

201420019A

厚生労働科学研究費補助金

新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業
(新興・再興感染症に対する革新的医薬品等開発推進研究事業)

新たな薬剤耐性菌の耐性機構の解明及び

薬剤耐性菌のサーベイランスに関する研究

(H24-新興-一般-010)

平成 26 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 柴山恵吾

平成 27 年(2015 年) 3 月

平成26年度 厚生労働科学研究費補助金

(新型インフルエンザ等新興・再興感染症研究事業)

「新型薬剤耐性菌の耐性機構の解明及び

薬剤耐性菌のサーベイランスに関する研究」班 名簿

区 分	氏 名	所 属	職 名
研究代表者	柴山恵吾	国立感染症研究所 細菌第二部	部 長
研究分担者	荒川宜親	名古屋大学大学院医学系研究科 分子病原微生物学／耐性菌制御学	教授
	飯沼由嗣	金沢医科大大学臨床感染症学	教授
	大西 真	国立感染症研究所細菌第一部	部長
	北島博之	地方独立行政法人大阪府立病院機構 大阪府立母子保健総合医療センター 新生児科	部長
	切替照雄	(独)国立国際医療センター研究所 感染制御研究部	部長
	黒崎博雅	熊本大学大学院生命科学研究部	准教授
	佐多徹太郎	富山県衛生研究所	所長
	鈴木里和	国立感染症研究所細菌第二部	室長
	舘田一博	東邦大学医学部微生物・感染症学講座	教授
	富田治芳	群馬大学大学院医学系研究科細菌学	教授
	長沢光章	東北大学医学部附属病院診療技術部	部長
	藤本修平	東海大学医学部基礎医学系生体防御学	教授
	松本智成	一般財団法人 大阪府結核予防会大阪病院検査部	部長
	山根一和	川崎医科大学公衆衛生学	講師
	山本友子	千葉大学大学院薬学研究院	教授

目 次

I. 総括研究報告書

- 新たな薬剤耐性菌の耐性機構の解明及び
薬剤耐性菌のサーベイランスに関する研究 1
柴山恵吾 国立感染症研究所

II. 分担研究報告書

1. 新型のグラム陰性多剤耐性菌等の分子機構の解明 28
荒川 宜親 名古屋大学大学院医学系研究科
- 1) 腸内細菌科細菌におけるアミノグリコシド耐性機構の解析
 - 2) ESBL 産生大腸菌におけるホスホマイシン耐性機構の解明と簡易検査法の開発
 - 3) *Acinetobacter baumannii* 国際流行株の鑑別法の開発
 - 4) 臨床分離大腸菌におけるプラスミド伝達性キノロン耐性遺伝子の
耐性機構に関する研究
 - 5) 食品における基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ産生菌の
汚染状況に関する研究
 - 6) セファロスポリン系薬低感受性を示すペニシリン感性B群連鎖球菌に関する研究
 - 7) 黄色ブドウ球菌の薬剤耐性に関する研究
 - 8) ペニシリンに関する研究低感受性B群連鎖球菌に関する研究
 - 9) 健常人より分離された CTX-M 産生大腸菌のホスホマイシン耐性に関する研究
 - 10) メタロ β -ラクタマーゼ産生菌の検出法に関する研究
2. MDRP、MRSA 等の伝播様式と蔓延防止に関する研究 74
飯沼 由嗣 金沢医科大学
3. 淋菌の薬剤感受性試験についての検討 78
大西 真 国立感染症研究所
4. 新生児における病院感染症の予防あるいは予防対策に関する研究 83
北島 博之 大阪府立病院機構大阪府立母子保健総合医療センター
5. 多剤耐性緑膿菌の院内感染対策に関する研究 90
切替 照雄 独立行政法人国立国際医療センター研究所

6. 新型の薬剤耐性菌の構造と立体構造に立脚した検出剤の分子設計
並びに迅速・簡便検査法の確立・・・96
黒崎 博雅 熊本大学大学院生命科学研究部
7. 地方衛生研究所における薬剤耐性菌等に関する
細菌学的、疫学的調査解析機能の強化に関する研究…………… 101
佐多 徹太郎 富山県衛生研究所
1) アシネトバクター属菌の鑑別法に関する研究
2) アシネトバクター属菌の感染疫学解明に関する研究
8. 参加医療機関の多様化および層別化集計による問題点の検討 …………… 119
鈴木 里和 国立感染症研究所
・ JANIS 及びレセプトデータを用いた年齢階級別 MRSA 患者罹患率の比較…………… 131
谷原 真一 福岡大学医学部衛生・公衆衛生学教室
9. 多剤耐性菌のベータラクタマーゼの解析 …………… 136
舘田 一博 東邦大学医学部
10. グラム陽性菌(腸球菌、黄色ブドウ球菌)の多剤耐性菌に関する研究 …………… 139
富田 治芳 群馬大学大学院医学系研究科
11. 日常検査における薬剤耐性菌の検出方法の確立および
薬剤感受性検査の精度管理に関する研究 ……………142
(サーベイランスに用いる日常検査データの問題点と対策の検討)
長沢 光章 東北大学医学部附属病院
12. 院内感染対策の高精度化を目的とした電子システムの開発と
応用に関する研究 …………… 148
藤本 修平 東海大学医学部
13. 抗酸菌の omnilog に関する研究 ……………159
松本 智成 大阪府結核予防会大阪病院
14. 厚生労働省院内感染対策サーベイランス提出データの精度向上に関する研究……………162
山根 一和 川崎医科大学

