

3 調査研究

3・1 報文

1) 熊本県の市中における薬剤耐性菌の腸管内保菌調査 (第 2 報)

前田莉花*1 原田誠也 小原敦美 森 美聡 伊豆一郎 八尋俊輔*2 徳岡英亮

要旨

2019 年 7 月から 2023 年 3 月間に 1,130 検体の糞便を検査したところ、289 検体 (25.4%) から 298 株の薬剤耐性菌が分離された。このうち 285 株 (95.6%) は大腸菌であり、CTX-M 型の ESBL 産生大腸菌が 226 株 (79.3%) を占めた。この中の 160 株 (56.1%) はパンデミック・クロン群の大腸菌 ST131 であり、O25:H4 が 119 株及び O16:H5 が 41 株であった。O25:H4 の中には現在世界各地で増加が報告されているサブクレード C1-M27 が 88 株含まれていた。このことから、現在も続いている大腸菌 ST131 の世界的な拡散が、本県の市中における薬剤耐性菌増加の主因であり、乳幼児施設や高齢者施設、あるいは各家庭での感染伝播が示唆された。

キーワード：市中、薬剤耐性菌、ESBL、CTX-M、大腸菌 ST131

はじめに

近年、CTX-M 型の基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ (Extended-spectrum β -lactamase ; ESBL) 産生腸内細菌目細菌が世界的に増加^{1,2)} し、2000 年代初めから世界中に拡散し続けているパンデミック・クロン群の大腸菌シーケンズ・タイプ (sequence type) 131 (ST131) との関連が多数報告^{3,4)} されている。大腸菌 ST131 は多くの病原遺伝子を保有し、院内のみならず、市中でも免疫力の弱い子供や老人に感染して腸管外感染症 (尿路感染症、肺炎、敗血症等) を起こすことがある。そのうえ多くの株が臨床現場で多用されているセファロスポリン系やフルオロキノロン系等の抗菌薬に耐性を示す多剤耐性菌であり、抗菌薬の選択が限定される。

さらに、最近では細菌感染症治療の最終兵器と呼ばれるカルバペネム系抗菌薬にも耐性を示すカルバペネム耐性腸内細菌目細菌 (Carbapenem-resistant enterobacterales ; CRE) 等も増加傾向にあり、このまま何も対策を取らなければ、2050 年には 1000 万人が薬剤耐性菌感染症で死亡するとの予測⁵⁾ も出されている。

そこで世界保健機関 (WHO) は、2015 年 5 月の総会で「薬剤耐性 (Anti-microbial resistance ; AMR) に関するグローバル・アクションプラン」⁶⁾ を採択した。これを受け、我が国も 2016 年 4 月に、ワンヘルス・アプロ

ーチの視野に立った「AMR 対策アクションプラン 2016-2020」⁷⁾ を策定し、ヒト、動物、食品及び環境等から分離される薬剤耐性菌に関する統合的なワンヘルス動向調査を実施することが明記された。なお、本アクションプランは 2020 年で終了したが、国は本年、新たな数値目標を設定した第 2 弾の「AMR 対策アクションプラン 2023-2027」⁸⁾ を決定し、引き続き AMR 対策に取り組んでいる。

このような中、我々は、熊本県の市中における薬剤耐性菌の侵淫状況を把握するため、2015 年 4 月から薬剤耐性菌の腸管内保菌調査を開始し、現在も継続している。2019 年 6 月末まで調査結果は既に報告 (既報)⁹⁾ したが、今回は第 2 報として 2019 年 7 月から 2023 年 3 月までの調査結果を報告する。

材料及び方法

1. 検査材料

2019 年 7 月から 2023 年 3 月間に、感染性胃腸炎の発生動向調査 (主に小児科外来患者)、腸管出血性大腸菌やノロウイルス等による集団感染症発生時の積極的疫学調査 (乳幼児施設や高齢者施設が多く、大部分が健康人から採取した糞便検体)、及び食中毒等で行政検査依頼のあった糞便等、計 1,130 検体を検査材料とした。

