学院医学系研究科医療技術学専攻、² 藤田医科大学医学部微生物学講座、

³ 名古屋大学大学院医学系研究科分子病原細菌学)

【目的】基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (Extended-spectrum β -lactamase; ESBL)産生菌の世界的蔓延が問題になっている。ESBL 産生肺炎桿菌(ESBL Kp)の検出頻度は大腸菌に比べて高くないものの、2000 年以降、年々増加傾向にあり、2016 年の JANIS の年報(全体)によると CTX 耐性株の割合は 8.9%に達している。一方で、ESBL Kp に関する研究は国内外ともに未だ少なく、その分子生物学的特徴については不明な点が多い。そこで、本研究では、次世代シーケンサー(NGS)を用いた網羅的解析により、ESBL Kp の分子生物学的特徴を明らかにすることを目的とし解析をおこなった。

【材料・方法】2014 年から 2016 年の間に収集された肺炎桿菌 99 株のうち、PFGE 解析の結果から全ゲノム解析をおこなう ESBL 産生株 16 株、非産生株 8 株を選択した。NGS の 1 機種である Miseq (illumina)にて、これら 24 株の塩基配列を決定後、PlasmidFinder 1.3 を用いて Plasmid replicon type を、ResFinder 3.0 を用いて耐性遺伝子保有の有無を検索した。また、配列を Pasteur MLST データベースと参照し、sequence type (ST)および遺伝学的 K 莢膜型(gK 型)を決定した。薬剤感受性試験は CLSI 勧告法に準拠した寒天平板希釈法にて行った。

【結果・考察】解析した 24 株の ST 型は ST280(6 株)、ST412(4 株)、ST11(1 株)など 11 タイプに分類された。このうち ST280 は ESBL 産生株にのみ認められ、その全てが莢膜型 gK23 で、Inc type FII_K、FIB に属するプラスミドを保有していた。eBURST 解析からは、世界的流行クローン ST258 が属する Clonal Complex (CC) 258 と同じ ST 型は ST11 のみであり、最も多く分離された ST280、次に多かった ST412 はそれぞれ異なる CC に属していた。ESBL 産生株が保有する *bla*_{CTX-M} の内訳は CTX-M-15(M15)が 68.8% (11/16)、CTX-M-14(M14)が 25.0% (4/16)、CTX-M-27(M27)が 6.25% (1/16)であり、M15 産生株 11 株中 6 株が gK23-ST280 であった。保有する薬剤耐性遺伝子の数については、ESBL 産生株が平均 9.6 個、ESBL 非産生株が平均 3.5 個であり、ESBL 産生株の方が 2.7 倍多かった。また、M15 産生株 11 株中 6 株に認められた gK23-ST280 は non-ST280 に比し耐性遺伝子を多く保有する傾向にあった。耐性遺伝子の種類をみると、ESBL 産生株 16 株中 13 株が *aac*(6')-*lb*-*cr*、*aph*(3'')-*lb*、*aph*(6)-*ld* などのアミノグリコシド(AG)耐性遺伝子を 1 つ以上保有していたが、ESBL 非産生株は SHV 型や LEN 型などのペニシリナーゼの耐性遺伝子を複数保有したが、AG 耐性遺伝子を保有する株は 1 株も認められなかった。また、薬剤排出ポンプの役割を担い、キノロン耐性に寄与するといわれる *oqxAB* は、解析した 24 株全てが保有していたが、ESBL 非産生株 8 株はフルオロキノロン系薬に感性を示した。一方、ESBL 産生株はプラスミド性キノロン耐性遺伝子(*qnrB66*、*aac*(6')-*lb*-*cr*)を保有するなどして 93.8%(15/16)がシプロフロキサシンに対し耐性を示した。ESBL 産生株は M15 や M27 産生株が多いこともあり、81.2%(13/16)がセフトラジジムに耐性もしくは中間を示した。AG 耐性については、AG 耐性遺伝子を 3 つ(*aac*(6')-*lb*-*cr*、*aph*(3'')-*lb*、*aph*(6)-*ld*)保有する ESBL 産生株 8 株のうち 6 株がカナマイシンに耐性もしくは中間を示したものの、ゲンタマイシンおよびアミカシンに対してはいずれも感受を示した。

本研究で、国内で分離される ESBL KP は、非産生株と比べ複数の薬剤耐性遺伝子を保有していること、また M15 産生 gK23-ST280 が多く認められることが明らかになった。今後は、M15 産生 gK23-ST280 が保有するプラスミドの解析を実施する予定である。

在宅医療患者および高齢者施設入所者から分離された基質特異性拡張型

β -ラクタマーゼ(CTX-M-27)産生大腸菌が保有するプラスミドの解析

○松尾奈緒¹、林謙吾²、藤本修平³、村上啓雄⁴、飯沼由嗣⁵、荒川宜親⁶、川村久美子¹

(¹名古屋大学大学院医学系研究科医療技術学専攻、²名古屋大学医学部附属病院検査部、³東海大学医学部基礎医学系生体防御学、⁴岐阜大学医学部附属病院生体支援センター、⁵金沢医科大学感染症学、⁶名古屋大学大学院医学系研究科分子病原細菌学)

【目的】我々は5県9施設の在宅医療患者および高齢者介護施設入所者258名を対象に、基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ(Extended-spectrum- β -lactamase, ESBL)産生菌の保菌調査を行い、保菌率は24.0%、検出されたESBL産生大腸菌59株においては、CTX-M-27産生B2-O25b-ST131-H30が主流(23/59, 39.0%)であることを昨年の本研究会で報告した。本研究では、これらCTX-M-27産生大腸菌が保有するプラスミドを、次世代シーケンサーを用いて解析し、健常者由来CTX-M-27産生大腸菌のそれと比較することで、市中環境に拡散する $bla_{CTX-M-27}$ 保有プラスミドの特徴を明らかにすることを目的とした。

【材料・方法】在宅医療患者および高齢者介護施設入居者の糞便由来ESBL産生大腸菌(以下、在宅由来株)59株のうち、形質転換に成功したCTX-M-27産生大腸菌25株(B2-O25-ST131-H30, 23株; A-O8-ST7844, 2株)のプラスミド解析を行った。常法に従いプラスミドDNAを精製した後、次世代シーケンサーMiseq (illumina)にて塩基配列を解析した。得られた配列はA5-miseqにてアセンブリを実施し、耐性遺伝子の検索、plasmid replicon type (Inc type)およびplasmid multilocus sequence typing (pMLST)の決定を行った。各プラスミドのサイズはS1ヌクレアーゼ処理を行い、Pulsed-fields gel electrophoresis (PFGE)にて決定した。また、比較対照として、健常人糞便由来CTX-M-27産生大腸菌6株(B2-O25b-ST131)を用いて同様の解析を行った。

【結果・考察】解析した在宅由来ESBL産生大腸菌25株はすべてIncFプラスミド上に $bla_{CTX-M-27}$ を保有しており、このIncFプラスミドのサイズは40-146kbpであった。pMLSTについては、25株中20株(80%)がF1:A2:B20であった。保有する耐性遺伝子は主にアミノグリコシド耐性遺伝子(*aph(3'')-Ib*, *aph(6)-Id*, *aadA5*)、スルファメトキサゾール耐性遺伝子(*sul2*)、テトラサイクリン耐性遺伝子(*tetA*)であり、保有数は $bla_{CTX-M-27}$ のみの1個から最大10個と多様であった。一方、健常人由来6株から得られた $bla_{CTX-M-27}$ 保有プラスミドのサイズは90-130kbp、すべてIncFグループに属し、pMLSTはF1:A2:B20、保有する耐性遺伝子の数は $bla_{CTX-M-27}$ を含めて9個であり、その種類は6株全てで一致した。これら健常人由来株のプラスミドと在宅由来株のそれらとを比較したところ、プラスミドサイズが類似し、かつ保有する耐性遺伝子の数と種類が同一であるものは、在宅由来株25株中わずか3株(異なる3施設から検出されている)のみであった。そして、在宅由来株においては、プラスミド上に耐性遺伝子 $bla_{CTX-M-27}$ 1つのみを保有する株は25株中7株と全体の約1/3を占めていたが、これら7つのプラスミドのサイズはすべて異なっており、構造的に多様なプラスミドを保有していることが明らかとなった。以上の結果から、在宅由来ESBL産生大腸菌においては、 $bla_{CTX-M-27}$ を保有するIncFプラスミド、特にpMLSTがF1:A2:B20であるプラスミドを保有している株が多くを占めていることが明らかとなった。一方で、これらのプラスミドの特徴は健常人由来株に比べ多様であったことから、健常者とは異なる経緯で市中環境に広がった可能性が示唆された。

ドラフトゲノムによる IMP-1 保有プラスミド拡散様式の検討

鈴木匡弘¹、伊藤亮太¹、和久田光毅²、石井潤一²、土井洋平¹

¹藤田医科大学医学部、²藤田医科大学病院

【目的】抗菌薬の選択肢が限られるカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌(CPE)は世界中から報告され、社会問題となっている。幸い日本における検出頻度は高くないため、蔓延を防ぐようコントロール可能な状態にあると考えられる。CPE 蔓延を制御するには CPE 伝播の監視する必要があるが、カルバペネマーゼが乗ったプラスミドが他の菌に取り込まれて広がることを考慮する必要があるため、プラスミド解析が欠かせない。そこで IMP-1 産生 *Enterobacter cloacae* complex の菌を全ゲノムドラフト解析し、保有プラスミドの系統推定を行うことで、プラスミドの伝播様式解明することを本研究の目的とした。

【方法】藤田医科大学病院で分離された 43 株の *bla*_{IMP-1} (IMP-1) 産生 *E. cloacae* complex の菌を全ゲノムドラフト解析した。plasmid finder のデータベースを用いて Inc 型決定し、さらに該当 Inc 型プラスミドの公開データを元に、プラスミドと推定される contig を決定し、配列比較を行った。