15. グラム陽性菌の新型耐性機構に関する研究.....186
山本 友子 千葉大学大学院薬学研究院

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表189

Ⅳ. 研究成果の刊行物・別刷199

I. 総括研究報告書

新たな薬剤耐性菌の耐性機構の解明及び薬剤耐性菌のサーベイランスに関する研究
平成 26 年度 総括研究報告書

研究代表者 柴山 恵吾 （国立感染症研究所・細菌第二部・部長）

研究要旨

この研究班では、国内外の医療機関から耐性菌を収集して、新型耐性菌の出現や、海外からの耐性菌の流入がないかを監視し、特に注意を要するものが確認された時はゲノムの解析や酵素の構造機能解析などによりその耐性メカニズムを明らかにするとともに、簡便な検査法の開発を行った。国立感染症研究所細菌第二部では、H26 年度に 63 の医療機関から 481 株の薬剤耐性菌株の解析依頼を受けて解析を行った。うち、212 株において IMP 型カルバペネマーゼ遺伝子が検出された。関西地区には IMP-6 が多く、その他の地区では IMP-1 が多い傾向があった。特記すべきこととして、IMP 型カルバペネム耐性遺伝子を持つプラスミドが接合伝達により腸内細菌科のいろいろな菌株、菌種に伝播して拡散し、院内感染を起こし、さらに地域で拡散していることが明らかになった。医療現場でのプラスミドの伝播を実際に明らかにしたのは、この研究が初めてである。これらの結果に基づいて、厚生労働省より注意喚起の事務連絡、課長通知が発出された。また海外でカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症が増加していることや、上記のような国内の状況から、感染症法にカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症を新たに加えることを提言した。また同時に薬剤耐性アシネトバクター感染症を 5 類定点把握疾患から全数把握疾患に変更することを提言した。届け出基準案を研究班と臨床微生物学会等の関連学会で協議し作成した。最終的に審議会の議論を経て感染症法の改定時に盛り込まれた。届け出基準は、現在まだ議論の余地が残されているので、臨床現場の検査の実施状況も考慮しつつ今後検討を続ける必要がある。新規の耐性遺伝子では、腸内細菌科細菌からカルバペネム耐性遺伝子 GES-24、アミノグリコシド耐性遺伝子 *aac(6')-Ia* を見出した。基質特異性拡張型 β ラクタマーゼ産生菌の耐性遺伝子については、人由来株では CTX-M9 型が多く、鶏肉由来株では CTX-M2 型が多いことが分かった。腸球菌では、新規に見出された *vanN* 遺伝子が国産鶏肉に存在することを明らかにした。結核菌については、Small genomic island pattern による新たなタイピング法を開発した。淋菌については、薬剤感受性試験の標準化を検討した。新技術開発としては、アシネトバクターの流行株の鑑別法の確立と、IMP-1 カルバペネマーゼの阻害剤のリード化合物の同定を行った。サーベイランスに関しては、感染対策の電子化による高精度化、高効率化を目的として、耐性菌条件・警告・案内の定義の標準化、アルゴリズムの開発、およびそれらの実用システムへの実装、改良および普及、新生児病院感染症の登録システムの開発と普及を行い、また厚生労働省院内感染対策サーベイランスの精度向上に関する提言を行った。今年度は J-GRID、WHO と連携してアジア各国との共同研究体制の構築も進めた。

研究協力者

松井真理、鈴木仁人、筒井敦子、森茂太郎、
林原絵美子、金玄

(国立感染症研究所細菌第二部)

A. 研究目的

近年外国では様々な新型耐性菌が出現し、さらにそれらは世界中に拡散している。日本では、以前より存在している IMP 型カルバペネマーゼ産生菌が増加傾向にあり、さらに多剤耐性化した株もしばしば分離される。このような耐性菌は有効な薬剤がないため臨床上深刻な問題である。この研究では、国内の医療機関で分離される耐性菌を収集し解析して、どのような耐性菌が外国から流入したり、国内で新たに出現しているのかを把握する。そして、その薬剤耐性機構について分子／遺伝子レベルで詳細な解析を行なう。また JANIS データを利用して国内で特に蔓延、拡散が懸念される耐性菌を疫学面からも把握する。これらの結果をもとに、国内の耐性菌の実態や、またどのようなタイプの耐性菌が特に注意が必要であるかについての情報を社会に発信する。またそれらについて、医療機関の検査室でも実施可能な簡便迅速な検査法を開発する。同時に、薬剤耐性菌感染症対策にさらに必要なサーベイランスツールの開発や JANIS の改良を目指す。基礎研究者、応用研究者、疫学研究者が有機的に連携し、社会における薬剤耐性菌の状況を俯瞰的に把握して厚生労働行政上必要な研究を推進する。

これまでに、国内医療機関から耐性菌を収集し、外国で広まっている NDM 型、KPC 型、OXA-48 型カルバペネマーゼ産生菌が、国内に実際に輸入されていることを明らかにした。また、国内分離株から、新型の耐性遺伝子 TMB-2、AAC(6')-Iaj、IMP-43、IMP-44、NDM-8 を見出し発表した。その他、いくつかの菌種について耐性株を収集し、遺伝子型別解析を実施して国内の実態を明らかにした。また簡便な検査法の開発も行った。サーベイランスに関しては、耐性菌検・警告のためのシステム開発、中小病院

の微生物検査の実態調査を実施した。

平成 26 年度は、引き続き菌株収集と解析を継続するとともに、これまでに得られた成果を社会に還元することを念頭において、主に結果のとりまとめを行った。基礎的な研究については、成果を論文発表するとともに、それらの結果から感染対策に資するような情報をとりまとめ、社会に発信したり、政策提言を行った。JANIS に関しては、集計や医療現場への情報還元について、改良法を JANIS 運営委員会に提案した。また引き続き新型耐性菌の出現、輸入について監視した。

B. 研究方法

代表研究者、分担研究者が国内外の医療機関から耐性菌を収集して、引き続き新型耐性菌の出現や、海外からの耐性菌の流入がないかをモニターリングした。特に注意を要するものが確認された時は社会に情報発信した。

代表研究者柴山は協力研究者とともに国内の菌株収集と解析を行い、新型の耐性菌の出現や海外で蔓延している耐性菌の流入を監視した。特に、H26 年 3 月に、大阪地区の中核病院でカルバペネム耐性腸内細菌科細菌による大規模な院内感染が発生したので、この事例の菌株を収集し、詳細な解析を行うこととした。なお初期の解析結果から、このアウトブレイクは規模が大きく、疫学的な解析も大規模となることが予想されたため、後に別途研究班が組織され(厚生労働科学特別研究事業、多剤耐性菌感染症の疫学と国内における対応策に関する研究、H26-特別-指定-005、代表研究者、大石和徳)、柴山は引き続き分担研究者として解析を続行した。

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌については、耐性遺伝子を持つプラスミドの全塩基配列を決定し、「薬剤耐性菌サーベイランスとゲノムデータの集約・解析に関する研究班(黒田班)」と連携して、社会における耐性遺伝子の動態を解析した。既知の耐性遺伝子が検出されない菌株についてはゲノ