*1 現県南広域本部保健福祉環境部 *2 現熊本県健康福祉部健康局薬務衛生課

2. 検査方法

2.1 薬剤耐性菌の分離と同定

薬剤耐性菌の分離・同定法は既報⁹⁾に準じたが、分離培地であるカンピロバクター用 CCDA 選択剤 (Oxoid) 加 DHL 寒天培地 (栄研化学) の CCDA 選択剤の濃度は、カンピロバクター分離に使用する量の 1/10 量とした。

2.2 マルチプレックス PCR 法による ESBL 及び AmpC 遺伝子の検出

既報同様、ESBL 遺伝子は、Le ら¹⁰⁾のマルチプレックス PCR 法及びプラスミド性 AmpC β-ラクタマーゼ (以下「AmpC」という) 遺伝子は Perez-Perez ら¹¹⁾のマルチプレックス PCR 法でそれぞれ検出した。その結果、CTX-M-1 group 又は CTX-M-9 group の薬剤耐性遺伝子が陽性であった場合、一部の代表株について、山口ら¹²⁾の PCR 法で得られた増幅 DNA をシーケンス解析し、遺伝子型を決定した。

2.3 ディスク法による ESBL 及び AmpC 産生性の確認及び薬剤感受性試験

分離株の ESBL 産生、AmpC 産生、及び薬剤感受性試験は市販のセンシ・ディスク (日本 BD 社) を用い、既報と同様の方法で実施した。

2.4 免疫血清及びマルチプレックス PCR 法による大腸菌の O 及び H 血清型別

分離された大腸菌の血清型別は、病原大腸菌免疫血清 O 群血清セット及び H 血清セット (デンカ生研) で実施した。これにより型別不能又は非運動性と判定された株は、既報同様 Iguchi ら¹³⁾の *E. coli* O-genotyping PCR 法及び Banjo ら¹⁴⁾の *E. coli* H-genotyping PCR 法により血清型を決定した。

2.5 大腸菌の系統解析及びパンデミック・クローン O25b-ST131 スクリーニング

大腸菌の系統解析 (A, B1, B2, D) は Clermont ら¹⁵⁾の triplex PCR 法で実施した。また、血清型が O25:H4 と同定された大腸菌がパンデミック・クローン O25b-O131 に該当するかどうかは、同じく Clermont ら¹⁶⁾が報告した大腸菌 O25b-ST131 クローンのスクリーニング用 *pabB* PCR 法で判定した。

2.6 パンデミック・クローン群の大腸菌 ST131 のクレード解析

血清型 O25:H4 又は O16:H5 と判定された大腸菌について、Matsumura ら¹⁷⁾が開発したマルチプレックス PCR 法による ST131 のクレード解析を実施し、各クレード (又はサブクレード) を決定した。

なお、本研究は2019年1月25日に開催された当研究所の倫理審査委員会で審査され、2019年2月20日付け第1号で承認されたが、その後、研究期間等に変更が生じた

表1 薬剤耐性菌及びESBL産生菌の分離状況 (年度別)

| 年度 | 検体数 | 薬剤耐性菌の分離検体数 (%) | ESBL産生菌分離検体数 (%) |
|------|------|-----------------|------------------|
| 2019 | 351 | 110(31.3) | 84(23.9) |
| 2020 | 403 | 104(25.8) | 74(18.4) |
| 2021 | 145 | 40(27.6) | 33(22.8) |
| 2022 | 231 | 35(15.2) | 31(13.4) |
| 合計 | 1130 | 289(25.6) | 222(19.6) |

ため再度審査が行われ、2023年3月31日付け第1号で承認された。

結果

1 市中における薬剤耐性菌の糞便保菌状況

2019年7月から2023年3月間に搬入された糞便1,130検体から薬剤耐性菌の分離を行い、289検体 (25.6%) から298株を分離した。この中には222検体から分離された230株のESBL産生菌が含まれる (表1, 2)。各年度の薬剤耐性菌及び (ESBL産生菌) の分離率は、2019年度 (7月以降) が31.3% (23.9%)、2020年度が25.8% (18.4%)、2021年度が27.6% (22.8%)、及び2022年度が15.2% (13.4%) であった (表1)。