【結果】38 株から IncHI2 のプラスミドが見つかった。これらのうち 29 株は *E. hormaechei* ST78 だったが、他の ST 型の *E. hormaechei* および *E. asburiae* から IncHI2 が見つかった。IMP-1 を含む contig の周辺構造も IncHI2 と推定される配列を含み、IMP-1 は IncHI2 のプラスミド上にあると推定された。また、このプラスミドは日本で報告されている *Enterobacter* 属菌の IMP-1 保有 IncHI2 プラスミド構造に近いと推定された。さらに IncHI2 が見つからなかった 6 株のうち 3 株から、他の株が保有する IncHI2 プラスミド由来と考えられる配列が見られた。これらのうち、2 株については IMP-1 を含むおよそ 20kbp の領域が他の IncHI2 保有株と共通しており、なおかつ contig 中の IncHI2 と相同性を示さない部分の配列から、IncHI2 プラスミドから染色体に移動したと推定された。また、1 株については IncHI2 由来の塩基配列が見いだされたものの、IMP-1 との関連は不明瞭で、IncHI2 保有株との関連性は分からなかった。

【結論】今回は、ドラフトゲノム解析データからの予測であるが、多くの情報が得られることが判明した。また、CPE の伝播様式として、菌およびプラスミド伝播に加え、伝播したプラスミドが組替えを起こし、染色体に組み込まれた可能性が示された。プラスミド伝播の監視では組換えも考慮する必要がある。

次世代シーケンス解析による *Klebsiella pneumoniae* の遺伝学的解析

○ 飯島杏奈¹、鈴木匡弘²、川村久美子¹、土井洋平²、荒川宜親³

(¹名古屋大学大学院 医学系研究科 医療技術学専攻、²藤田医科大学 医学部 微生物学講座、³名古屋大学大学院 医学系研究科 分子病原細菌学)

【目的】呼吸器感染症や血流感染症の起因菌の一つである肺炎桿菌 (*Klebsiella pneumoniae*) の中で、近年、高病原性株が注目されている。*K. pneumoniae* の病原性には、莢膜血清型 (K 型) や MagA、RmpA、シデロフォア等の因子の関与が指摘されている。本研究は、本邦における肺炎桿菌の臨床分離株の遺伝学的特徴について解明し、高病原性肺炎桿菌感染のリスク検討を目的とした。

【方法】2014 年 9 月～2016 年 11 月にかけて、関東を中心に日本全国で分離された *K. pneumoniae* 90 株を解析対象とし、全ての株に対して次世代シーケンス (NGS) 解析を実施した。得られたゲノムデータを用いて、Institut Pasteur MLST のプロトコルに従って ST (Sequence Type) および遺伝学的 K 型 (gK 型) の推定、及び様々な病原因子の保有の有無を確認した。なお、病原遺伝子 *rmpA* および *rmpA2* については、ドラフトゲノム解析ではデータ脱落傾向が見られたため、PCR による遺伝子保有の確認を行った。

【結果・考察】臨床分離 90 株のゲノム情報に基づいた MLST 解析では、ST280 および ST412 がともに 9 株 (10.0%) と最も優位であり、ST280 株はすべて gK 型が gK23 であった。高病原性と相関があるとされる K1 型と K2 型については、7 株 (7.8%) が gK1、5 株 (5.6%) が gK2 と推定された。gK1 の 7 株は全て gK1-ST23 株であった。また gK2 の 5 株のうち、gK2-ST25 株、gK2-ST65 株、gK2-ST86 株がそれぞれ 2 株、2 株、1 株確認された。病原因子に関しては、莢膜多糖体合成の調節因子である *rmpA* 保有株は 32 株 (35.6%)、*rmpA2* 保有株は 31 株 (34.4%) であり、gK2-ST25 に属する 2 株を除くすべての gK1 株および gK2 株は *rmpA*、*rmpA2* とともに陽性を示した (10/12 株、83.3%)。また、シデロフォア (*iutA* ; アエロバクチン、*iroN* ; サルモケリン、*ybtS*、*fyuA* ; エルシニアバクチン) やアドヘシン (*mrkD*) などの病原因子は gK1 株および gK2 株の 12 株から高い検出率を示し、*iutA* は 75.0%、*iroN* は 83.3%、*ybtS* は 66.7%、*fyuA* は 66.7%、*mrkD* は 100%であった。本研究により、重篤な肝膿瘍を引き起こす株として海外で特に問題視されている gK1-ST23 株が日本においても一定の割合で認められ、それらの株は多数の病原因子を保有していることから、肺炎桿菌感染症重篤化リスクの存在が明らかになった。今後クローナルな拡散も懸念され、高病原性を有する特定クローンの継続的な動向監視が必要と考えられる。

Genomic surveillance of *Neisseria gonorrhoeae* to investigate the distribution and evolution of antimicrobial resistance determinants and lineages

Koji Yahara¹, Shu-ichi Nakayama², Ken Shimuta², Ken-ichi Lee², Masatomo Morita², Takuya Kawahata³, Toshiro Kuroki⁴, Yuko Watanabe⁴, Hitomi Ohya⁴, Mitsuru Yasuda⁵, Takashi Deguchi⁵, Xavier Didelot⁶, Makoto Ohnishi^{1,2}

on behalf of Antibiotic-Resistant Gonorrhea Study Group

¹ Antimicrobial Resistance Research Center, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan; ² Department of Bacteriology I, National Institute of Infectious Diseases, Tokyo, Japan; ³ Division of Microbiology Virology Section, Osaka Institute of Public Health, Osaka, Japan; ⁴ Department of Microbiology, Kanagawa Prefectural Institute of Public Health, Kanagawa, Japan; ⁵ Department of Urology, Graduate School of Medicine, Gifu University, Gifu, Japan; ⁶ Department of Infectious Disease Epidemiology, Imperial College, London, UK.

[Background] The first extensively drug resistant (XDR) *Neisseria gonorrhoeae* strain with high resistance to the extended-spectrum cephalosporins (ESC) ceftriaxone was identified in 2009 in Japan, but no other strain with this antimicrobial resistance profile has been reported since. However, surveillance so far has been based on phenotypic methods and sequence typing, not genome sequencing. Therefore, little is known about the local population structure at the genomic level, and how resistance determinants and lineages are distributed and evolve.

[Materials and Methods] We analyzed whole-genome sequence data and antimicrobial susceptibility testing results of 204 strains sampled in a region where the first XDR ceftriaxone-resistant *N. gonorrhoeae* was isolated, complemented with 67 additional genomes from other timeframes and locations within Japan.

[Result and Discussion] Strains resistant to ceftriaxone were not found, but we discovered a ST7363 sub-lineage susceptible to ceftriaxone and cefixime in which the mosaic *penA* allele responsible for reduced susceptibility had reverted to a susceptible allele by recombination. Approximately 85% of isolates showed resistance to fluoroquinolones (ciprofloxacin) explained by linked amino acid substitutions at positions 91 and 95 of GyrA with 99% sensitivity and 100% specificity. Approximately 10% showed resistance to macrolides (azithromycin), for which genetic determinants are less clear. Furthermore, we revealed different evolutionary paths of the two major lineages: single acquisition of *penA* X in the ST7363-associated lineage, followed by multiple independent acquisitions of the *penA* X and XXXIV in the ST1901-associated lineage. Our study provides a detailed picture of the distribution of resistance determinants and disentangles the evolution of the two major lineages spreading worldwide (published in *Microbial Genomics*, 2018).

愛玩動物臨床材料由来 MRSA の特性解析; ヒト臨床材料由来株との 系統発生的比較

谷口唯¹⁾, 小出将太¹⁾, 前山佳彦^{1),2)}, 林航¹⁾, 田中隼斗¹⁾, 飯村将樹¹⁾
玉井清子²⁾, 鈴木匡弘³⁾, 長野由紀子⁴⁾, 荒川宜親⁴⁾, 長野則之¹⁾

¹⁾信州大学大学院 医学系研究科, ²⁾ミロクメディカルラボトリー

³⁾藤田医科大学医学部, ⁴⁾名古屋大学大学院 医学系研究科

【目的】ヒトと愛玩動物の間の薬剤耐性菌の伝播拡散の危険性が懸念されている。愛玩動物は AMR 対策アクションプランに調査・監視対象として掲げられており、本報では国内での実態が不明な愛玩動物臨床材料由来 MRSA の解析を行った。さらにヒト臨床由来株との系統発生的比較に基づき、愛玩動物がヒト MRSA 感染症の potential reservoir となる可能性について探索した。

【材料と方法】2016 年～18 年に国内の動物病院より *Staphylococcus aureus* を収集した。MRSA を対象に POT 型別ならびに追加の 16 遺伝子の解析による SCCmec 型別、毒素遺伝子の検出を行った。また MLST 解析を実施した。さらに既報 (Osaka et al., JMM 2018) のヒト臨床由来株の解析結果を加えた系統ネットワーク解析を行った。

【結果と考察】愛玩動物臨床材料由来 *S. aureus* 163 株のうち 56 株の MRSA (34.4%, イヌ由来 20 株, ネコ由来 33 株, ウサギ由来 3 株) が検出された。POT1-93/SCCmec type II (HA-MRSA) の 26 株のほとんどが CC5 に属し, ST5 が 21 株, CA-MRSA と HA-MRSA の hybrid クローンの ST764 が 2 株同定された。POT1-106/SCCmec type IV (CA-MRSA) と同定された 26 株の ST は多様であり, 15 株が CC8 (主に ST8 が 8 株), 11 株が CC1 (主に ST1 が 3 株, 新規 STs 4768, 4775, 4779 が各々 3 株, 1 株, 1 株) であった。この ST4768 の 3 株が全てウサギ由来であったことが注目される。POT1-93 の株では *tst/sec* 同時保有株が 14 株, 次いで *tst* 保有株が 6 株検出され, これらが大半を占めていた。また, *tst/ACME* 保有株 (ST5) も 1 株検出された。一方, POT1-106 の株では毒素遺伝子非保有株が多く認められたが, ST8- SCCmec type IV で *pvl/ACME* 保有の高病原性 CA-MRSA クローン USA300 がネコ由来 2 株で確認された。