ム解析を行い、新規の耐性遺伝子を同定した。これまでに同定した新型耐性遺伝子については、迅速簡便な検査法の開発を進めた。

研究班の成果をもとに、感染症法における薬剤耐性菌の位置づけを検討し、審議会に提言した。また厚生労働省院内感染対策サーベイランスの精度向上について運営委員会に提言した。また、プラスミドの伝播による院内感染については、厚生労働省から注意喚起の事務連絡を発出していただき、また院内感染対策中央会議で状況を説明し、注意喚起の課長通知を発出していただいた。

またH26年度はJ-GRIDと連携して外国の耐性菌株について収集体制を構築した。JANIS については、精度向上に関する研究を進めるとともに、J-GRIDと連携して海外展開を行った。

各分担研究者の研究方法は以下のとおりである。

荒川は、アシネトバクターの簡便な遺伝子型別法の開発、フルオロキノロン耐性機構の解明、人と食品由来の基質特異性拡張型βラクタマーゼの解析を担当し、また新型耐性菌の監視も行った。

飯沼は、MRSAと多剤耐性緑膿菌についての遺伝子型タイプが特に拡散しやすく注意を要するのかを明らかにし、その簡便な検出法を開発した。

大西は、淋菌の薬剤感受性試験の標準化を検討した。

北島は、NICUにおける感染症診断基準を作成し、入力シートの普及を目指した。

切替は、腸内細菌科細菌、緑膿菌で新規に薬剤耐性遺伝子を同定し、その迅速診断キットを開発し、さらに実際に臨床現場で試用した。

黒崎は、創薬を目指してIMP-1メタロベータラクタマーゼの阻害剤の候補化合物を探索した。

佐多は、アシネトバクターの流行株のゲノム解析を行った。

鈴木は、JANISで施設特性別の集計を行う場合、病床数や診療科など、どのような

指標で施設を分類するのが最も適切かを明らかにし、JANIS運営委員会に提案した。

館田は、感染症法のカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の届け出基準について検討を行った。

富田は、バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)に関して新規の耐性遺伝子を見出した。MRSAについては、バンコマイシンに対する感受性の経時的变化を解析した。

長沢は、感染症法のカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の届け出にあたり、医療機関検査室における判定方法の問題点を整理した。

藤本は、JANISデータを臨床現場の感染対策に活用するツール開発を行った。

松本は、結核菌の新規遺伝子型別法を確立し、従来法と比較して評価した。

山根は、JANIS参加機関のサーベイランスの実施状況やサーベイランスの実施にあたっての課題を調査し整理した。

山本は、テリスロマイシン耐性肺炎球菌の耐性メカニズムを明らかにした。

倫理面への配慮

臨床分離菌株を収集するにあたり、患者情報を集めた場合は所属機関の倫理委員会の審査を受け、承認を受けた上で研究を実施した。

C. 研究結果

薬剤耐性菌の収集と解析について

国立感染症研究所細菌第二部では、H26年度に63の医療機関から481株の薬剤耐性菌株の解析依頼を受けて解析を行った。うち、212株においてIMP型カルバペネマーゼ遺伝子が検出された。関西地区にはIMP-6が多く、その他の地区ではIMP-1が多い傾向があった。

大阪地区の中核病院において発生したプラスミドの伝播による院内感染事例の解析について

大阪地区の中核医療機関において、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌が100名以

上の患者から分離されており、院内感染が疑われることが報道発表された。これらの菌株を国立感染症研究所細菌第二部に送付してもらい、プラスミドの解析を実施した。ほとんど全てのプラスミドはカルバペネム耐性遺伝子 IMP-6 を持っており、IncN タイプだった。ここで、この IMP-6 は薬剤感受性試験においてメロペネムを用いると耐性と判定されるが、イミペネムを用いると感性和判定されてしまうことが知られている。医療機関では薬剤感受性試験にイミペネムが用いられることが多いため、この IMP-6 のカルバペネム耐性腸内細菌科細菌が見逃されていた可能性がある。解析の結果、この医療機関では、数年前からこのカルバペネム耐性遺伝子 IMP-6 をもつプラスミドが院内で多くの菌種に組み替えを起こしながら伝播しており、周辺の医療機関も含めて大規模に感染が拡散していることが明らかになった。この解析結果については論文 1 にて発表した。

日本におけるアシネトバクター属菌の分子疫学

アシネトバクター属菌には、臨床現場で特にアウトブレイクを起こしやすいタイプ International Clone II (IC II) がある。国内の医療機関 86 施設に協力いただき、H24 年 10 月～H25 年 3 月に送付いただいたアシネトバクター属菌 866 株の解析を行った。菌種の同定、ならびにこれまでに我々が新規に開発した型別法による IC II の判定、薬剤感受性試験、カルバペネム耐性遺伝子の検出を行った。菌種の内訳は、*A. baumannii* が 645 株 (75%) と最も多く、うち 245 株 (28%) が IC II だった。多くの IC II はカルバペネム感性和であり (耐性率 3.7%)、多剤耐性株は 2 株のみであったが、非 IC II 株に比べて多剤耐性傾向だった。特に、フルオロキノロンについては IC II は全ての株が耐性だった。なお、2000 年に実施された調査では IC II はわずかにしか検出されなかったため、近年国内においても IC II が増加していることが明らかになった。この結果の詳細は、添付資料 1 に示す。

薬剤耐性菌のハイスループットなゲノム解析体制の構築

国内外から多数収集した薬剤耐性菌のゲノムを効率良く解析するために、MALDI-TOF 質量分析計 (Bruker 社 MALDI バイオタイパー) を用いて同定を行い、さらに、Illumina 社や Pacific Biosciences 社の次世代シーケンサーを用いたゲノム解析を行うワークフローを確立した。この結果の詳細は、添付資料 2 に示す。

ピロリ菌以外の *Helicobacter* 属菌の国内分離株の解析

Helicobacter cinaedi および *Helicobacter fennelliae* は近年菌血症の原因菌となっていること、さらに院内感染を起こすことが明らかになってきた。この研究では、国内分離株の薬剤耐性を調べた。*H. cinaedi* 46 株と *H. fennelliae* 3 株を解析した結果、全てシプロフロキサシンとクラリスロマイシンに耐性であった。全ての株で、GyrA および 23S rRNA の遺伝子に変異があった。この結果の詳細は、添付資料 3 に示す。

結核菌の薬剤耐性に関する研究

新規抗結核薬の標的である結核菌由来キノリン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼとニコチン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼの両方の酵素活性を阻害することが予想される化合物を *in silico* スクリーニングによって選択し、その阻害活性を調べた。約 650 万種類の化合物の中から新規阻害剤の候補として 64 種類の化合物を選択し、実際の阻害活性を測定したところ、顕著な阻害活性を示す化合物はなかった。今後、化合物の構造の最適化が必要である。この結果の詳細は、添付資料 4 に示す。