2 分離された薬剤耐性菌の菌種 (大腸菌血清型を含む) 及び *bla* 遺伝子型

分離された薬剤耐性菌298株のうち285株は大腸菌であり、*Klebsiella pneumoniae* 等、その他の腸内細菌目細菌が13株であった (表2)。大腸菌は多くの血清型に細分され、中でもO25:H4が120株 (40.3%) 及びO16:H5が43株 (14.4%) で、既報同様大腸菌ST131に該当する2つの血清型が多数を占めた。また、今回は免疫血清で型別できなかつたすべての株をPCR法で型別したことで、血清型の判明率が大きく向上した (表2)。

分離菌種 (血清型) を検出された *bla* 遺伝子の種類で分離株を大別すると、CTX-M型ESBL遺伝子陽性菌が230株 (1株はAmpC遺伝子も同時保有)、ペニシリナーゼ (PCase) 遺伝子陽性生菌が54株 (1株はAmpC遺伝子も同時保有)、AmpC遺伝子陽性菌が10株、及び染色体性AmpC産生と思われる菌が4株であった (表2)。また、ESBL遺伝子陽性菌のうち226株はCTX-M型ESBL遺伝子を持つ大腸菌であった。CTX-M遺伝子のgroup分類ではCTX-M-9groupが173株 (76.5%)、CTX-M-1groupが44株 (18.1%) であり、それぞれ53株と13株がTEM型の遺伝子を同時に保有していた。

表2 分離された薬剤耐性菌298株の菌種(大腸菌血清型を含む)とbla遺伝子型

| 菌種 (血清型) | PCase | | ESBL(+PCase) | | | | | | AmpC(+PCase) | | | | 合計 (%) | | | |
|--------------------------------|-----------|-------------|------------------|----------|--------------|------------------|--------------|------------------|--------------|----------------|-----|-------------|--------|--------------------|-------------|---|
| | TEM | TEM +SHV | CTX-M-1 group | | | CTX-M-2 group | | CTX-M-9 group | | プラスミド性 AmpC | | | | 染色体性 AmpC? | | |
| | | | 単独 | +TEM | +TEM +SHV | 単独 | +TEM +SHV | 単独 | +TEM | +TEM | CIT | CTV +TEM | | | DHA | |
| <i>E. coli</i> | | | | | | | | | | | | | | | | |
| O1:H6 | 1 | | 1 | 3 | | | | | | | | | | 5 (1.7) | | |
| O1:H7 | 1 | | 1 | | | | 1 | 4 | | | | | | 7 (2.3) | | |
| O1:H(Others) | | | 2 | | | | 4 | 1 | | | | | | 7 (6.4) | | |
| O4:H30 | 1 | | | | | | | | | | | | | 1 (0.3) | | |
| O6* | 3 | | | | | | 2 | | | | | | | 5 (1.7) | | |
| O7:H15 | | | | | | | 1 | | | | | | | 1 (0.3) | | |
| O8 | 3 | | | | | | | | | | | | | 3 (1.0) | | |
| O11 | 1 | | | | | | | | | 1 | | | | 2 (0.7) | | |
| O15:H18 | 3 | | | 1 | | | | | 1 | | | | | 5 (1.7) | | |
| O15:H(Others*) | 1 | | | | | | 1 | 1 | | | | | | 3 (1.0) | | |
| O16:H5 | 5 | | 2 | 1 | | | 11 | 15 | 9 | | | | | 43 (14.4) | | |
| O18:H6 | 1 | | | | | | | | | | | | | 1 (0.3) | | |
| O24:H7 | 1 | | | | | | | | | | | | | 1 (0.3) | | |
| O25:H4 | 10 | | 8 | 3 | | | 86 | 11 | 2 | | | | | 120 (40.3) | | |
| O25:H(Others) | 2 | | 1 | | | | | 1 | | | | | | 4 (1.3) | | |
| O44:H18 | | | | | | | 1 | | | | | | | 1 (0.3) | | |
| O75:H5 | 4 | | 1 | 2 | | | 2 | | | | | | | 9 (3.0) | | |
| O83 | | | | | | | | 1 | | | 2 | | | 3 (0.9) | | |
| O85:H49 | | | | | | | | 7 | | | | | | 7 (2.3) | | |
| O86:H18 | 3 | | | 1 | | | 2 | 1 | | | 3 | | | 10 (3.4) | | |
| O86:H(Others) | 1 | | | | | | 2 | | | | | | | 3 (1.0) | | |
| O92:H33 | | | 6 | | | | | 2 | | | | | | 8 (0.3) | | |
| O98:H5 | 1 | | | | | | | | | | | | | 1 (0.3) | | |
| O102:H21 | | | | | | | 1 | | | | | | | 1 (0.3) | | |
| O111:H8 | | | 1 | | | | | | | | | | | 1 (0.3) | | |
| O119:H4 | 1 | | | | | | | | | | | | | 1 (0.3) | | |
| O120:H5 | | | | 1 | | | | | | | | | | 1 (0.3) | | |
| OgGp ^a 5 | | | 1 | | | | | | | | | | | 1 (0.3) | | |
| OgGp7 | | | | | | | 3 | 2 | | | | | | 5 (1.7) | | |
| OgGp8 | 1 | | 1 | | | | | 1 | | | | | | 3 (1.0) | | |
| OgGp9 | 2 | | | | | | | 1 | | | | | | 3 (1.0) | | |
| OgGp10: | 1 | | | | | | 1 | | | | | | | 2 (0.7) | | |
| OgGp15 | | | | | | | 1 | 1 | | | | | | 2 (0.7) | | |
| OgUT ^b :H(various*) | 4 | | 3 | 1 | | 1 | 1 | 3 | | | | 1 | 1 | 15 (5.0) | | |
| 小計 | 51 | 0 | 28 | 13 | 0 | 1 | 0 | 120 | 53 | 11 | 1 | 5 | 1 | 1 | 285 (95.6) | |
| <i>C. freundii</i> | | | | | | | | | | | 2 | | | 1 | 3 (1.0) | |
| <i>K. aerogenes</i> | | | | | | | | | | | | | | 1 | 1 (0.3) | |
| <i>K. pneumoniae</i> | | 3 | | | 3 | | 1 | | | | | | | | 7 (2.3) | |
| <i>M. organii</i> | | | | | | | | | | | | 1 | | | 1 (0.3) | |
| <i>C. sakazakii</i> | | | | | | | | | | | | | | 1 | 1 (0.8) | |
| 合計 | 51 | 3 | 28 | 13 | 3 | 1 | 1 | 120 | 53 | 11 | 3 | 5 | 2 | 4 | 298 (100.0) | |
| | 54 | | 44 | | | | 2 | | 173 | | 11 | | 8 | | | 4 |
| | | | 230 | | | | | | 14 | | | | | | | |

