

ヒトおよび河川由来第3世代セファロスポリン系薬耐性大腸菌の疫学解析

◎北村 優衣¹⁾、岡野 修己¹⁾、中村 竜也¹⁾、藤社 果林²⁾、安井 桃音²⁾
京都橘大学 健康科学部 臨床検査学科¹⁾、京都橘大学大学院 健康科学研究科²⁾

【目的】近年、薬剤耐性菌は臨床のみならず環境・動物にも拡散し、One Healthの観点から調査が求められている。本研究では、京都府内のヒトおよび鴨川由来株から分離された第3世代セファロスポリン系薬耐性大腸菌の疫学解析を実施した。さらに、POT型一致株について全ゲノム解析を行い、関連性を検討した。

【方法】2025年3月、鴨川17地点の河川水よりCTX含有マッコンキー寒天培地で大腸菌を分離し73株を得た。そのうちESBL産生39株とAmpC産生1株の計40株を解析対象とし、京都府立医大由来ヒト株16株を比較に用いた。菌種同定はMALDI-TOF MS、薬剤感受性検査は微量液体希釈法(CLSI準拠)で12薬剤を評価した。PCRとシーケンスで耐性遺伝子を解析し、MLST・POT法で型別した。さらに外膜蛋白遺伝子の発現量とバイオフィーム形成能を測定した。POT型一致株(河川株No.10・ヒト株No.30)はMinIONとIlluminaでハイブリッドアセンブリを行い、耐性遺伝子・病原因子・プラスミド構造を決定し、系統解析を実施した。

【結果】河川由来株の薬剤感受性試験では、PIPC/TAZ・CTLZ/TAZ・MEPMに耐性を示す株はなく、CIT保有株はCMZに耐性を示した。ヒト株も同様にこれら薬剤への耐性はなかった。MLST解析では河川株はST131が40%を占め多様な型を示し、ヒト株は80%がST131であった。河川のESBL産生遺伝子はCTX-M-15やCTX-M-27が主流で、日本では稀なCTX-M-101も初検出された。外膜蛋白遺伝子の発現量とバイオフィーム形成能に有意差はなかった。NGS解析では、POT型一致株の河川株No.10とヒト株No.30はいずれもCTX-M-27を保有していたが、前者はプラスミド上、後者は染色体上に存在した。全ゲノム比較ではSNP数157を示し、異なるクローンであることが確認された。

【考察】京都府内河川に薬剤耐性大腸菌が持続的に存在し、一部はヒト株と同一遺伝子型を有することが判明した。しかし全ゲノム解析から、POT型が一致してもクローンレベルでは異なる可能性が示唆された。さらに海外由来の遺伝子型は一過性で、国内で優勢な遺伝子型が河川環境に定着している可能性が高い。 連絡先:075-574-4423

当院において検出された ESBL 産生菌の遺伝子型の傾向について

◎宮川 大樹¹⁾、塩田 彩花¹⁾、本田 法子¹⁾、藤原 麻有²⁾
京都市立病院臨床検査技術科¹⁾、京都橘大学健康科学部臨床検査学科²⁾

【はじめに】Extended-spectrum β -lactamase (ESBL) 産生菌はペニシリン系、第 1~4 世代セファロスポリン、アズトレオナムに分解能を持つ、Ambler の分類クラス A β -lactamase である。1980 年代に初めて報告がされて以来、世界中に拡大を見せており、2000 年代以降は CTX-M-型 ESBL 産生菌の割合が多くなってきたが、地域により傾向が異なることがわかっている。近年、京都では外国人観光客が増加しており、海外からの耐性菌の流入が危惧される。今回、当院において検出された ESBL 産生菌が保有する遺伝子型を調査したので、傾向について考察を加え、報告する。

【対象と方法】2025 年 1 月 1 日から 2025 年 7 月 24 日までに検出された ESBL 産生菌を対象とし、PCR 法を用いて CTX-M-1 group、CTX-M-9 group、TEM-型、SHV-型の遺伝子型の検出を行った。同一患者・同一菌種の重複例は除外した。

【結果】対象期間中に検出された ESBL 産生菌は 100 株で、菌種別内訳は、*Escherichia coli* が 75 株 (75%、CTX-M-1 group : 35 株、CTX-M-9 group : 40 株)、*Klebsiella*

pneumoniae/variicola が 19 株 (19%、CTX-M-1 group : 15 株、CTX-M-9 group : 4 株)、*Proteus mirabilis* が 2 株 (2%、CTX-M-1 group : 2 株)、*Klebsiella aerogenes* が 3 株 (3%、CTX-M-1 group : 3 株)、*Enterobacter cloacae complex* が 1 株 (1%、SHV-型 : 1 株) であった。また、*Escherichia coli*、*Klebsiella pneumoniae/variicola*、*Klebsiella aerogenes* では、CTX-M 型と共に他の遺伝子型を持つ株を多数、認めた。