感染症法の改定

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌による感染症が世界的な問題となっており、また国内でも上記のような院内感染が起こっていることから、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症を新たに 5 類全数把握疾患とすることを提言し、届け出基準を作成した。届け出基準は、これまで国立感染症研究所が国内の医療機関から収集した菌株の解析結果をもとに、感度、特異度よく検出が出

来、かつ臨床現場で無理なく判定ができるように設定した。なお、基準の作成にあたっては、臨床微生物学会精度管理委員会と緊密に協議した。議論の詳細を添付資料5に示す。

薬剤耐性アシネトバクター感染症については、従来は定点把握となっていたが、報告数が少なく、実質的なサーベイランスとなっていなかったため、全数把握に変更することを提言した。

これらについては、厚生労働省健康局結核感染症課の審議会にて議論の後、H26年9月に感染症法に盛り込まれた。届け出基準に関するQ&A集を国立感染症研究所のホームページに掲載した。
(<http://www.niid.go.jp/niid/ja/id/495-source/drug-resistance/5011-carbapenem-qa2.html>、添付資料6)。

その他の院内感染事例の対策支援

国内の2つの医療機関から、院内感染疑い事例で分離された *Chromobacterium violaceum* の解析依頼があり、国立感染症研究所で同定、タイピングなどを行った。同定は生化学的性状の他16S rRNAの塩基配列の比較によった。PFGEによるタイピング方法を確立し、院内感染が確認された。JANISのデータを解析したところ、2012年には52施設から76分離例、2013年は51施設から82分離例があることが分かった。これらは実際に感染症を発症した例かどうかは不明だが、分離は北海道から鹿児島まで全国的に分布しており、地域的な偏りはなかった。いずれも血液検体からの分離例なく、多くが呼吸器検体だった。この結果の詳細は、添付資料7に示す。

東京都内の医療機関において、10名以上の患者の血液から *Bacillus cereus* が分離され、院内感染が疑われたため国立感染症研究所細菌第二部に解析依頼があった。患者由来株とタオルや環境からの分離株など69株が送付された。PFGEによるタイピングを実施した。菌株がいくつかのグループに分かれることが分かった。疫学情報とあわせて、感染対策支援を行った。

アジア各国との連携体制構築

J-GRID 大阪大学タイ拠点との連携で、タイマヒドン大学ラマチボディ病院、ウドンタニ病院、ミャンマー保健省 Department of Medical Research と共同研究を行うこととなった。また、インドの Vellore の Christian Medical College & Hospital とも年度内に共同研究について協議を行う予定である。うち、ラマチボディ病院からはカルバペネム耐性 *Klebsiella pneumoniae* 6株が送付されてきた。これらは、すべてNDM型カルバペネム耐性遺伝子を持っていた。現在、Illumina社とPacific Biosciences社の次世代シーケンサーによるゲノム解析とプラスミド解析を行っている。解析の結果、特に注意を要する新規の耐性菌であることが明らかになれば、検査法の開発を進める予定である。神戸大学のインドネシア拠点との共同研究ではスラバヤのイルランガ大学熱帯病研究所、ストモ病院にJANISの導入を始めた。海外機関から自動検査機器のデータを送信するにあたり、プログラム上の問題点を明らかにできたので、今後本格稼働にむけて改良を行う予定である。また、多くの途上国の医療機関では、院内での薬剤耐性菌の分離状況の集計に、WHOが開発したツールWHONETを利用している。WHONETは、各医療機関の情報を集計するためのツールである。一方、JANISは多くの医療機関の薬剤耐性菌の情報を集計し、地域や国レベルのデータを取得するためのデータベースである。WHOのWHONETの開発者と協議を行い、現在WHONETのデータをJANISにエクスポートする機能を作成してもらうことになった。

WHOの仲介では、カンボジア厚生省の Department of Hospital Services と Department of Communicable Disease Control を訪問し、共同研究について協議した。先方は薬剤耐性菌の研究について日本との連携を強く要望していたため、共同研究を開始することで合意し、今後具体的な内容を検討することとした。

これまで感染研が他プロジェクトで共同研究を行っていた台湾CDCについては、今年度は台湾CDCの研究者にこちらの解析の

流れを体験してもらった。来年度以降の共同研究の継続について引き続き協議を行う予定である。また、ベトナム National Institute of Hygiene and Epidemiology とも、引き続き共同研究について協議を行う予定である。

なお、アジア各国からの菌株収集は来年度以降、「薬剤耐性菌サーベイランスとゲノムデータの集約・解析に関する研究班（黒田班）」と共同で実施されることになったので、成果の詳細についてはそちらの報告書に記載した。来年度以降、海外からも本格的に菌株を収集する予定である。来年度以降海外からも本格的に菌株を収集する予定である。

研究分担者の研究結果の概要を以下に記す。詳細は各研究者の報告書にあるので省略する。

荒川

腸内細菌科細菌から新規アミノグリコシド耐性遺伝子 *aac(6')-lan* を見出した。ホスホマイシン耐性菌を簡便に検出するディスク法を開発した。アシネトバクターの流行クローンを簡便に鑑別する POT 法を開発した。フルオロキノロン耐性遺伝子 *qnrA* は、MIC を超える濃度のシプロフロキサシン存在下でもある程度菌の生存を延長させ、菌の拡散、蔓延の一因となっていることが分かった。鶏肉から基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌の検出と耐性遺伝子の同定を行ったところ、CTX-M2 型が最も多かった。一方、人由来株では CTX-M9 型が最も多い。このことから ESBL 産生菌の伝播経路としては、鶏肉から人へは否定的と考えられた。

飯沼

次世代シーケンサーを利用したメチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (MRSA) の分子疫学解析の可能性を検討した。一塩基多型 (SNP) による系統樹解析によって、集団感染株を識別可能であることが示された。

大西

淋菌の薬剤感受性試験で、チョコレート寒天培地を用いた試験法の妥当性を確認し

た。チョコレート寒天培地をもちいた Etest は利用可能性があるが、チョコレート寒天培地を用いたディスク法では GC agar + IsovitaleX を用いたデータの互換性がないことが示された。チョコレート寒天培地を用いたディスク法を準用する際には適切な基準の設定が不可欠である。