愛玩動物由来 56 株と 2016 年に収集されたヒト臨床由来 178 株全体の系統ネットワーク解析の結果, POT1-106 の株 (CA-MRSA) は CC1 と CC8 の 2 つのクラスターに大別されたが, 各々のクラスター内では愛玩動物, ヒト由来株に特異的なサブクラスターの形成は認められなかった。このことから, CA-MRSA の遺伝系統はヒトと愛玩動物の両方に適応しており, 愛玩動物がこれらの株の伝播における potential reservoir となり得る可能性が示唆される。これに対して POT1-93 の株 (HA-MRSA) のクラスターは 4 つのサブクラスターに分類され, 大多数のヒト臨床由来株で 2 つのサブクラスターが構成されていたが, 他の 2 つのサブクラスターは愛玩動物由来と少数のヒト臨床由来株で構成されていた。従って, HA-MRSA にはヒトのみに適応性を有する遺伝系統に加え, ヒトと愛玩動物の両方に感染し得る遺伝系統が存在する可能性が考えられ, second reservoir としての愛玩動物の役割を考慮する必要がある。

本研究は AMR 対策アクションプランに資するための重要な基礎的知見を提示するものと考えられる。

同一医療施設におけるペニシリン低感受性B群レンサ球菌sequence type 1の長期流行期間における血清型変遷事象の解明

小出将太¹, 長野由紀子², 林航¹, 谷口唯¹, 田中隼人¹, 前山佳彦¹, 鈴木匡弘³
木村幸司², 荒川宜親², 長野則之¹

¹信州大学大学院 医学系研究科, ²名古屋大学大学院 医学系研究科
³藤田医科大学 医学部

【目的】ペニシリン低感受性B群レンサ球菌 (PRGBS)は高齢者の呼吸器材料より高頻度に検出され、また医療関連感染も報告されているが、その臨床的意義は不明である。今回、我々は同一医療施設でPRGBS長期流行の間に認められた血清型の変遷事象の解明を試みた。

【材料及び方法】中規模病院で35ヶ月の間に検出された73事例由来PRGBS77株の血清型別、代表株の*pbp*解析, MLSTを行った。さらに血清型III, Ia, Ib各1株に加え、同時期に検出された血清型IbのCTB'PSGBS 1株のWGS解析を実施した。また、WGS解析知見に基づき莢膜多糖体遺伝子クラスターの上流, 下流のIS因子の有無をPCRダイレクトシーケンシングにより解析した。

【結果及び考察】患者73名は男性47名, 女性26名で平均年齢は83±9歳であった。PRGBS77株の由来材料は呼吸器関連材料が66株と最も多く、血液も4株認められた。PRGBSの血清型は最初の9か月間 (period I)はIIIが優位で(IIIが16株/Ibが1株), 次の3か月間 (period II)はIbが3株認められ, 次の9か月間 (period III)はIaが優位となった (Iaが20株/IIIが1株/NTが1株)。その後の14か月間 (period IV)はIaが25株, IIIが10株認められた。これらの血清型IIIとIaの株はST1に属し、検出時期に拘らずPBP2XにG329V, G398A, V405A, G429Dを共有していた。一方、血清型Ibの株もST1と同定されたがPBP2XにはV405Aを除いてこれらと異なる置換を有していた。さらにドラフトゲノム配列のANI値及びSNPを指標とした系統解析の結果、血清型IIIのstrain SU12 (period I)と血清型Iaのstrain SU97 (period III) の間でクラスターが形成され、塩基配列の高い相同性が確認された (ANI値99.84%, 957 SNPs)。また、これらの株間で病原因子の保有プロファイルも一致していた。一方、血清型Ibのstrain SU67 (period II)はCTB'PSGBSのstrain SU66 (period II)とクラスターを形成した (ANI値99.95%, 46 SNPs)。莢膜多糖体遺伝子クラスターとその上流, 下流を含む約55 kb領域の解析から、strain SU12では*cpsY*上流の*hylB*へのIS1548挿入による遺伝子破壊が認められたが、このような特徴はperiod Iの血清型IIIの全株で確認された。一方、strain SU97では*cpsL*下流のtRNA-Arg と*rpsA* の間へのISsag8の挿入が認められたが、strain SU12でみられた*hylB*の遺伝子破壊は確認されなかった。このような特徴はperiod IIIとIVの血清型Iaの株の大多数で確認された。さらに興味深いことに同じ配列はperiod IVで再出現した血清型IIIの株でも認められた。*hylB*は主要な病原因子であるヒアルロニダーゼをコードしており、血清型Iaの株が正常な*hylB*を有していたことから血液由来の4株がいずれも血清型Iaで予後不良事例であったこととの関連性が注目される。

本研究から血清型IIIからIaへの集団的変遷事象に莢膜スイッチング及び院内伝播が関与している可能性が示唆される。

日本のペニシリン低感受性 B 群レンサ球菌における、比較的高いセフォタキシム、セフトリアキソン非感性株の割合

名古屋大学 大学院医学系研究科 分子病原細菌学

北村 柁騎、○木村 幸司、井戸 綾香、関友 望、坂野 弘嗣、金万 春、和知 野純一、
山田 景子、荒川 宜親

目的: 我々は、過去にセフォタキシム(CTX)非感性のペニシリン低感受性 B 群レンサ球菌 (Group B *Streptococcus* (GBS) with reduced penicillin susceptibility (PRGBS)を報告しているが、PRGBS のうちの CTX-、セフトリアキソン(CRO)-非感性株の割合は明らかにされていない。そこで、我々は、日本で分離された PRGBS 74 株を用いて、22 種の抗菌薬/化合物の最小発育阻止濃度(MIC)を決定し、それらの中での CTX-、CRO-非感性株の割合を明らかにした。

方法: 過去に日本で収集し、ペニシリン結合タンパク質 penicillin-binding protein (PBP) 2X にアミノ酸置換を有することを確認された 74 株の 臨床分離 PRGBS を用いた。また、80 株のペニシリン感性 B 群レンサ球菌 penicillin-susceptible GBS (PSGBS) をコントロールとして用いた。CLSI の方法に従い、微量液体気積法または平板希釈法で、154 株の B 群レンサ球菌に対する 22 種の抗菌薬/化合物の MIC を決定した。

結果: 80 株の PSGBS のうちのアンピシリン AMP-、CTX-、CRO-、レボフロキサシン LVX-非感性/耐性株の割合は、それぞれ 0%, 0%, 0%, 30%であったが、74 株の PRGBS のうちの AMP-、CTX-、CRO-、LVX-非感性/耐性株の割合は、それぞれ 14% ($P = 0.0003$), 28% ($P < 0.0001$), 36% ($P < 0.0001$), and 93% ($P < 0.0001$)であった。メロペネム、ドリペネム、バンコマイシン、キヌプリスチン/ダルフォプリスチン、ダプトマイシン、リネゾリドに非感性の PRGBS は、認められなかった。

結論: CTX-、CRO-非感性 PRGBS 株が、日本で比較的高い割合であることが明らかになった。この知見は、PRGBS 感染症の治療に有効と予想される抗菌薬が PSGBS 感染症に比べ、限られていることを示唆している。したがって、臨床医は注意深く抗菌薬選択をする必要があると考えられる。

多剤耐性グラム陰性菌に有効な抗菌ポリマーの開発

成瀬 秀則¹、一久 和弘¹、井本 裕顕²、平林 亜希³、柴山 恵吾⁴、○鈴木 仁人³

(¹ JSR 株式会社、² 京都工芸繊維大学大学院工芸科学研究科、

³ 国立感染症研究所薬剤耐性研究センター、⁴ 国立感染症研究所細菌第二部)

近年急速に世界に拡散した多剤耐性グラム陰性菌には、臨床で汎用されているカルバペネム系、アミノ配糖体系、フルオロキノロン系を含めて有効な抗菌薬がほとんど存在しない。本研究では、産学官の微生物資源・知的基盤を活用して、公衆衛生上重要な ESKAPE 病原細菌（腸球菌、黄色ブドウ球菌、腸内細菌科細菌、アシネトバクター属菌、緑膿菌）を標的とし、多剤耐性グラム陰性菌にも有効な抗菌ポリマーを開発することを企図した。

大腸菌および黄色ブドウ球菌の実験室株の微量液体希釈法による MIC（最小発育阻止濃度）を指標に、液晶ディスプレイ向け材料として用いられていた高分子ポリマーの組成・分子量の改変を精密重合にて行い、最も抗菌活性が優れた構造を有する新規ポリマー MRG122 を開発した。次に ESKAPE 病原細菌の臨床分離多剤耐性株を用いて MRG122 の抗菌活性を評価したところ、MSRA 株、VRE 株、NDM-1 産生大腸菌株、OXA-23 産生 *A. baumannii* 株の MIC はそれぞれ 8-16 $\mu\text{g/mL}$ であった。しかし、IMP-1 産生緑膿菌株および KPC-2 産生肺炎桿菌株の MIC はそれぞれ $>256 \mu\text{g/mL}$ であり、バイオフィーム産生の影響が考えられた。MRG122 の抗菌活性の増強を目的にポリマーへの化学修飾を検討したところ、ポリエチレンイミンを付加した PMG122 は緑膿菌株および肺炎桿菌株への抗菌活性がそれぞれ向上した（MIC は 32-64 $\mu\text{g/mL}$ ）。ヒト肝がん由来 HepG2 細胞を用いて抗菌ポリマーの細胞毒性を検討したところ、PMG122 は 100 $\mu\text{g/mL}$ 以下の濃度ではほとんど細胞毒性を示さず、十分な選択毒性を有していることが示された。

抗菌ポリマー PMG122 添加による大腸菌の形態変化を、微小流体システムを組み込んだ位相差顕微鏡、高速 AFM（原子間力顕微鏡）、TEM（透過電子顕微鏡）にて観察を行ったところ、処理 15 分後から細菌外膜の破綻と細胞質内容物の流出が認められた。また、蛍光色素（FITC）で標識した PMG122 を大腸菌および黄色ブドウ球菌に作用させたところ、FITC 標識ポリマーの菌体表面への結合が認められた。そのため、ポリマーは菌体表面に静電的に付着し、細胞膜を破壊することで殺菌的に作用していることが示唆された。さらに PMG122 は、菌体表面の陰性電荷が減少した臨床分離 MCR-1 産生ポリミキシン耐性大腸菌株や臨床分離 MprF 変異ダプトマイシン耐性 MRSA 株の MIC はそれぞれの実験室株と同程度であり、今までに知られているグラム陰性菌および陽性菌の耐性菌株における膜電荷の変化機構は PMG-122 の抗菌活性に大きな影響を与えないことが示唆された。