【考察】日本では CTX-M-9 group による ESBL 産生菌が最も多いという報告があるが、今回の調査では、CTX-M-9 group よりも CTX-M-1 group を保有する ESBL 産生菌が最も多く検出された。また、約半数以上の株で CTX-M-型に加え、他の遺伝子型を保有していることが分かった。CTX-M-1 group には世界的に拡散しているとされている CTX-M-15 が含まれており、海外からの観光客の増加に伴い、日本においても CTX-M-15 が徐々に広まっている可能性が示唆された。

連絡先：京都市立病院臨床検査技術科
075-311-5311 (内線：2288)

インドネシアの飼育牛における ESBL 産生 *Escherichia coli* の分布調査

◎ 谷澤 万優子¹⁾、大澤 佳代¹⁾、野本 竜平²⁾、楠木 まり³⁾、木下 承皓⁴⁾、Dadik Raharjo⁵⁾、Kuntaman Kuntaman⁵⁾、白川 利朗⁴⁾

神戸常盤大学保健科学部医療検査学科¹⁾、神戸市健康科学研究所感染症部²⁾、神戸大学医学部附属病院検査部³⁾、神戸大学大学院科学技術イノベーション研究科先端医療学分野⁴⁾、アイルランガ大学微生物学⁵⁾

【背景・目的】

インドネシアなどの新興国では抗菌薬が安易に流通しており、ヒトのみならず家畜や環境中の薬剤耐性細菌に対する新興国での調査は必須である。昨年度の研究では、インドネシアの異なる飼育環境における鶏由来の *Escherichia coli* 株より、ESBL 産生株が多数報告された。そのため、本研究ではインドネシアの家畜の中でも飼育牛より分離された牛由来の *E. coli* 株における薬剤感受性及び ESBL 産生性について調べた。

【対象・方法】

インドネシアの 10 か所の農場で飼育されている牛由来の *E. coli* 110 株を対象とし、薬剤感受性試験(19 薬剤)を行った。ESBL 確認試験で陽性を示した *E. coli* 株は DNA を抽出後、PCR 法で ESBL 遺伝子を増幅して遺伝子の有無を確認し、シーケンス解析により遺伝子型別の判定を行った。また、カルバペネム耐性を示した株はカルバペネマーゼ遺伝子の有無を確認した。

【結果】

飼育牛由来 *E. coli* 株の ESBL 確認試験の結果から、110 株中 77 株 (61.8%) が ESBL 産生株と判定できた。ESBL 産生株のうち、77 株中 IPM に非感性を示したのは 4 株 (5.2%)、MEPM は 8 株 (10.4%) であった。また、他に非感性を示したのは LVFX 64.9 % (50/77 株)、S/A 48.1 % (37/77 株) などであった。ESBL 遺伝子保有率は、CTX -M-55 型が 22.1% (17/77 株)、CTX-M-15 型が 14.3% (11/77 株)、CTX-M-14 型が 1.3% (1/77 株) であり、TEM 型は TEM-1 のみであった。SHV 型やカルバペネマーゼ遺伝子を保有する株は認められなかった。

【考察】

飼育牛由来の ESBL 産生 *E. coli* 株は 61.8% と、昨年度の鶏由来の株 (放牧:80.2%、ブロイラー: 88.2%) に比べると ESBL 産生株の占める割合が低かったことから家畜ごとに特徴がみられることがわかった。このことから、今後も家畜の飼育環境や薬剤耐性獲得の機序について調査する必要がある。

インドネシアの牛飼育員における *Escherichia coli* の薬剤耐性の調査

◎原田 京香¹⁾、大澤 佳代²⁾、野本 竜平³⁾、楠木 まり⁴⁾、木下 承皓⁵⁾、Dadik Raharjo⁶⁾、Kuntaman Kuntaman⁶⁾、白川 利朗⁵⁾
神戸常盤大学保健科学部医療検査学科¹⁾、神戸常盤大学保健科学部医療検査学科²⁾、神戸市健康科学研究所感染症部³⁾、神戸大学医学部附属病院検査部⁴⁾、神戸大学大学院科学技術イノベーション研究科先端医療学分野⁵⁾、アイルランガ大学微生物学⁶⁾