北島

新生児病院感染症の登録システムの開発とその普及を目指した。NHSN に準拠した NICU における新しい感染症診断基準作成し、次いで感染症入力シートの普及を目指した。

切替

これまでに開発した多剤耐性緑膿菌の AAC(6')-Ib、AAC(6')-Iae および IMP-type メタロ- β -ラクタマーゼ産生多剤耐性緑膿菌の迅速診断イムクロマトキットを用いて、国内分離株を調べた。AAC(6')-Ib の増加とメロペネムにより耐性を示す IMP 亜型の出現が明らかとなった。

黒崎

メタロ- β -ラクタマーゼ (IMP-1) の 120 位のアスパラギン酸をグルタミン酸に置換した変異体 (D120E) の citrate 複合体の結晶化を行い、X線結晶構造解析 (1.9Å の分解能) によって立体構造を決定した。構造解析の結果、クエン酸のような polycarboxylate 化合物は全てのメタロ- β -ラクタマーゼに有効な阻害剤のリード化合物になり得ると考えられた。

佐多

アシネトバクターの流行クローン (IC II) のゲノム解析を行った。SNP 系統樹解析から、IC II の中でも多剤耐性株は、他の *A. baumannii* IC II クラスタに属する株と異なる起源と感染疫学を持つと考えられた。

鈴木

JANIS 検査部門では、平均在院日数と病床規模によって分母となる 100 床あたりの検体提出患者数が有意に異なっていることがわかった。特に平均在院日数が病床規模よりも分母に与える影響が大きく、医療機関特性別集計を実施する際には平均在院日数を収集することが必要不可欠と考えられ

た。
舘田

カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌 (CPE) の効率的な検出法について検討した。まずラタモキセフ (LMOX) で確認を行い、非感性を示す菌株に対して、市販キットのカルバペネマーゼ産生確認試験を行うことで、効率良く CPE の検出が出来ることがわかった。

富田

フランス臨床株と遺伝子型が類似する VanN 型 VRE 株が国内産鶏肉にも存在することを明らかにした。臨床分離 MRSA 株のバンコマイシン等各種抗 MRSA 薬に対する感受性試験では感受性に大きな変動は見られず、これまでと同等の治療効果が期待できることが示された。

長沢

JANIS データからの CRE の検出状況について検討した。CRE の検出率は 0.3~9.4% であったが、判定方法が MEPM と IPM+CMZ では検出率に差があり、特に *E. cloacae* では 1.8%、9.4% と大きく乖離した結果となった。また、測定機種によっても大きく乖離していることなどから、CRE 判定における薬剤感受性検査結果のみの限界、機種間差、そして判定基準の見直しが必要と考えられた。

藤本

感染対策の電子化による高精度化、高効率化を目的として、耐性菌条件・警告・案内の定義の標準化、アルゴリズムの開発、およびそれらの実用システムへの実装、改良および普及を行った。

松本

結核菌の Small genomic island pattern (SGIP) によるタイピング法を開発した。SGIP ではスポリゴタイピングとほぼ同程度の解像度が得られ、特に北京株と T3-0saka 株の検出に有用であった。

山根

JANIS の全入院患者部門と手術部位感染部門の精度管理を目的に、参加機関のサーベイランスの実施体制とデータ精度を調査する質問票を作成した。さらに感染管理認

定看護師がこの質問票を用いて実際に訪問調査を実施できる体制を構築した。

山本

肺炎球菌のテリスロマイシン耐性が、従来よく知られた外来性メチル化酵素 ErmB による 23S rRNA の修飾に加えて、内因性メチル化酵素 RlmA^{II} と RlmCD の欠損により起こることを新たに発見した。

D. 考察

日本は、海外の多くの国と比較すると院内感染の原因となる細菌については薬剤耐性が比較的少ない。しかしながらこの研究班の研究の結果、国内でも一部の医療機関、地域でカルバペネム耐性腸内細菌科細菌によるアウトブレイクが起こっていることが明らかになった。このような例は今後もあると予想されるので、引き続き監視が必要である。今後も、感染対策上重要な耐性菌を特定し、臨床現場で実施可能な検査法を開発して、薬剤耐性菌の拡散をできる限り阻止していく必要がある。

大阪地区の病院のアウトブレイクは、プラスミドが異なる菌株間を伝播して耐性菌の拡散がおこったと考えられた。一般的には、院内感染は同一の菌が伝播することによっておこると認識されており、実際にこれまでの厚生労働省の課長通知 (H23 年医政局指導課) でも、アウトブレイクを疑う基準は同一菌種による症例の集積というのを念頭において規定されていた。今回の事例で、分離される菌種が異なっても、院内感染のことがあることが分かった。このようにプラスミドの伝播による院内感染が実際に臨床現場で起こっているのを明らかにしたのは、この研究が初めてである。

感染症法のカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症の届け出基準については、AmpC 型 βラクタマーゼを産生する *Enterobacter* 属菌を届け出対象に含めるかどうかについて当初から議論があった。現行の基準では含める形になっているが、今後このタイプの耐性菌について公衆衛生上、臨床上の重要性を検討し、必要なら届け出基準の改定を提言することが必要である。ラタモキセ

フでスクリーニングをかけると、効率良くこのタイプを除外できることがわかったが、ラタモキセフは医療機関で一般に薬剤感受性検査に用いられていないという問題がある。届け出基準は臨床現場の検査の実施状況を考慮しつつ、今後検討を続ける必要がある。

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌は、カルバペネム耐性遺伝子を持っていても、耐性が低いか感性的ことがある。これらは感染症法の届け出基準に該当しないものの、将来に菌体内で耐性遺伝子の発現量が増加したり、プラスミドの伝播により耐性遺伝子が他の菌株、菌種に拡散する可能性があるため、感染対策上は注意が必要である。臨床現場では、感染症法の届け出対象にならないければ、感染対策上も注意する必要はないと解釈される場合があるので、この点についても医療機関に引き続き注意喚起を行う必要がある。