興味深いことに、抗菌ポリマー PMG122 は光硬化性のアクリルフィルムや、ABS 樹脂に添加しても抗菌活性を維持しており、耐光性試験（室内環境 1 年相当）による抗菌活性の低下もなく長期耐久性を有していたことから、応用面での展開が大いに期待できる。

<関連特許>

- 1.「重合体、抗菌剤、殺菌剤、抗菌材料、殺菌材料、抗菌方法及び殺菌方法」、出願番号：特願 2015-242866、2015 年 12 月 14 日（国際公開番号：WO2017/104676A1、2017 年 6 月 22 日）
- 2.「抗菌剤、殺菌剤、抗菌材料、殺菌材料、抗菌方法及び殺菌方法」、出願番号：特願 2014-151608、2014 年 7 月 25 日（国際公開番号：WO2016/013370A1、2016 年 1 月 28 日）

耐性菌定義ファイルの標準化と標準化ファイル作成ツールの開発、公開

藤本修平¹⁾、谷本弘一²⁾、富田治芳²⁾、八木哲也³⁾、柴山恵吾⁴⁾、荒川宜親³⁾、村上啓雄⁵⁾

1) 東海大学、2) 群馬大学、3) 名古屋大学、4) 国立感染症研究所、5) 岐阜大学

【背景】臨床検査における細菌検査、耐性菌検査は、耐性菌を拡散前に発見するために不可欠の検査である。これらの検査は自動化が進み、細菌検査、耐性菌に精通した検査技師でなくても操作ができる。自動機器の精度は徐々に向上しているが、さまざまな原因で発生する誤りを完全に防ぐことはできない。そのため、耐性菌の検出を見落とし院内拡散早期制御の機会を失ったり、非常にまれで検出した場合には再確認が必要な耐性菌をそのまま報告し、さらには検体を保存することなく廃棄するといった問題が発生する。

多くの検査機器には、耐性菌が検出された場合に、定義に応じて警告を発生させる仕組みが備わっており、これらの問題の発生を防いでいる。定義はそれぞれのシステムの固有の形式でシステムに保存されており、利用者は、メーカーが提供する定義あるいは、自分たちで作成した定義によって、耐性菌の検出を行っている。

サーベイランス、耐性菌に関する研究では、それぞれの定義にもとづいて耐性菌の報告あるいは菌株の収集を行っている。また、行政から特定の耐性菌に対する注意喚起や研究機関への菌株送付を呼びかけることがある。

耐性菌の定義、当該耐性菌が検出された場合にユーザーに知らせるべき警告・案内を定義できるメッセージ(ファイルなどに記録されたり通信されたりする電文)の形式を標準化し、どのメーカーの検査機器でも読み込み可能にすると、サーベイランス、研究、行政目的で耐性菌の定義、検出された場合のアクションを不特定の施設に対して依頼する場合に、標準化されたメッセージのやりとりだけで当該菌の検出に際して検査機器からユーザーが起こすべきアクションや警告の表示を行うことが可能になる。

【方法】2000年8月、JANISから問題とすべき耐性菌定義の提案あり、論理的に表現する方法の標準化について提案を行った。2012年より厚労科研による研究として開発を始め、検査機器メーカー、JAHIS(保健医療福祉情報

システム工業会)の2回のreviewを受けて改良を行った。当該メッセージ(ファイル)の作成ツール、当該メッセージを利用する2DCM-webの開発を行い、試用を経て「耐性菌条件/警告・案内定義メッセージ V4.1」を公開した。同時に、作成ツール(耐性菌定義ファイル作成ツール)、2DCM-webの改良を行い、2DCM-web実習サイト <http://yakutai.dept.med.gunma-u.ac.jp/project/2dcm/index.html> での公開、および JANIS 検査部門の 2DCM-web としての公開を行った。さらに、複数施設データ解析版の 2DCM-web でも利用できるようにして同実習サイトで公開した。検査機器メーカーを対象に説明会を行い意見聴取を行った。

【結果】「耐性菌条件/警告・案内定義メッセージ V4.1」では、菌種、検査材料(複数菌種・複数材料の指定可能)、多重括弧を含む論理式で表現可能な耐性菌定義を SIR 及び MIC によって表現できるようになった。さらに、複数の耐性菌定義の包含関係を表現し、たとえば MDRP とカルバペネム耐性緑膿菌が定義されているとき、MDRP の検出に際して両方の警告を発するのか、MDRP に含めてアクションを指示するのかを選ぶことができるようになった。

作成ツールには菌種、検査材料選択を簡単に行う機能、耐性菌の薬剤条件の作成を支援する機能、手作業で編集した条件式の文法をチェックする機能が掲載されており、短時間で適切な定義の作成が可能であった。

定義ファイルの利用により、2DCM-web で複数菌種を含む CRE などの解析が可能になった。複数施設版の 2DCM-web では耐性条件で菌株を絞る機能に利用し、複数施設の長期間のデータの解析が可能になった。

【考察】耐性菌定義の標準となり得るメッセージを開発した。検査機器メーカーからは、耐性菌名、バージョンなどの一括管理ができる仕組みが必要であるという意見があった。バージョン管理は発行者の責任で行うことが可能であるが、広く普及した場合、名称、正真性を保証する仕組みが必要であると考えた。

LAMP 法による β -lactamase 遺伝子(OXA-48)検出

笹野 まり^a, 関 みつ子^{a,b}, 高野 智圭^a, 早川 智^a

^a 日本大学医学部 病態病理学系微生物学分野

^b 明海大学歯学部 口腔小児科学分野

【目的】OXA-48 型カルバペネマーゼ産生グラム陰性菌感染症は死亡率が高く、海外の医療機関で急速に広がっていることから、我が国の医療関係者間でも警戒されている。これまで本菌の報告は海外からの輸入例のみであった。しかし、海外渡航歴のない患者で、OXA-48 型カルバペネマーゼ産生肺炎桿菌が検出された事例¹より、国内に潜在している可能性がある。LAMP 法を用いて我々は迅速に OXA-48 を検出することができたので報告する。

【方法】OXA-48 を含む 8 つの β -lactamase 遺伝子を有する基準株を用いて、LAMP 法の特異性と感度を評価した。また 2003 年から 2012 年の間に世界中の様々な地理的環境から分離・収集され、次世代シーケンサーによりその特徴が明らかにされた臨床分離株計 19 株²を用い、LAMP 法の臨床的評価をおこなった。結果は従来法である PCR 法³と比較した。

【結果】基準株を用いた評価で LAMP 法の特異性は良好であった。また最小 DNA 10 コピーまで検出が可能で、従来法である PCR 法より高い感度を認めた。臨床分離株を用いた評価では OXA-48 を正しく同定できた。

【結論】LAMP 法の特異性、感度はともに良好で、臨床分離株からの検出も可能であった。LAMP 法は PCR 法に比べ簡便かつ迅速であり、 β -lactamase 遺伝子を検索する有用なツールとなる可能性が示唆された。

【参考文献】

1. 板垣沙紀ら. 海外渡航歴のない患者から分離された OXA-48 型カルバペネマーゼ産生 *Klebsiella pneumoniae*. 日本臨床微生物学雑誌 2017; 27: 41-7
2. Kos VN et al. The resistome of *Pseudomonas aeruginosa* in relationship to phenotype susceptibility. Antimicrob Agents Chemother 2015; 59: 427-36
3. Monteiro J et al. Rapid detection of carbapenemase genes by multiplex real-time PCR. J Antimicrob Chemother 2012; 67: 906-9

クラス A、B、C、3 種の β -lactamase を同時に検出する簡易迅速法

○松本 佳巳¹⁾²⁾、松永 直樹²⁾、中山 典久²⁾、霞 征和²⁾、御子柴 孝晃²⁾
大阪大学産業科学研究所¹⁾、株式会社フコク μ TAS 事業ユニット²⁾

【目的】マイクロ流路チップ (DSTM) と顕微鏡による感受性測定 of 迅速化を検討する中で、先に ESBL や MBL 産生菌を検出する方法を提案したが、更に薬剤構成を改良し、ESBL, AmpC, MBL といった 3 種のクラスの酵素を簡易迅速に検出する方法を考案した。

【方法】ATCC や NCTC に登録されている各種 β -lactamase 産生株および酵素産生が既知の臨床分離株を用いた。DSTM チップは、菌液注入口を共有する 4 本のマイクロ流路が 5 組、スライドガラス上に並んだ構造をしており、4 本の流路を顕微鏡で一視野にまとめて観察することができる。1 組の流路には CTRX または CAZ に 3 種の β -lactamase 阻害薬 (CVA, MCIPC, EDTA) を全て併用した流路をコントロールとし、3 種のうち 1 種を抜いた 3 通りの組み合わせを残る 3 つの流路にそれぞれ固定して用いた。一夜培養したコロニーを MHbroth に懸濁し、McFarland 0.25 に調製した菌液を流路に注入、37°C 湿潤条件にて 2h 培養後、顕微鏡下で菌を観察し耐性を示した流路から産生酵素を推定した。

【結果】いずれの酵素にも不活化されやすい CTRX をベースにした 4 流路 1 組で、クラス A (ESBL)、クラス B (MBL)、クラス C (AmpC) のうちどのタイプの酵素を産生しているかを個々に判別でき、複数酵素産生株も容易に検出することができた。CAZ をベースにした同様の組み合わせにより、CAZ に感度の高い ESBL が検出でき、これら 2 組の流路で、ほぼ全ての酵素が推定できた。KPC 産生株は、全てに耐性を示した。

【結論】感受性株が伸長化する CTRX や CAZ を用いることで感受性判定が簡便となり、3 種のクラスの阻害剤の効果を個々に見えるようにしたことによって複数酵素の同時検出が可能となった。