*:O血清型のみ示したものと及びOthers/Variou はH血清型が複数存在
a):OgGp(PCRで区別できない複数のO血清型が含まれている。詳細は文献^{[2],[13]}参照)
b):OgUT(PCR法でもO血清型別不能)

その他 CTX-M-1 group と CTX-M-9 group の両遺伝子保有株が

11 株 (すべて TEM 型遺伝子も同時保有), 及び CTX-M-2 group 遺伝子単独保有株が 1 株であった (表 2)。

なお, CTX-M-1 group 及び CTX-M-9 group の代表株のシーケンス解析結果は, 後述する ST131 のクレード解析結果の項 (小見出し 5) で示す。

3 分離株の ESBL 及び AmpC 産生性の確認及び薬剤感受性試験結果

ESBL 遺伝子検出用のマルチプレックス PCR 法で

TEM 型又は TEM 型と SHV 型の両遺伝子が陽性であった 54 株は DDST で阻止円の拡張が見られなかったことからペニシリナーゼ (PCase) 産生株と判定された。また, CTX-M 型遺伝子陽性の 230 株又は AmpC 遺伝子等陽性の 14 株は, DDST 又はボロン酸添加による阻害試験でそれぞれ bla 遺伝子の検出結果と矛盾しないことが確認された。

薬剤感受性試験では 298 株中 241 株 (80.9%) がセファロsporin (CTX) 耐性であり, そのうち 188 株 (63.1%) はフルオロキノロン (CPFX) にも耐性を示した。このうち 144 株は大腸菌 ST131 であり, O25:H4 が