国内における薬剤耐性菌感染症の発生動向については、今後も JANIS と感染症法で監視を継続し、増加が見られないかどうか注意する必要がある。研究班ではさらにサーベイランスを強化して新たなタイプや海外からの輸入について捕捉し、それらのゲノム解析や細菌学的、生化学的解析、また疫学的解析を行って性状を解明し、臨床的、公衆衛生上の重要性を明らかにして、特に注意を要するものについては注意喚起を行うとともに迅速検査法を開発するなどして、社会でできるだけ拡散しないようにしていく必要がある。今後も、院内感染に関する臨床の研究班、ゲノム解析に関する基礎の研究班、J-GRID、WHO などと連携し、グローバルな視点で薬剤耐性菌に関する研究を包括的に推進していく必要がある。また、臨床現場で薬剤耐性菌によるアウトブレイクが起こった場合、多くの医療機関ではかならずしも薬剤耐性菌の解析ができる専門家がいる訳ではないため、現場では医療機関だけで十分な対策ができない場合が多い。地域連携により協力関係にある大学や行政、または国立感染症研究所の支援が必須である。協力関係のあり方は各地域で様々で、

中核となる大学が地域の全ての医療機関を取りまとめている場合や、また各病院が個別に行政や大学等の研究機関と協力関係を持っているところもあるようである。地域の実情に合わせて、全ての医療機関で適切な院内感染対策が実施されるように支援する体制の整備が必要であろう。

E. 結論

腸内細菌科細菌や緑膿菌、アシネトバクターのカルバペネム耐性は、海外の多くの国と比較するとまだ少ない状況にある。しかし、海外で蔓延している耐性菌の流入や新型の耐性菌の出現が見られるので、監視を継続する必要がある。

特にカルバペネム耐性腸内細菌科細菌については、国内の複数の医療機関で大規模な院内感染を起こしていることが明らかになった。これらの事例において、我々は耐性遺伝子を持つプラスミドが菌種を超えて伝播し、院内感染を起こしていることを初めて明らかにした。この結果を、厚生労働省医政局地域医療計画課の審議会である院内感染対策中央会議(H26.8.27)で説明し、アウトブレイクを疑って感染対策を開始する基準を検討する基本情報とした。そして腸内細菌科細菌ではプラスミドの伝播によるアウトブレイクが起こることがあり、注意が必要であることについて、厚生労働省医政局地域医療計画課から事務連絡(H26年6月23日)及び課長通知(H26年12月19日)で注意喚起をして頂いた(添付資料8)。また、感染症法の改定にあたり、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症を新たに5類全数把握疾患に追加し、薬剤耐性アシネトバクター感染症を第5類定点把握から全数把握疾患に変更することを提言し、審議会での議論を経て盛り込まれた(H26年9月19日)。カルバペネム耐性腸内細菌科細菌については、全国地方衛生研究所協議会と連携し、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症に関する地方衛生研究所レファレンスセンターを立ち上げることにした。アジア各国との連携も進め、情報共有体制や共同研究体制の構築を行った。

F. 健康危険情報

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌においては、異なる菌種間でプラスミドの伝播が起こって院内感染を起こすことがあるので、注意が必要である。

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 鈴木里和、松井真理、鈴木仁人、柴山恵吾 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、Vol. 35 p. 287-288: 2014年12月号
- 2) 安部朋子ら、プラスミド水平伝達が関与した院内感染事例、IASR Vol. 35 p. 289-290: 2014年12月号
- 3) 山岸拓也ら、＜速報＞大阪市内大規模病院におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の長期間にわたる院内伝播、IASR Vol. 35 p. 290-291: 2014年12月号
- 4) 柴山恵吾他、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症、IASR Vol. 35 p. 281-282: 2014年12月号
- 5) 松井真理他、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌の検査、IASR Vol. 35 p. 285-287: 2014年12月号
- 6) 鈴木里和他、感染症法に基づくカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症の届出状況、IASR Vol. 35 p. 288-289: 2014年12月号
- 7) 松井真理他、わが国で分離されるアシネトバクター属菌の分子疫学解析、IASR、Vol. 35 p. 291-293: 2014年12月号
- 8) Matsui M, Suzuki S, Yamane K, Suzuki M, Konda T, Arakawa Y, Shibayama K. Distribution of carbapenem resistance determinants among epidemic and non-epidemic types of *Acinetobacter* species in Japan. J Med Microbiol. 2014 Mar; 63:870-7.
- 9) First report of metallo- β -lactamase NDM-5 producing *Escherichia coli* in Japan. Nakano, R., Nakano, A., Hikosaka, K., Kawakami, S., Matsunaga, N., Asahara, M., Ishigaki, S., Furukawa, T., Suzuki, M., Shibayama, K., and Ono, Y. Antimicrob Agents Chemother. 2014. 58(12):

7611-7612.

- 10) An emergence of third-generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae at a Japanese critical care setting. Hagiya, H., Murase, T., Suzuki, M., Otsuka, F., and Shibayama, K. Acute Med Surg. 2014. 1(4): 256-258.
- 11) A subclass B3 metallo- β -lactamase found in *Pseudomonas alcaligenes*. Suzuki, M., Suzuki, S., Matsui, M., Hiraki, Y., Kawano, F., and Shibayama, K. J Antimicrob Chemother. 2014. 69(5): 1430-1432.
- 12) *Chromobacterium violaceum* nosocomial pneumonia in two Japanese patients at an intensive care unit. Hagiya, H., Murase, T., Suzuki, M., Shibayama, K., Kokumai, Y., Watanabe, N., Maki, M., and Otsuka, F. J Infect Chemother. 2014. 20(2): 139-142.
- 13) Trespalacios AA, Rimbara E, Otero W, Reddy R, Graham DY. Improved allele-specific PCR assays for detection of clarithromycin and fluoroquinolone resistant of *Helicobacter pylori* in gastric biopsies: identification of N87I mutation in GyrA. Diagn Microbiol Infect Dis. 2014 Dec 15.
- 14) Mori, S., H. Kim, E. Rimbara, Y, Arakawa, and K. Shibayama. 2014. Roles of Ala-149 in the catalytic activity of diadenosine tetraphosphate phosphorylase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv. Biosci. Biotechnol. Biochem., in press.
- 15) Kim, H., K. Shibayama, E. Rimbara, and S. Mori. 2014. Biochemical characterization of quinolinic acid phosphoribosyltransferase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv and inhibition of its activity by pyrazinamide. PLoS One, 9(6):e100062.
- 16) Asai S, Umezawa K, Iwashita H, Ohshima T, Ohashi M, Sasaki M, Hayashi H, Matsui M, Shibayama K, Inokuchi S,

Miyachi H. An outbreak of *bla*OXA-51-like- and *bla*OXA-66-positive *Acinetobacter baumannii* ST208 in the emergency intensive care unit. *J Med Microbiol.* 2014 Nov;63(Pt 11):1517-23.