新規 DSTM チップを用いたカルバペネム耐性大腸菌の β -ラクタマーゼの迅速検査

○小川美保¹⁾、坂田竜二¹⁾、市村禎宏¹⁾、霜島正浩¹⁾、御子柴孝晃²⁾、松本佳巳^{2),3)}

1) (株)ビー・エム・エル総合研究所、2) (株)フコク マイクロ TAS 開発グループ、3) 大阪大学産業科学研究所

【目的】新規デバイス DSTM と顕微鏡を用いる ESBL・MBL の迅速検査法に関しては、以前に報告したが、新たに考案された 3 種の酵素(クラス A、B、C)を同時に検出するチップを用いて、複数酵素を保有する株の多いカルバペネム耐性大腸菌(CRE)を検査した。

【方法】CRE と判定された臨床分離の *E. coli* 23 株を用いた。各種 β -ラクタマーゼ遺伝子の検出には、次世代シーケンサー MiSeq を用いて塩基配列を決定した。得られたゲノム情報に対し ResFinder を用いて耐性遺伝子の型別を行った。

DSTM は 1 組 4 本の流路に抗菌薬 CTX、CTRX、CAZ、CMZ に β -ラクタマーゼ阻害薬 CVA、MCIPC、EDTA を併用して固定したチップを用いた。MHB に懸濁した菌液(MacF≒0.25)を注入した後、37℃高湿度状態で培養し、2～3 時間後に顕微鏡下でコントロールと比較、菌数や形態の変化による感受性の有無を指標に、阻害剤の効果の有無から各種 β -ラクタマーゼの産生性を判定した。

【結果】CRE23 株中、2 株は、CMZ およびカルバペネムに感受性を示し、保存中に耐性が落ちたと考えられたが、2 種のクラス A 酵素を保有していた。クラス B 酵素(MBL)を産生する株が 9 株あり、5 株は ESBL を、1 株は DSTM 法により染色体性と推定される AmpC を同時に保有することが推定された。IMP-6 保有の 1 株は、CTX-M 型酵素 3 種を同時に保有していたが、耐性レベルが高すぎて阻害剤の効きが悪く、クラス A が隠れてしまい、DSTM 法では CMZ でクラス B のみ検出された。クラス A だけが検出された 13 株の中で、全てに耐性を示しクラスの判別ができなかった 1 株を含む 3 株の酵素の判別結果がシーケンスと完全には一致せず、排出ポンプなど、 β -ラクタマーゼ以外の耐性メカニズムの関与が疑われた。プラスミド性 AmpC の MIR-3 保有株が 1 株あり、DSTM 法でクラス C と判定された。23 株中 18 株(78%)の β -ラクタマーゼは、この DSTM チップで問題なく検出することができた。MBL の検出率は 100%であった。

【考察】CRE として報告された 23 株中、CPE(MBL 産生株)は 9 株あり、6 株は ESBL や AmpC を同時に産生していた。シーケンスから 3～4 種の酵素を確認できた株が 3 株あり、複数の酵素を産生する株は少なくないことが予想された。新たに考案された DSTM チップは、2～3h で簡単に複数のクラスの酵素を同時に検出することが可能で、遺伝子検査で判定の難しい AmpC の耐性への影響も推定可能であり、迅速検査として有用と考えられた。

日本の医療施設で伝播・拡大する GES-5 カルバペネマーゼ産生 MDRP の分子疫学解析

○菱沼知美¹、多田達哉²、霜島正浩³、切替照雄²

¹順天堂大学医学部 微生物学、

²順天堂大学大学院医学研究科 微生物学

³株式会社ビー・エム・エル

【目的】多剤耐性緑膿菌(MDRP)の新興と伝播が日本の医療施設で大きな問題となっている。2013 年西日本の医療施設でアウトブレイクを起こした MDRP は、これまで検出されなかった classA セリン型- β -ラクタマーゼ GES-5 産生菌であった。そこで我々は、GES-5 産生緑膿菌が日本の医療施設でいつ・どこで出現し、どのように伝播拡大しているのかを明らかにするために、2011 年から 2016 年にかけて収集した全国のカルバペネム耐性緑膿菌臨床分離株の再検証を行った。

【方法】2011 年から 2016 年に日本で分離されたカルバペネム耐性緑膿菌 1774 株を対象とした。微量液体希釈法により薬剤感受性試験を実施し、PCR およびシーケンスにより *bla*_{GES-5} 遺伝子を保有する株をスクリーニングした。スクリーニングした GES-5 産生緑膿菌についてゲノムを抽出し次世代シーケンサを用いた全ゲノム解析を行った。全ゲノムデータを基に完全長ゲノムが決定している NCGM2.S1 (accession no. AP012280)をリファレンスにして SNP を抽出し、系統樹解析を実施した。

【結果と考察】カルバペネム耐性緑膿菌 1774 株中、104 株 (5.9%) が GES-5 産生菌であった。GES-5 産生緑膿菌の分離率は 2011 年が 0%、2012 年が 2.0%、2013 年が 2.8%、2014 年が 5.3%、2015 年が 9.7%、2016 年が 15.3%と有意に増加していた。これら 104 株を地域別に調査したところ、北海道 (1 株)、新潟 (1 株)、茨城 (6 株)、東京 (19 株)、千葉 (28 株)、埼玉 (3 株)、大阪 (44 株)、和歌山 (1 株)および宮崎県 (1 株)の医療施設から分離されていた。薬剤感受性試験の結果、104 株中 48%が MDRP であった。MLST 解析の結果、GES-5 産生株は ST235 (99 株)、ST2233 (3 株)、ST274 (1 株)および ST1342 (1 株)に属し、ST2233 は CC235 に属していた。分子系統解析の結果、GES-5 産生緑膿菌は地域依存的に大きく 2 つの Clade に分かれた。Clade A には千葉県で分離された株、Clade B には大阪やその他の県で分離された株が属していた。

本研究により、GES-5 産生 MDRP は 2012 年に我が国で出現し、その分離率は 2016 年まで有意に増加していることが明らかとなった。この理由として、日本の医療機関が GES-5 産生緑膿菌を簡便に検出できるシステムがないことや、CC235 に属する GES-5 産生緑膿菌が高い伝播力を持っていることが考えられた。今後も日本で拡大することが予想され、監視が必要である。

広島県にて海外渡航者より分離された *bla*_{NDM-7}保有株および*bla*_{KPC-2}保有株の解析

鹿山鎮男^{1,2}、森三郎^{1,3}、池田光泰^{1,2,4}、鈴木仁人⁵、矢原耕史⁵、
柴山恵吾⁶、大毛宏喜^{1,7}、菅井基行^{1,5,8}

- 1) 広島大学 院内感染症プロジェクト研究センター
- 2) 広島大学大学院 医歯薬保健学研究科 細菌学
- 3) 尾道市立市民病院 中央検査室
- 4) JA 広島総合病院 臨床研究検査科
- 5) 国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター
- 6) 国立感染症研究所 細菌第二部
- 7) 広島大学病院 感染症科
- 8) 広島大学大学院 医歯薬保健学研究科 薬剤耐性学講座

フィリピンにて病院搬送された患者が日本に帰国後、広島県内の医療施設へ入院した。帰国入院時、保菌調査目的による便培養を実施したところ、*bla*_{NDM-7}産生 *E. cloacae* (MS5743) および *bla*_{KPC-2}保有 *K. pneumoniae* (MS5744) が分離された。その 1 ヶ月後に便培養を実施したところ、より高度耐性化し *E. cloacae* MS5743 と酷似した耐性パターンをもつ *K. pneumoniae* (MS5760) が分離された。PFGE の結果から *K. pneumoniae* MS5744 と *K. pneumoniae* MS5760 は染色体の DNA 相同性は低く、異なるクローンであることが示された。その後、*K. pneumoniae* MS5760 株は *bla*_{NDM-7}を保有することが判明した。以上のことから患者体内で *bla*_{NDM-7}産生 *E. cloacae* MS5743 から *bla*_{KPC-2}保有 *K. pneumoniae* MS5744 とは異なる遺伝的背景をもつ *K. pneumoniae* に、*bla*_{NDM-7} 保有プラスミドが伝達された可能性が示唆された。そこで、*bla*_{NDM-7}産生 *E. cloacae* MS5743 をドナー、*K. pneumoniae* ATCC BAA-1706 をレシピエントとして接合伝達を実施した結果、*bla*_{NDM-7}プラスミドは 1.1×10^{-2} という非常に高い頻度で伝達されることが示された。この *bla*_{NDM-7}プラスミドについて全塩基配列を決定したところ、45,121 bp の IncX3 プラスミドであることが判明した。併せて *bla*_{KPC-2}プラスミドの配列解析の結果についても報告する。

海外渡航歴のない患者より初めて確認された *bla*_{NDM-7} 保有 *Escherichia coli* ST1585 及び *Citrobacter freundii* の解析

飯村将樹¹, 白石淑子², 鷲野恵一², 小出将太³, 林航³, 谷口唯³, 田中隼人³
前山佳彦³, 長野由紀子⁴, 長野則之^{1,3}

¹信州大学医学部 保健学科, ²長野赤十字病院 検査部, ³信州大学大学院 医学系研究科
⁴名古屋大学大学院 医学系研究科

【目的】NDM 型酵素は最も急速に世界各国へ拡散しているカルバペネマーゼである。最近では海外渡航歴のない患者からの NDM-5 産生菌の検出が関東地方で確認されている。本報では同一患者より検出された NDM-7 産生 *Escherichia coli* 及び *Citrobacter freundii* の解析知見を報告する。

【材料と方法】症例は2型糖尿病を有する50歳代男性で、海外渡航歴無し。腹痛にて他院の消化器内科に入院し、腸管膜リンパ節生検で悪性リンパ腫 DLBCL (びまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫)と診断された。血液内科にて化学療法を開始するも腫瘍縮小を認めず、同種移植目的のため長野赤十字病院に転院となった。転院時スクリーニング及び2週間後の監視培養で各々便検体より検出されたカルバペネム系薬耐性の *E. coli* 及び *C. freundii* を解析対象とした。薬剤耐性酵素の表現型試験、遺伝子型試験によるスクリーニング、耐性遺伝子の同定及び *E. coli* K-12 χ 1037 への接合伝達、プラスミドの Inc 型別を行った。また、*E. coli* の系統発生群別、病原遺伝子解析による ExPEC (腸管外病原性大腸菌)、UPEC (尿路病原性大腸菌)の分類、及び MLST を実施した。