109 株, O16:H5 が 35 株含まれていた。

一方, 有効な抗菌剤もあり, 298 株中 248 株 (83.2%) はセファマイシン (CMZ), カルバペネム (MEPM), 及びホスホマイシン (FOM) の 3 剤には感性であった。

4 大腸菌系統分類及び 25b-ST131-スクリーニング PCR の結果

大腸菌系統分類では, 主に腸管外感染症の起因菌が属するとされる B2 が 209 株 (73.3%) 及び D が 48 株 (16.8%) であり, O25:H4 は D と同定された 1 株を除く 119 株が B2, O16:H5 は 43 株すべてが B2 と判定された (表 3)。

また, 大腸菌 O25b-ST131 クローン・スクリーニング *pabB* PCR 法では, 系統分類 D であった 1 株を含む 120 株すべてが陽性となり, さらに 5 株の O1:H7 を含む O25:H4 以外の血清型 12 株も陽性と判定された (表 3)。

5 パンデミック・クローン群大腸菌 ST131 のクレード解析結果及び各クレード代表株の耐性遺伝子型

供試した 120 株の大腸菌 O25:H4 は, 系統分類で D と判定された 1 株を除く 119 株が, O16:H5 は 2 株を除く 41 株が ST131 と判定された (表 4)。これらの株のクレード解析を行ったところ, O25:H4 は CTX-M-27 遺伝子を持つとされるサブクレード C1-M27 が 88 株, CTX-M-14 遺伝子を持つ株が多いとされるサブクレード C1-nM27 が 21 株, CTX-M-15 遺伝子を持つとされるサブク

表3 大腸菌の系統発生分類とST131-PCR結果

| 大腸菌血清型 | 大腸菌系統群分類 | | | | | O25b-ST131-PCR 陽性株数 |
|----------------|----------|-------|--------|--------|-------------|---------------------|
| | A | B1 | B2 | D | 計 (%) | |
| <i>E. coli</i> | | | | | | |
| O1:H6 | | | | 4 | 4 (1.4) | |
| O1:H7 | | | 6 | | 6 (2.1) | |
| O15:Hg18 | | | | 5 | 5 (1.8) | |
| O16:H5 | | | 43 | | 43 (15.1) | |
| O25:H4 | | | 119 | 1 | 120 (42.1) | 120 |
| O86:H18 | | | | 10 | 10 (3.5) | |
| Og92:Hg33 | 8 | | | | 8 (2.8) | |
| その他 | 10 | 10 | 41 | 28 | 89 (31.2) | 12 |
| 合計 | 18 | 10 | 209 | 48 | 285(100.0) | 132 |
| (%) | (6.3) | (3.5) | (73.3) | (16.8) | (100.0) | (46.3) |

レード C2 が 9 株, 及びクレード C が 1 株に分類された。一方, O16:H5 は供試した 43 株のうち, ST131 と判定された 41 株がクレード A に分類された。

また, 各クレードの代表株 (C1-M27:3 株, C1-nM27:3 株, C2 : 3 株, 及び A : 5 株) を用いた CTX-M 遺伝子のシーケンス解析により, C1-M27 は 3 株とも CTX-M-27, C1-nM27 は 3 株とも CTX-M-14, C2 は 3 株とも CTX-M-15 遺伝子保有株であったが, A は CTX-M-14 が 1 株, CTX-M-15 が 1 株, CTX-M-27 が 2 株, 及び CTX-M-15 と CTX-M-27 両遺伝子保有株が 1 株に分かれた。

なお, Matsumura ら¹⁷⁾ のクレード解析法では, Clermont ら¹⁶⁾ の大腸菌 O25b-ST131 クローン検出用 *pabB* PCR 法で陽性となった系統分類 D の O25:H4 及び O25:H4 以外の血清型大腸菌 12 株は ST131 とは判定さ