17) Wachino J, Matsui M, Tran HH, Suzuki M, Suzuki S, Shibayama K. Evaluation of a double-disk synergy test with a common metallo- β -lactamase inhibitor, mercaptoacetate, for detecting NDM-1-producing Enterobacteriaceae and *Acinetobacter baumannii*. *Jpn J Infect Dis.* 2014;67(1):66-8.

2. 学会発表

- 1) Matsui M, Suzuki S, Suzuki M, Shibayama K. Molecular epidemiology of *Acinetobacter* spp. and distribution of *Acinetobacter baumannii* international clone II in Japan. 54th Interscience Conference of Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC). Sept. 5-9, 2014. Washington DC.
- 2) 松井 真理、鈴木 里和、鈴木 匡弘、綿引 正則、平木 洋一、河野 文夫、柴山 恵吾. 我が国で分離されるアシネトバクター属菌の分子疫学解析 第 63 回日本感染症学会東日本地方総会学術集会 2014 年 10 月 29 日-31 日、東京ドームホテル、東京
- 3) 松井 真理、鈴木 里和、鈴木 仁人、鈴木 匡弘、八柳 潤、綿引 正則、平木 洋一、河野 文夫、柴山 恵吾. 国内 78 医療機関で分離されたアシネトバクター属菌の分子疫学解析 第 26 回日本臨床微生物学会総会・学術集会 2015 年 1 月 31 日-2 月 1 日、京王プラザホテル、東京
- 4) 松井 真理、鈴木 里和、関塚 剛史、山下 明史、鈴木 仁人、黒田 誠、柴山 恵吾 IMP-1 メタロ- β -ラクタマーゼ保有プラスミドの全塩基配列解読で判明した多菌種の腸内細菌科細菌の院内感染 第 88 回日本細菌学会総会、2015 年 3 月 26-28 日、長良川国際会議場、岐阜
- 5) 鈴木 仁人、松井 真理、鈴木 里和、関塚 剛史、黒田 誠、柴山 恵吾 「VI 型分泌エフェクター・免疫蛋白質の進化と多様性」第 88 回日本細菌学会総会、長良川国際会

議場 (岐阜県岐阜市), 2015 年 3 月 26 日-28 日

- 6) 鈴木 仁人 「病原細菌における細菌間競争と進化」感染症国際研究センター・全国共同利用共同研究拠点ジョイントシンポジウム, 東京大学医科学研究所 (東京都港区), 2015 年 2 月 18 日
- 7) 鈴木 仁人, 福井 康雄, 梅田 豊, 林 寿朗, 松井 真理, 鈴木 里和, 柴山 恵吾 「ダプトマイシン非感性 MRSA 株のゲノム解析」第 43 回薬剤耐性菌研究会, 加賀観光ホテル (石川県加賀市), 2014 年 10 月 31 日-11 月 1 日
- 8) Suzuki, M. Genomic epidemiology of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates in Japan. The 11th Taiwan-Japan Symposium: New Technologies Applied to Public Health Including Foodborne Diseases and Drug Resistance, Centers for Disease Control, ROC (Taipei, Taiwan), 2014 年 9 月 11 日-12 日
- 9) Suzuki, M., Suzuki, S., Matsui, M., Hiraki, Y., Kawano, F., and Shibayama, K. A subclass B3 metallo- β -lactamase found in *Pseudomonas alcaligenes*. European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID) 2014, Centre de Convencions Internacional de Barcelona (Barcelona, Spain), 2014 年 5 月 10 日-13 日
- 10) Kim, H., S. Mori, E. Rimbara, and K. Shibayama. Enzymatic activity of quinolinic acid phosphoribosyltransferase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv and inhibition of its activity by pyrazinamide. 14th International Union of Microbiological Societies Congresses (IUMS). 28 July-1 August, 2014, Montreal, Canada.
- 11) Mori, S., H. Kim, E. Rimbara, Y. Arakawa, and K. Shibayama. Molecular characterization of nicotinate phosphoribosyltransferase from *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, and inhibition of its activity by pyrazinoic acid. FEBS-EMBO 2014. 30 August-4 September, 2014, Paris, France.
- 12) 金 玄, 森茂太郎, 林原恵美子, 柴山恵

吾. Characterization of QAPRTase from *M. tuberculosis* H37Rv and inhibition of its activity by pyrazinamide. 第 86 回日本ハンセン病学会総会・学術大会、9 月 29 日-30 日、2014 年、埼玉。

13) 林原 絵美子, 森 茂太郎, 金 玄, 柴山 恵吾. セフトリアキソン耐性 *Helicobacter cinaedi* におけるペニシリン結合タンパク質変異. 第 88 回日本細菌学会総会、2015 年 3 月、岐阜

14) Shibayama K. Japan Nosocomial Infections Surveillance: A Nationwide Surveillance of Antimicrobial Resistance. 第 17 回韓国臨床微生物学会総会、6 月 19-20 日、2014 年、韓国南原。

15) 柴山恵吾、カルバペネム耐性グラム陰

性菌、第 30 回日本環境感染学会総会・学術集会、2 月 20-21 日、2015 年、神戸

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

「抗菌剤、殺菌剤、抗菌材料、殺菌材料、抗菌方法及び殺菌方法」、特願 2014-151608、2014 年 7 月 25 日出願、鈴木 仁人、松井 真理、鈴木 里和、柴山 恵吾、一久 和弘、成瀬 秀則、井本 裕頭、伊藤 淳史、下川 努

2. 実用新案登録 なし

3. その他 なし

添付資料 1

アシネトバクターの分子疫学に関する研究

研究協力者：松井 真理（国立感染症研究所 細菌第二部）

A. 研究目的

アシネトバクター属菌の多剤耐性化や院内感染は *Acinetobacter baumannii* 流行株（International clone II；以下 IC II）と呼ばれる遺伝子型との関連が示唆されている。我が国の IC II の分離状況と分離医療機関の施設特性を調べた。

B. 研究方法

国立病院機構 78 施設で平成 24 年 10 月～翌年 3 月に分離されたアシネトバクター属菌 866 株を対象とし、菌種同定は *rpoB* シークエンス、IC II の判定は *bla*_{OXA-51-like} SNP 解析で実施した。IC II 分離の有無で施設特性を比較した。