【結果と考察】解析対象2株はフルオロキノロン系薬を除いて同一の MIC を示し、ペニシリン系 (PIPC/TAZ を含む)、セファロスポリン系薬に耐性であったが、AZT には感性を示した。クラブラン酸による酵素阻害試験で ESBL 産生性は確認されなかった。また、カルバペネマーゼ鑑別ディスク Plus (関東化学)で2株共に MBL 産生性が確認されたが、*E. coli* では pAmpC 産生性は確認されなかった。MBL 遺伝子は *bla*_{NDM-7} と同定され、上流に IS5 が挿入された Δ IS*Aba*125, 下流に *ble*_{MBL} が確認された。この配列は初めてドイツで確認された *bla*_{NDM-7} の周辺構造と一致していた。接合伝達株の保有する *bla*_{NDM-7} をコードするプラスミドは IncX3 と同定された。*E. coli* は Phylogroup A に属し、ST1585 (clonal complex 10)と同定された。また、*E. coli* は ExPEC, UPEC には分類されなかった。

本事例の *E. coli* と *C. freundii* は無症候性定着株で、*bla*_{NDM-7} をコードする自己伝達性 IncX3 プラスミドの *in vivo* transmission が考えられた。NDM-7 は NDM-1 と比べ2アミノ酸違いであり (Asp130Asn, Met154Leu), カルバペネム系薬に対する加水分解活性がより高いことが知られている。NDM-7 産生菌については国内ではこれまでにインド在住中入院歴を有する患者から NDM-7 産生 *E. coli* が報告されているのみで、本報は海外渡航歴のない患者からの初めての報告であり、既に長野県内で NDM-7 産生菌が拡散している可能性が示唆される。

洗浄用シンクより検出された NDM-1 産生 *Acinetobacter pittii* の解析

春日恵理子¹, 名取達矢¹, 林航², 長野由紀子³, 長野則之², 堀内一樹¹, 根岸達哉¹, 松岡美奈¹, 樋口祥子¹, 松本剛¹, 本田孝行¹

¹信州大学医学部附属病院 臨床検査部

²信州大学大学院 医学系研究科

³名古屋大学大学院 医学系研究科

【目的】

日本の医療現場における NDM 型 β ラクタマーゼ産生菌などのカルバペネマーゼ産生菌の検出例は未だ少ない状況にあり、その多くは海外で医療を受けた患者からの検出である。しかし、最近では海外渡航歴のない患者からの検出例も散見され始めている。OXA-48 型カルバペネマーゼ産生 *Klebsiella pneumoniae* 検出患者の病棟内環境調査にて洗浄用シンクより検出されたカルバペネム耐性 *Acinetobacter pittii* の解析知見について報告する。

【材料と方法】

菌種の同定は 16S rRNA、*rpoB* の遺伝子配列解析により実施した。また、耐性遺伝子の同定及び周辺構造の解析及びプラスミドの Inc 型別を行った。

【結果】

分離株は *A. pittii* と同定され、IPM、MEPM、DRPM の MIC が $>8 \mu\text{g/mL}$ で、その他の β -ラクタム系薬にも耐性を示したが、アミノグリコシド系薬、キノロン系薬には感性であった。本菌は IS*Aba*125-*bla*_{NDM}-*ble*_{MBL} をコードする IncX3 プラスミドを保有していた。また、IS*Aba*1 に連結した *bla*_{OXA-51-like} (*bla*_{OXA-82} or *bla*_{OXA-174}) が認められた。ESBL 遺伝子 (*bla*_{CTX-M}, *bla*_{PER}, *bla*_{VEB}) の保有は認められなかった。

【考察】

国内では最近、海外渡航歴のない患者からの NDM 型産生菌の検出例が散見され始めている。本院ではこれまでに患者からの NDM 型産生菌の検出事例はなく、今回の環境調査で偶発的に本菌が検出された。*A. pittii* は自然環境に生息する菌でありシンクや排水口などの病棟環境への定着が可能で、薬剤耐性菌の重要な reservoir としてヒトに親和性の高い腸内細菌科細菌へ耐性因子を伝播・拡散する危険性がある。さらには配管を介した本菌の拡散も懸念される。国内における病院環境からの NDM 型産生菌の検出は初めてであり、医療機関への注意喚起を促したい。

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌病原体サーベイランス、2017 年

○松井真理¹、川上千晶²、鈴木里和¹、松井珠乃³、大石和徳³、菅井基行¹

1. 国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター
 2. 国立感染症研究所 実地疫学専門家養成コース
 3. 国立感染症研究所 感染症疫学センター
- 全国地方衛生研究所

【背景】近年、地方衛生研究所における薬剤耐性菌検査体制の整備が進められている。医療機関では通常実施困難な薬剤耐性遺伝子検出やタイピング解析等の遺伝子検査で得られる情報が、各地域の薬剤耐性菌の流行状況の把握や対策に有用となるためと考えられる。感染症法 5 類全数把握疾患であるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌

(Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: CRE) 感染症は、2017 年 3 月の厚生労働省健康局結核感染症課長通知により、症例の届出があった際には地方衛生研究所等で当該菌株のカルバペネマーゼ遺伝子等の試験検査を行い、結果を感染症サーベイランスシステム (NESID) の病原体検出情報システムに報告することとされている。今回は、2017 年 CRE 感染症届出症例の病原体サーベイランスの結果概要を報告する。

【方法】病原体検出情報システムに登録された CRE で、検体採取日が 2017 年 1 月 1 日～12 月 31 日の株を対象に、通知で原則実施とされている、PCR 法による主要なカルバペネマーゼ遺伝子 (IMP 型、NDM 型、KPC 型、OXA-48 型) の検出結果を集計した。

【結果】対象株数は、865 名由来の 865 株 (2018 年 7 月 17 日現在) であり、2017 年の発生動向調査届出数 (患者報告) 1,660 例の約半数の分離菌株の試験結果が報告された。分離患者の年齢性別、報告地域の分布は患者報告とほぼ同様であった。菌種は、*Klebsiella aerogenes* (n=276、32%)、*Enterobacter cloacae* (n=225、29%)、*Klebsiella pneumoniae* (n=103、12%)、*Escherichia coli* (n=86、10%) の順に多く、その分布も患者報告とほぼ同様であった。

865 株のうち、いずれかのカルバペネマーゼ遺伝子が検出された株は 239 株 (28%) で、IMP 型が 227 株とその大半を占めた。IMP 型検出割合は、菌種による差を認め、*K. aerogenes* 0%、*E. cloacae* 29%、*K. pneumoniae* 58%、*E. coli* 52%であった。さらに、IMP 型検出株の主な菌種は地域差を認めた。NDM 型、KPC 型、OXA-48 型は、13 株より検出され、うち 8 株は海外渡航歴のない患者由来であった。

CRE 病原体サーベイランスにより、CRE 感染症届出症例におけるカルバペネマーゼ遺伝子保有株の地域の分離状況や海外型カルバペネマーゼ遺伝子保有株の分離状況を把握することが可能となった。

メタロ-β-ラクタマーゼ阻害剤開発の試み

○和知野純一、金万春、木村幸司、荒川宜親
(名古屋大学大学院医学系研究科分子病原細菌学)

本研究は、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（以下 CRE）の主要なカルバペネム耐性機構であるメタロ-β-ラクタマーゼ（以下 MβL）の阻害剤を開発することを目的としている。我々は、約 20,000 種類の低分子化合物ライブラリーの中から、IMP-1 MβL の酵素活性を阻害し、さらに、IMP-1 産生大腸菌に対するカルバペネム系薬の MIC を低下させる化合物を探索した。その結果、IMP-1 を強力に阻害する化合物 X を発見した。化合物 X は IMP-1、VIM-2、NDM-1 など subclass B1 に属する MβL を阻害し、さらに、これらを産生する CRE、アシネトバクター属菌に対するカルバペネム系薬の MIC を大幅に低下させた。一方、化合物 X は、subclass B2 や B3 に属する MβL に対しては阻害効果を示さなかった。また、セリン型 β-ラクタマーゼに対する阻害効果も示さなかった。したがって、化合物 X は subclass B1 MβL 特異的な阻害物質であると考えられた。

X 線結晶構造解析により、化合物 X は IMP-1、VIM-2、NDM-1 の活性中心に存在する亜鉛に結合することが確認された。その他、これら subclass B1 MβL に共通に存在するアミノ酸との結合様態が解明された。化合物 X について、細胞毒性、変異原性等を評価したところ、いずれも陰性であった。さらに、マウス腹腔感染モデルを用い、化合物 X の *in vivo* における阻害効果を評価した。メロペネム単独投与時に比較し、メロペネム-化合物 X 併用投与時の方が、マウスの生存率が有意に高かった。

化合物 X と MβL 複合体の X 線結晶構造解析の結果を踏まえ、IMP-1、VIM-2、NDM-1 に対し、さらに強い阻害活性を示す化合物の合成を試みた。その結果、合成した化合物 Y が、化合物 X に比較し、VIM-2 および NDM-1 により強い阻害活性を示すことがわかった。

(共同研究者 佐藤綾人、黒崎博雅、Anupriya Kumar)

日本の医療施設で分離された *mcr-1* 陽性コリスチン耐性腸内細菌科細菌

○内田大貴¹, 多田達哉¹, 上地幸平², 菅原美絵³, 宮入烈³, 藤田次郎², 切替照雄¹

¹順天堂大学大学院微生物学

²琉球大学医学部附属病院

³国立成育医療研究センター

【背景】

コリスチンはカルバペネム耐性腸内細菌科(CRE)を含む多剤耐性菌感染症に有効な抗菌薬の一つである。コリスチンは菌体の細胞膜に結合し、カルシウムとマグネシウムの架橋構造壊し、一部のグラム陰性桿菌に対して強い抗菌活性を有する。しかしコリスチン耐性遺伝子 *mcr-1* の出現により、最後の砦は脅かされつつある。我々は日本の医療施設から分離された *mcr-1* 陽性コリスチン耐性大腸菌および肺炎桿菌臨床分離株を検出し、それらの解析を行った。