【背景・目的】

近年、抗菌薬の過剰使用や誤用による薬剤耐性、特に ESBL 産生 *Escherichia coli* の報告が世界中で問題となっており、薬剤耐性菌はさまざまな経路を通じて家畜からヒトに伝播する可能性がある。これまで、インドネシアの家畜から分離した ESBL 産生 *E. coli* に対する調査によりその特徴を明らかにしたが、本研究ではインドネシアの牛飼育員から分離した ESBL 産生 *E. coli* における薬剤耐性と ESBL 遺伝子の有無についての調査を行った。

【対象・方法】

インドネシアの 10 か所の牛農場における牛飼育員の糞便から分離された *E. coli* 162 株を対象とし、19 薬剤を用いて薬剤感受性試験を行った。ESBL 確認試験で陽性を示した対象株から DNA を抽出し、ESBL 遺伝子を PCR 法で増幅し、シーケンスにより ESBL 遺伝子型を確認した。

【結果】

ESBL 確認試験の結果、牛飼育員の *E. coli* 株のうち ESBL 産生株は 89.5% (145/162 株)であった。薬剤感受性試験の結

果より、牛飼育員の ESBL 産生 *E. coli* の非感性率は LVFX 65.5% (95/145 株)、GM 47.6% (69/145 株)、ST 42.1% (61/145 株)などがみられた。各 ESBL 遺伝子の保有率は CTX-M-55 型 19.3% (28/145 株)、CTX-M-15 型 4.8% (7/145 株)、CTX-M-79 型 2.1% (3/145 株)、TEM-176 型 1.4% (2/145 株)であった。

【考察】

インドネシアの牛飼育員の ESBL 産生 *E. coli* 株から検出された CTX-M-55 型、CTX-M-15 型、CTX-M-79 型は世界において牛などの家畜から検出された報告が多くみられ、TEM-176 型は中国 上海での鶏由来 *E. coli* 株より検出されていた。家畜由来の株から家畜の飼育員への伝播の可能性が示唆されたことから、今後も家畜のみならず、飼育側における薬剤耐性株の出現についてさらなる調査を実施する必要がある。

感受性プレート「ライサス RCEB3」を用いた省力化の検討

◎戸田 美紗子¹⁾、寺前 正純¹⁾、大淵 裕紀子¹⁾、赤城 ひろみ¹⁾、矢野 曜子¹⁾
兵庫県立がんセンター¹⁾

【はじめに】当院では ESBL 産生菌を早期に検出するため、グラム染色で腸内細菌目細菌が推定される検体は、CPDX 含有の ESBL スクリーニング培地にも塗布している。スクリーニング培地に発育を認めた株は、薬剤感受性試験と同時に ESBL 確認試験として Double disk synergy test (DDST) を実施していた。しかし、*Enterobacter cloacae complex* のようなセファロスポリナーゼ (AmpC) 産生株も対象となるため、試薬コストや工数に無駄が生じていた。今回我々は、ESBL 確定検査が可能な感受性プレート「ライサス RCEB3」(島津ダイアグノスティクス) を導入し、検査工程およびコスト面への効果について検討したので報告する。

【対象と方法】2024 年 12 月～2025 年 6 月に当院で分離された腸内細菌目細菌 262 株を対象に、ライサス RCEB3 の判定結果および DDST の要否を後方視的に調査した。

【結果】ライサス RCEB3 で ESBL と確定された株は *Escherichia coli* 35 株、*Klebsiella pneumoniae* 2 株であった。CLSI における ESBL 検査実施基準に該当したものの確定基準を満たさず、DDST を追加した株は 10 株であった。そ

の内訳は、AmpC 産生 *E. coli* 5 株、AmpC 産生 *K. pneumoniae* 1 株、AmpC および ESBL 共産生 *E. coli* 3 株、ESBL 産生 *K. pneumoniae* 1 株であった。また、CPDX に耐性 (R) または中間 (I) を示し、スクリーニング培地に発育していたと推定される腸内細菌目細菌は 79 株であった。

【考察】ライサス RCEB3 導入により、従来では DDST を実施していた 79 株のうち、69 株で DDST を省略できた。一方、ESBL 疑い株の一部は AmpC または AmpC+ESBL 産生菌であったものの、DDST で ESBL 単独と判定された例も存在し、必要に応じて DDST を併用する必要がある。

【まとめ】ライサス RCEB3 導入により、DDST を省略した迅速な ESBL 判定が可能となった。DDST の省略による、検査工程の効率化、技師の負担軽減及びコスト削減につながった。

連絡先：078-929-1151 (内線 433)