表4 大腸菌 (O26:H4, O26:H5) の系統分類及びクレード (サブクレード) 解析結果

| 大腸菌系統分類 | | B2 | | | | | | D | | 合計 |
|--------------------|--------|-------|---|---|---------|--------|----|-----------|---|-----|
| Sequence Type (ST) | | ST131 | | | | | | non-ST131 | | |
| ST131 クレード/サブクレード | | A | B | C | C1-nM27 | C1-M27 | C2 | 小計 | | |
| 大腸菌血清型 | O25:H4 | | | 1 | 21 | 88 | 9 | 119 | | 120 |
| | O16:H5 | 41 | | | | | | 41 | 2 | 43 |

表5 薬剤耐性菌及び大腸菌ST131 (O25:H4, O16:H5) の分離状況 (施設別)

| 区分 | 施設(事例)数 | 検体数 | 薬剤耐性菌 分離検体数 (%) | 大腸菌-ST131 分離検体数 (%) | 大腸菌-ST131の内訳 (%) | |
|--------|---------|------|-----------------|---------------------|------------------|----------|
| | | | | | O25:H4 | O16:H5 |
| 発生动向調査 | 1 | 76 | 15(19.7) | 9(60.0) | 7(46.7) | 2(13.3) |
| 乳幼児施設 | 13 | 350 | 133(38.0) | 74(55.6) | 47(35.3) | 27(20.3) |
| 高齢者施設 | 6 | 80 | 23(28.8) | 16(69.5) | 14(70.6) | 2(11.8) |
| 家庭 | 81 | 305 | 66(21.5) | 41(62.1) | 33(60.9) | 8(8.7) |
| その他 | 54 | 319 | 52(16.5) | 20(38.5) | 18(34.6) | 2(3.8) |
| 合計 | 155 | 1130 | 289(25.4) | 160(55.4) | 119(41.2) | 41(14.2) |

表6 同一乳幼児施設で複数分離された薬剤耐性大腸菌の血清型(クレド[®]/サブクレド[®])

| 検査年月 | 乳幼児施設 | 検体数 | 分離された薬剤耐性大腸菌の血清型(クレド [®] /サブクレド [®]) | | | | | | | | | 合計 | |
|---------|-------|-----|---|-------|--------|--------|---------|----|---------|---------|---------|----|----|
| | | | O1:H6 | O1:H7 | O16:H5 | O25:H4 | | | O85:H49 | O86:H18 | O92:H33 | | |
| | | | | | A | C1-M27 | C1-nM27 | C2 | | | | | |
| 2019/8 | A | 27 | 2 | | | | 1 | | 1 | | | 5 | 9 |
| 2019/9 | B | 53 | | | 16 | 7 | 1 | | | | | | 24 |
| 2019/10 | C | 18 | | 3 | | 1 | 2 | | | | | | 6 |
| 2020/7 | D | 19 | | | | 3 | | | | 7 | | | 10 |
| 2020/12 | E | 46 | | | | 10 | 1 | | | | 2 | | 13 |
| 2021/10 | F | 24 | | | 4 | 4 | | | | | | | 8 |
| 2022/11 | G | 45 | | | 5 | 1 | 1 | 1 | | | | | 8 |
| 合計 | 7 | 232 | 2 | 3 | 25 | 26 | 6 | 2 | | 7 | 2 | 5 | 78 |

れず、検査結果が異なった。

6 事例や施設等の検査区別による薬剤耐性菌検出率

分離された薬剤耐性菌及びこの中に含まれる大腸菌 ST131 を検査した各事例や類似施設等に基づく検査区分毎にまとめたところ、分離率は乳幼児施設が 38%で最も高く、続いて高齢者施設 28.8%、各家庭 21.5%の順であった。中でも大腸菌 ST131 (O25:H4 及び O16:H5) が全分離株の 55.4%を占め、特に O25:H4 の分離数が多かった(表 5)。

次に、感染拡大の例として乳幼児施設での薬剤耐性菌分離状況を示した(表 6)。分離数の多かった大腸菌 ST131 以外に、O85:H49 や O92:H33 等の同一血清型大腸菌が複数分離されていることから、施設内での感染伝播と考えられる事例が複数認められた。また、O25:H4 は 1 施設から異なったサブクレドの菌が分離されることも多く、施設内での感染伝播以外に家庭等外部からの持ち込みが考えられた。