【材料と方法】

沖縄の病院 14 施設と検査センター 2 施設において 2017 年 1 月から 12 月の間に、2mg/ml コリスチンと 3mg/ml バンコマイシンを含む CLED(Cystine-Lactose-Electrolyte-Deficient) 培地を用いたアクティブサーベイランスを行った。スクリーニングで得られた腸内細菌科細菌 6 株に関して、薬剤感受性試験を実施し、次世代シーケンサによる全ゲノム解析を行った。得られたデータから薬剤耐性因子の検出および MLST を実施した。また、国立成育医療研究センターにおいて、中国の病院でセファロスポリンでの尿路感染症治療歴がある 3 歳男児の直腸スワブからコリスチン耐性の大腸菌が分離されたため、同様の解析を行った。

【結果及び考察】

沖縄でのスクリーニングでは医療施設 A から大腸菌 3 株、医療施設 B から大腸菌 2 株および肺炎桿菌 1 株が分離され、いずれもコリスチンに耐性(4 µg/ml)で *mcr-1* 遺伝子を保有していた。ゲノム解析の結果、医療施設 A の大腸菌 3 株の *mcr-1* はすべて IncI2 に属する 66-kb のプラスミドに、医療施設 B の大腸菌 2 株および肺炎桿菌 1 株の *mcr-1* はすべて IncX4 に属する 33-kb のプラスミドに存在していた。MLST は、医療施設 A から大腸菌は ST456 (1 株)および ST5702(2 株)、医療施設 B から大腸菌は ST782(2 株)、肺炎桿菌は ST1296 (1 株)であった。国立成育医療センターで分離された大腸菌はコリスチン(4 µg/ml)およびカルバペネム耐性(イミペネム 8 µg/ml、メロペネム 16 µg/ml)を示し、*mcr-1* および *bla*_{NDM-5} 陽性であった。ゲノム解析の結果、*mcr-1* は 90-kb、*bla*_{NDM-5} は 150-kb のプラスミド上にあった。本株は ST132 に属しており、この ST に関する分離報告はなかった。

本研究の結果、国内でも *mcr-1* を保有する臨床株が検出された。沖縄で分離され株に関しては海外からの持ち込みあるいは家畜からの伝播が示唆された。また、国立成育医療研究センターで分離された株のように海外からの輸入事例は今後も監視していく必要が示唆された。

水系環境から検出されたコリスチン耐性腸内細菌科細菌の耐性機序の 多様性と長期定着の危険性

林 航¹, 田中 隼斗¹, 谷口 唯¹, 松尾 奈緒², 小出 将太¹, 前山 佳彦¹,
川村 久美子², 長野 由紀子², 荒川 宜親², 長野 則之¹

¹信州大学大学院 医学系研究科, ²名古屋大学大学院 医学系研究科

【目的】AMR 対策の観点から薬剤耐性菌に関する知見が未だ不十分である水系環境に着目し、下水流入水由来コリスチン(CL)耐性腸内細菌科細菌の解析を行った。

【方法】長野県内の下水処理場 A~D の 4 施設の下水流入水から検出された CL 耐性 *Klebsiella* spp. 全 10 株及び C, D 施設由来 CL 耐性 *E. coli* 全 3 株を対象に、NGS 解析 (染色体, プラスミド)などにより CL 耐性機序の解明を行った。

【結果と考察】A 施設の同一流入口から CL・チゲサイクリン(TGC)耐性 K30 *K. pneumoniae* ST29 が 3 回/3 ヶ月間継続して検出され、SNP 系統解析から高度な染色体塩基配列類似性を示した。これらの株の保有する IncL/M プラスミド上には *bla*_{CTX-M-3} に加え、Tn1548 にコードされた *armA* が確認された。また、CL 及び TGC 耐性に各々 *mgrB* への ISEc68 の挿入及び *ramR* への ISKpn21 の挿入による構造遺伝子の破壊が関与していた。B~D 施設で検出された CL 耐性 *Klebsiella* spp. 6 株では *mgrB* への ISEc68 (3 株)や IS3 (1 株)の挿入による構造遺伝子の破壊に加え、ナンセンス変異による終止コドンの出現 (1 株)やプロモーター領域への IS2 の挿入 (1 株)も認められ、耐性機序は株間で多様であった。

CL 耐性 *E. coli* は C 施設で Ec1, Ec2 の 2 株、D 施設で Ec3 の 1 株が検出された。これら 3 株に対する CL の MIC は 8 µg/mL であったが、ESBL 産生性は認められずほとんどの抗菌薬に感性であった。Ec1 は O25b:H4-B2-ST131-*fimH*22 に属し、ExPEC(腸管外病原性大腸菌)及び UPEC(尿路病原性大腸菌)に分類された。また、抗菌ペプチドをコードする microcin H47 system の保有が確認された。一方、Ec2 及び Ec3 は各々 O16:H5-A-ST871-*fimH*25 及び B1-ST767(解析中)に属していた。3 株は *mcr-1* をコードする IncX4 プラスミドを保有していた。Ec1 及び Ec2 の保有プラスミドはともに総塩基長 33,309 bp (2 塩基違い)で、施設内でのプラスミドの伝播が示唆された。また、これらのプラスミドは既報の中国で分離されたヒト糞便由来 *E. coli* 保有の IncX4 プラスミドの総塩基配列と 99% の高い相同性を示した。一方、Ec3 の保有プラスミドは総塩基長 33,858 bp で、中国やタイで分離されたヒト臨床由来 CL 耐性 *E. coli* 及び *K. pneumoniae* の保有する IncX4 プラスミドと総塩基配列が完全に一致した。

AMR 対策アクションプランでは水圏及び土壌環境における薬剤耐性微生物などの調査・研究の実施が掲げられているが、その実態は未だ把握されていない。特に最近の異常気象がもたらす豪雨により、地上への下水の溢水が頻繁化している中、水系環境における *mcr-1* 保有 *E. coli* の検出及び CL・TGC 耐性 *K. pneumoniae* の長期定着は公衆衛生上の懸念の一つであり、環境のモニタリングの重要性が示唆される。

高齢者介護施設における多剤耐性菌保菌の実態と保菌リスク因子の検討

小椋正道¹，阿部敏子²，大島利夫³，大楠清文⁴，藤本修平⁵

東海大学医学部看護学科¹，特別養護老人ホームたまプラーザ倶楽部²，千葉科学大学危機管理学部³，東京医科大学 微生物学分野⁴，東海大学医学部 基礎医学系生体防御学⁵

【目的】

高齢者介護施設における多剤耐性菌の動向を把握するために，高齢者介護施設における多剤耐性菌の保菌状況を明らかにすること，さらに，利用者属性から多剤耐性菌保菌のリスク因子を解明することを目的とした。

【方法】

研究協力に同意が得られた利用者（研究協力者）の鼻腔と咽頭を滅菌綿棒（Puritan® Opti-Swab：スギヤマゲン）で拭い，その綿棒を直接クロモアガーMRSA 培地（関東化学），クロモアガーMDRP 培地（関東化学），クロモアガーESBL 培地（関東化学），クロモアガーC3GR 培地（関東化学）にそれぞれ接種し，37℃にて一昼夜培養した。生育したコロニーはマイクロバンク（イワキ）で保存した後，全調査終了後に保存した菌株を血液寒天培地（ポアメディア）で純培養し，グラム染色，カタラーゼ試験，オキシダーゼ試験を施行，これらの結果とMALDI バイオタイパー（BECKMAN COULTER）およびマイクロスキャン WalkAway 96 Plus（BECKMAN COULTER）の同定結果を基に菌種を決定し，菌種同定の際は全ての菌株の薬剤感受性試験を施行し，同定した菌が耐性菌であることを確認した。また，対象者の属性を介護カルテから情報収集し，対象者属性から保菌リスク因子の解析を行った。なお，本研究は東海大学健康科学部倫理委員会の承認（15-30）を得て実施している。

【結果】

同意の取れた利用者 28 名の調査を行い，何らかの耐性菌が検出された利用者は 10 名（35.7%），そのうち Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*（MRSA）の検出は 1 名（3.6%），Extended-Spectrum β -lactamase（ESBL）選択培地に発育したブドウ糖非発酵菌類の検出は 2 名（7.1%）であった。

日常生活介助の有無別による保菌率の比較では食事介助，排泄介助，移乗介助共に介助有の利用者の保菌率が高かったが，統計的な有意差は認められなかった。統計的有意差は認められなかったが，介護度 4 以上の利用者の保菌率（53.8%）は介護度 3 以下の利用者の保菌率（20%）よりも高い傾向が見られた（ $P=0.06$ ： χ^2 乗検定）。

【考察】

有意差のあるリスク因子は認められなかったが，介護度 4 以上の利用者の保菌率は高い傾向が認められた。今後さらに対象施設や対象者数を増やし，さらに，施設間差を考慮して，複数の代表的施設の調査を行う必要があると考えた。

臨床材料由来 *Campylobacter jejuni* の薬剤感受性と遺伝的特徴

山田景士¹，齋藤良一²，武藤沙起里³，佐々木雅一¹，村上日奈子¹，青木弘太郎⁴

石井良和⁴，舘田一博⁴

¹東邦大学医療センター大森病院臨床検査部，²東京医科歯科大学大学院

³東京都保健医療公社豊島病院，⁴東邦大学医学部微生物・感染症学講座

<はじめに>

Campylobacter 属はグラム陰性のラセン菌であり、市中腸管感染症の主要な起炎菌である。本邦における本菌に関する疫学情報は必ずしも十分とは言えない現状がある。特に、下痢患者由来の臨床分離株における菌株の分子疫学に関する情報は不足している。そこで、本研究では、2000 年から 2017 年の 18 年間に食中毒由来患者の糞便培養から分離された *Campylobacter jejuni* について、①微量液体希釈法による薬剤感受性検査を行い、②菌株の薬剤耐性機構の解析と分子疫学解析を行い、*C. jejuni* の経年変化を観察した。