倫理面への配慮

アシネトバクター属菌の菌株収集は、国立感染症研究所の医学倫理審査委員会の承認を受けて実施した。

C. 研究結果

866 株のうち 645 株（74%）が *A. baumannii* と同定され、うち 245 株（28%）が IC II であった。IC II は非 IC II に比べて多剤耐性傾向がみられたが、カルバペネム耐性率は 3.7% と低かった。78 施設のうち IC II が分離されたのは 36 施設（46%）で、明らかな地域的偏りは認めなかった。施設特性情報が得られた 57 施設のうちでは IC II 分離施設が 28 施設（59%）で、IC II 分離施設は非分離施設に比べ平均在院日数が長く、病床数が少なかった（平均在院日数 94.9 日 vs 17.9 日, $p < 0.01$; 病床数 345.0 床 vs 417.7 床, $p = 0.046$ ）。

D. 考察

A. baumannii IC II は、協力医療機関の 46% を占める 36 施設で分離された。ほとんどの IC II はカルバペネム感性であったが、非 IC II に比べて多くの薬剤に耐性であり、今後の耐性化が懸念される。引き続き、監視が必要と考えられた。

E. 結論

A. baumannii IC II は、長期療養型医療機関も含め既に多くの医療機関に広まっている可能性が示唆された。

添付資料 2

薬剤耐性菌のハイスループットなゲノム解析体制の構築

研究協力者：鈴木仁人（国立感染症研究所 細菌第二部）

<目的>

多剤耐性グラム陰性菌感染症には有効な治療薬が極めて少ない。薬剤耐性菌の詳細な耐性

機構や拡散機構を明らかにし、新たな検査薬や治療薬の開発を行うための分子基盤を確立する。

<方法>

世界の公衆衛生上の問題となっている薬剤耐性の腸内細菌科細菌、シュードモナス属菌、アシネトバクター属菌の臨床分離株のゲノム解析を行い、薬剤耐性流行株が有する耐性遺伝子を含む遺伝的特徴を精査する。

<倫理面への配慮>

細菌の臨床分離株のみを使用し、患者由来の検体や患者が特定可能となるような個人情報 は用いない。

<結果>

MALDI-TOF 質量分析計を用いた微生物同定機 (Bruker 社 MALDI バイオタイパー) にて、国内機関や大阪大学の日本・タイ感染症共同研究センターなどの海外機関からの感染研に 分与された菌株の菌種同定と型別解析を行い、Illumina 社やPacific Biosciences 社の次世代シーケンサーを用いたゲノム解析を行った。その結果、エンテロバクター属菌やラ ストニア属菌で新たなカルバペネム耐性遺伝子 (それぞれGES-24, OXA-444) を同定した。 また、海外機関から生菌を収集することが難しい場合に備え、エタノールで死滅させた菌 体を用いて MALDI バイオタイパーによる菌種同定を行い、次世代シーケンサーを用いた ゲノム解析を行うための方法を確立した。

<考察>

世界で公衆衛生上問題となっている薬剤耐性菌には、カルバペネム耐性の腸内細菌科細菌、 アシネトバクター属菌、緑膿菌などが含まれ、菌種に応じた耐性機構を考慮する必要があ る。国内外で収集した菌株を、MALDI バイオタイパーを用いて菌種同定と型別解析を行う ことで、適切な PCR 法やディスク法などの検査や、次世代シーケンサーを用いた詳細な ゲノム解析を効率的かつ迅速に行うことが可能になると考えられる。

<結論>

MALDI-TOF 質量分析計を用いた微生物同定機による菌種同定と型別解析は、その後の耐性 菌の諸検査やゲノム解析の必要性の決定に非常に有用で、今後、多数の国内外の臨床分離 株を扱う際には極めて重要である。

添付資料 3

ピロリ菌以外の *Helicobacter* 属菌の薬剤耐性

研究協力者：林原絵美子 (国立感染症研究所 細菌第二部)

目的

Helicobacter cinaedi および *Helicobacter fennelliae* は近年菌血症の原因菌として分離される 事例が増えている。一方、これらの *Helicobacter* 属菌の薬剤感受性に関する情報はほとんど

ど報告されていない。そこで薬剤感受性を調査し、薬剤耐性機構についても解析を行った。

方法

薬剤感受性は寒天平板希釈法により測定した。また *gyrA*, *gyrB* 遺伝子, 23S rRNA の DNA シーケンスを行い、標準株（感受性株）と比較した。

倫理面への配慮

Helicobacter 属菌の収集に際しては、感染研の倫理委員会に申請し、承認を得た上で進めた。

結果

H. cinaedi 46株と *H. fennelliae* 3株を解析した結果、全てシプロフロキサシンとクラリスロマイシンに耐性であった。GyrAおよびGyrBを解析した結果、*H. cinaedi*株はGyrAのQuinolone Resistance-Determining Region (QRDR) 内の84位に、*H. fennelliae*株はQRDR内の86位に変異を持っていた。さらに一部の高度耐性*H. cinaedi*株はGyrBの423位にも変異を持っていた。一方、23S rRNAを解析した結果、*H. cinaedi*株は2018位に変異を持っており、これは*H. pylori*においてクラリスロマイシン耐性に寄与する部位と同じであった。*H. fennelliae*はこの部位に相当する2327位に変異を持たず、2879位に変異を持っており、この部位は*H. pylori*においてクラリスロマイシン低度耐性に寄与することが報告されている部位であった。

考察

本研究で用いた *H. cinaedi* および *H. fennelliae* のシプロフロキサシン耐性およびクラリスロマイシン耐性には GyrA および 23S rRNA の変異が寄与していると考えられた。

結論

H. cinaedi および *H. fennelliae* のシプロフロキサシンおよびクラリスロマイシン耐性機構を明らかにした。

厚労省に上げるべき健康危機情報

日本で分離される *H. cinaedi* および *H. fennelliae* はシプロフロキサシンおよびクラリスロマイシン耐性である可能性が高いことから、抗菌薬選択の際は注意が必要である。

添付資料 4

結核菌の薬剤耐性

研究協力者：森茂太郎、金玄（国立感染症研究所 細菌第二部）

目的

新規抗結核薬の標的である結核菌由来キノリン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼとニコチン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼの両方の酵素活性を阻害することが予想される化合物を *in silico* スクリーニングによって選択し、その阻害活性を明らかにすることを目的とした。

方法

結核菌由来キノリン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼとニコチン酸ホスホリボシルトランスフェラーゼの基質結合部位の立体構造情報に基づいて約 650 万種類の化合物の中から、新規阻害剤の候補化合物を選び、その阻害活性を測定した。

結果

約 650 万種類の化合物の中から新規阻害剤の候補として 64 種類の化合物を選択した。実