考 察

我々はワンヘルス事業の一環として、2015 年度から、熊本県の市中における薬剤耐性菌の腸管内保菌調査を続けている。2015 年 4 月～2019 年 6 月間の調査結果は既報⁸⁾で示したが、その後 2019 年 7 月～2023 年 3 月間にさらに 1,130 検体の糞便を検査したところ、289 検体(25.4%)から 298 株の薬剤耐性菌が分離された。本調査において、薬剤耐性菌の分離率は年々増加傾向にあり、今回も 2019 年度までは同様の傾向であったが、2020 年度は前年度より減少した。また、2021 年度及び 2022 年度は検体数が激減し、特に 2022 年度は分離率も低下した。この理由として、「薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書 2022」¹⁸⁾に大腸菌における第 3 世代セファロsporin 系抗菌薬及びフルオロキノロン系抗菌薬への耐性率は引き続き増加傾向であったが 2020 年から 2021 年にかけて初めてわずかな減少を示したとの記載

があることから、2016 年から実施された国の「AMR 対策アクションプラン 2016-2020」の効果によるとも考えられる。しかしながら、今回は新型コロナ・パンデミックによる感染予防策の強化で、乳幼児施設や高齢者施設からの検体搬入が減少したこと及び飲食店等への休業要請や衛生管理の強化等による食中毒減少の影響が大きいと考えられた。

分離された薬剤耐性菌は、既報と同様の傾向で 298 株中 285 株(95.6%)は大腸菌であった。また、臨床現場で多用されるセファロsporin 系抗菌薬耐性の CTX-M 型 ESBL 産生菌が 230 株(80.1%)を占めた。このうち 185 株はフルオロキノロン系抗菌薬(CPFX)等にも耐性であり、このような細菌による感染症が発生した場合、抗菌薬の選択には十分な注意が必要であろう。

また、今回もパンデミック・クローン群の大腸菌 ST131 と推定される O25:H4 及び O16:H5 が分離された薬剤耐性菌の過半数を占めたことから、新たに Matsumura ら¹⁷⁾が開発した ST131 のクレド解析法を導入した。その結果、O25:H4 は 4 つのクレド(又はサブクレド)に分類されたが、O25:H4 は各クレド(又はサブクレド)ごとに保有率の高い CTX-M 遺伝子型が分かっており、本調査で代表株を用いた CTX-M 遺伝子のシーケンス結果とすべて一致した。Matsumura らのクレド解析法は、PFGE に比べると解像度は劣るものの、大腸菌 ST131 の各クレドを簡便、経済的かつ正確に分類することができ、そのうえ各菌株が保有している CTX-M 遺伝子型の推定も可能であることから、大腸菌 ST131 の疫学解析手法として大変有用と思われる。さらに、本解析法により O25:H4 の 73.9%がサブクレド C1-M27 であったことから、現在も続いているパンデミック・クローン群の大腸菌 ST131 の世界的拡散、特にサブクレド C1-M27 の増加が本県の市中における薬剤耐性菌増加の主因であり、ヒトを介して乳幼児施設や高齢者施設、あるいは各家庭に持ち込まれ、接触感染によりヒトからヒトへの感染を繰り返しながら拡

散している可能性が高いと考えられた。

また、本研究では AmpC 産生菌も同時に調査しているが、AmpC 産生菌の分離率は 4.7% (14/298 株) と低かった。しかし、AmpC 産生菌も ESBL 産生菌や CRE 同様、耐性遺伝子保有プラスミドの水平伝達により菌種を超えて拡散する可能性があり、今後も注意が必要であろう。

なお、本研究は当初カルバペネマーゼを産生する CRE の市中への広がりを調査する目的で開始したが、今回の調査でも CRE は分離されず、まだ CRE は本県の中に拡散していないと思われた。しかしながら、最近、カルバペネマーゼを産生する新たな O25b-ST131 も報告^{19,20)}されており、今後も市中における薬剤耐性菌のサーベイランスを継続する必要がある。