<材料と方法>

菌株は東京都都内の医療機関から 2000-2017 年の間に分離された *C. jejuni* 430 株を使用した。菌株の同定は馬尿酸分解試験と PCR を併用した。薬剤感受性検査は erythromycin と levofloxacin の 2 薬剤を用い、微量液体希釈法で最小発育阻止濃度 (MIC) を計測した。分子疫学解析は菌株の変遷を調べる為、2000 年 (初期) 16 株、2008 年 (中期) 25 株、2017 年 (後期) 41 株の 3 年分について、multi-locus sequence typing (MLST) によって sequence type (ST) を決定した。同時期のキノロン耐性株について、キノロン作用標的である Gyr のキノロン耐性決定領域 (QRDR) の塩基配列を決定し、変異の有無を確認した。

<結果>

全期間を通じて、erythromycin に耐性を示した株は一株のみであり、マクロライドの感受性は良好な成績が保たれていた。一方で levofloxacin の耐性率は、2000-2008 年の間では 34.9%であり、2009-2017 年の間では 41.9%で徐々に耐性率が増加していた。菌株の MLST 解析では、2000 年、2008 年、2017 年通じて多様な ST が観察されたが、その中でも clonal complex (CC) 21 に属する菌株が多く確認された。2000 年分離菌株では、CC21 に属する ST50 が多く、2008 年分離菌株では、CC22 に属する ST22 およびどの CC にも属さない ST922 が同数分離されていた。一方で、2017 年分離菌株では、CC21 に属する ST4526 が最も優位に検出されていた。興味深いことに、ST4526 株は全てにおいてキノロン耐性を獲得していた。QRDR の変異解析は、キノロン耐性株の全てにおいて Gyr に変異を獲得していた。最も多く確認された変異は GyrA における Thr86Ile、次いで GyrB における Ala518Thr が観察された。

<考察>

本研究により、本邦における *C. jejuni* のマクロライド耐性株は稀であり、良好な感受性が保たれていた一方で、キノロンについては経年的耐性化が示唆された。菌株の分子疫学解析では、キノロン耐性かつ CC21 に属する ST4526 が 2017 年に優位に検出されており、この ST4526 は 2000 年、2008 年には分離されておらず、近年急速に拡散している可能性も考えられる。

JANIS 検査部門における検査材料別薬剤感受性集計の検討

○島川宏一¹、川上小夜子¹、安齋栄子¹、平林亜希¹、筒井敦子¹、矢原耕史¹、
柴山恵吾^{1,2}、菅井基行¹

(国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター¹、細菌第二部²)

JANIS 検査部門公開情報の更なる充実を目的に、検査材料別での薬剤感受性集計の有用性を検討したので報告する。統計法に基づく JANIS 検査部門データの研究利用申請の承認を得た後、2015 年から 2017 年のデータを用いて、JANIS 公開情報で集計対象としている菌種について、血液、髄液、呼吸器系検体、尿、便およびその他の検体別に、薬剤感受性を集計し、比較した。

検査材料別のアンチバイオグラムは、大半の菌種で、一見して目立った変化を示さなかった。そのうち、有意な変化が見られた例としては、*Escherichia coli* と *Klebsiella pneumoniae* のセフトキシム (CTX) 耐性率、*Acinetobacter* spp. と *Pseudomonas aeruginosa* のゲンタマイシン (GM) 耐性率が挙げられる。*E. coli* の CTX 耐性率は、呼吸器系検体で最も高く (平均 32.7%)、その他の検体で最も低い (平均 18.6%) 値を示す傾向にあった。これは、ESBL 産生菌が呼吸器系検体から多く分離されることを反映していると考えられた。*K. pneumoniae* の CTX 耐性率は、便検体で最も高く (平均 19.5%)、その他の検体で最も低い (平均 6.0%) 傾向にあった。*Acinetobacter* spp. と *P. aeruginosa* の GM 耐性率は、尿検体および呼吸器系検体で高い値を示す傾向にあった。

その他、*Enterococcus faecium* のバンコマイシン (VCM) 耐性率は、便検体で顕著に上昇していたが、これは、VRE の多くが便から検出されていること、および JANIS 検査部門のデータにはアウトブレイク時やハイリスク患者のアクティブスクリーニング検査で得られた便検体のデータが含まれていることを反映していると考えられた。

また、*P. aeruginosa* のイミペネム (IPM) 耐性率は、髄液検体で最も高く (平均 36.7%)、最も低い尿検体との間には平均で約 20% の差異が認められた。これは、*P. aeruginosa* を起因とする感染症患者から治療経過中に複数回の検体採取と薬剤感受性検査を行う中で、菌が耐性化したケースを反映していると考えられた。実際、同一患者から同一菌種が複数回分離された場合にその最初の株のみを集計に用いると、髄液検体と尿検体の IPM 耐性率の差は半減した。髄液検体は、薬剤感受性を測定された株数が年間で数十しかない場合が多いため、層別して薬剤感受性を集計し、アンチバイオグラムを作成する必要性は少ないと考えられた。

JANIS 公開情報における薬剤耐性菌の動向と地域別分布状況（2017 年）

川上小夜子¹, 島川宏一¹, 安斎栄子¹, 平林亜希¹, 筒井敦子¹, 矢原耕史¹,
柴山恵吾^{1,2}, 菅井基行¹

国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター¹, 細菌第二部²

【はじめに】 JANIS 検査部門年報公開情報から、2008 年—2017 年の主な薬剤耐性菌の動向を分析するとともに、2017 年分離の薬剤耐性菌の地域別分布特性を分析した。

【結果】 MRSA の分離率は 2008 年以降 2016 年までは減少傾向であったが、2017 年には下げ止まり、分離率は前年と同率（検体提出患者数に占める割合では 6.48%、黄色ブドウ球菌分離患者数に占める割合では 47.7%）となった。

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)の分離率は減少傾向であり、菌種の内訳は 2015、2016 年には *Enterobacter cloacae* が最多(33.5%)で、*Klebsiella*(*Enterobacter*) *aerogenes* (31.3%)、*K. pneumoniae* (9.6%)、*Escherichia coli* (7.2%)、*Serratia marcescens* (4.4%)の順であったが、2017 年には *K. aerogenes* が最多(35.2%)で、次いで *E. cloacae* (30.5%)となった。

E. coli と *K. pneumoniae* の CTX 耐性率は、2008 年には 9.0%と 5.0%であったが、2017 年には各々 26.8%、8.9%となり、*E. coli* では耐性化が約 18%進行した。

*E. coli*における LVFX の耐性率は、2008 年には 27.0%であったが、2017 年には 40.1%まで上昇した。

2017 年に MRSA が平均分離率の 47.7%を上回った都道府県数は、東日本で 8 県、西日本で 20 府県であり、最高は大分県の 64.9%、最低は山形県の 27.3%であった。

さらに、VRE、PRSP、MDRP、MDRA、CRE、カルバペネム耐性緑膿菌、第三世代セファロsporin耐性大腸菌、第三世代セファロsporin耐性肺炎桿菌、フルオロキノロン耐性大腸菌について東西での薬剤耐性菌の分離率を比較すると、PRSP 以外は西日本の方が高かった。特に MRSA、第三世代セファロsporin耐性大腸菌、フルオロキノロン耐性大腸菌では有意な差が認められた。

VRE は 33 都道府県 684 人から分離され、前年より 42 人増加した。増加したのは埼玉県(19→73 人)、千葉県(19→79 人)、岡山県(57→81 人)、沖縄県(55→82 人)であった。MDRA は 15 都道府県 80 人から分離され、前年より 50 人減少した。しかし、新たに北海道、鳥取県、鹿児島県での分離が確認された。MDRP は 45 都道府県 1,410 人から分離され、前年より 245 人減少した。特に、東京都(349→185 人)、大阪府(192→168 人)、岡山県(92→67 人)での減少が大きかった。

【考察】 2017 年に MRSA の分離率が下げ止まった原因については、精査する必要があると考えられる。また、薬剤耐性菌は西日本での分離率が高く、地域別に感染対策を検討する必要性が示唆された。

MEMO

A series of horizontal dotted lines for writing.

MEMO

A series of horizontal dotted lines for writing.



ホーム

研究会概要

研究会案内

国内耐性菌情報

海外耐性菌情報

耐性菌Q&A

会則

入会案内

アクセス

お問い合わせ

Information

- 2018.6.21 第47回 薬剤耐性菌研究会のページをアップしました。
参加登録と抄録原稿の募集を開始しました。
参加登録締め切り: 2018年10月12日
抄録原稿締め切り: 2018年10月22日
参加登録票に必要事項を記入した後、事務局までメール添付でお送りください。
- 2018.3.30 第47回薬剤耐性菌研究会が2018年11月16日(金)、17日(土)に長野県松本市美ヶ原温泉で開催されることが決まりました。詳細はこちらのページをご覧ください。
- 2017.12.22 耐性菌情報(海外)のページ、耐性菌情報(国内)のページを更新しました。
- 2017.11.2 耐性菌情報(海外)のページ、耐性菌情報(国内)のページを更新しました。
- 2017.10.24 第46回 薬剤耐性菌研究会のページを更新し、プログラムをアップしました。
- 2017.10.2 第46回 薬剤耐性菌研究会の特別講演に、北京大学教授であり中国の薬剤耐性菌サーベランスの責任者の一人であるDr. Zheng氏を招聘いたしました。
- 2017.9.29 耐性菌情報(海外)のページ、耐性菌情報(国内)のページを更新しました。
- 2017.9.21 耐性菌Q & Aのページ(Q&A 60, 61)を更新しました。
- 2017.9.15 耐性菌情報(海外)のページ、耐性菌情報(国内)のページを更新しました。

群馬大学文部科学省特別プロジェクト事業

多剤薬剤耐性菌制御のための
薬剤耐性菌研究者育成と
国際学的専門教育