文 献

- 1) Rossolini GM, D'Andrea MM, Mugnaioli C. : Clin Microbiol Infect., 14 (Suppl. 1), 33-41 (2008) .
- 2) Woerther PL, Burdet C, Chachaty E, Andremont A : Clin. Microbiol. Rev., 26 (4), 744-758 (2013) .
- 3) Petty NK1, Ben Zakour NL, Stanton-Cook M, Skippington E, Totsika M, Forde BM, Phan MD, Gomes Moriel D, Peters KM, Davies M, Rogers BA, Dougan G, Rodriguez-Baño J, Pascual A, Pitout JD, Upton M, Paterson DL, Walsh TR, Schembri MA, Beatson SA., 11 (15), 5694-5699 (2014) .
- 4) Nicolas-Chanoine MH, Bertrand X, Madec JY. : Clin. Microbiol. Rev, 27 (3), 543-574 (2014) .
- 5) Antimicrobial Resistance Chaired by Jim O'Neil. AMR Review Paper : Tackling a crisis for the health and wealth of nations (2014).
- 6) WHO Global action plan on antimicrobial resistance : <https://www.who.int/publications/i/item/9789241509763> (2023 年 9 月閲覧) .
- 7) 厚生労働省 : 薬剤耐性(AMR)対策アクションプラン 2016-2020 : <https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/0000120769.pdf> (2023 年 9 月閲覧) .
- 8) 厚生労働省 : 薬剤耐性(AMR)対策アクションプラン 2023-2027 : https://www.mhlw.go.jp/content/10900000/ap_honbun.pdf (2023 年 9 月閲覧) .
- 9) 八尋俊輔, 小原敦美, 近藤ひとみ, 深澤未来, 八木一真, 梶島翔一郎, 酒井 崇, 戸田純子, 松本一俊, 原田誠也 : 熊本県保環研所報, 48, 25-32 (2018) .
- 10) Le QP, Ueda S, Nguyen TN, Dao TV, Van Hoang TA, Tran TT, Hirai I, Nakayama T, Kawahara R, Do TH, Vien QM, Yamamoto Y. : Foodborne Pathog, 12 (8), 719-725 (2015) .
- 11) Pérez-Pérez F. J, Hanson N D : J Clin. Microbiol., 40 (6), 2153-2162 (2002) .
- 12) 山口友美, 木村葉子, 渡邊 節, 有田富和, 後藤郁男, 畠山 敬 : 宮城県保環センター年報, 37, 38-42 (2019) .
- 13) Iguchi A, Iyoda S, Seto K, Morita, Ishihara T, Scheutz F, Ohnishi M, Pathogenic *E. coli* Working Group in Japan : J Clin. Microbiol., 53, 2427-2432 (2015) .
- 14) Banjo M, Iguchi A, Seto K, Kikuchi T, Harada T, Scheutz F, Iyoda S, Pathogenic *E. coli* Working Group in Japan ; J Clin. Microbiol. 56, e00190-18 (2018) .
- 15) Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E. : Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group., Appl. Environ., Microbiol., 66, 4555 - 4558 (2000) .
- 16) Clermont O, Dhanji H, Upton M, Gibreel T, Fox A, Boyd D, Mulvey MR, Nordmann P, Ruppé E, Sarthou JL, Frank T, Vimont S, Arlet G, Branger C, Woodford N, Denamur E. : J. Antimicrob. Chemother., 64, 274 - 277,(2009) .
- 17) Matsumura Y, Pitout JDD, Gisele Peirano G, DeVinney R, Noguchi T, Yamamoto M, Gomi R, Matsuda T, Nakano S, Nagao M, Tanaka M, Ichiyama S : Antimicrobi Agents and Chemother, 61 (8), e00179-17 (2017) .
- 18) 薬剤耐性ワンヘルス動向調査検討会:薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書 2020 : 薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書 2020 (NAOR) .pdf (mhlw.go.jp) (2023 年 9 月閲覧) .
- 19) Peirano G, Bradford PA, Kazmierczak KM, Badal RE, Hackel M, Hoban DJ, Pitout JD : Emerg Infect Dis., 20 (11), 1928-1931 (2014) .
- 20) Ellaby N, Doumith M, Hopkins KL, Woodford N, Ellington MJ : Euro Surveill, 24 (37), 1-8 (2019) .