

厚生労働行政推進調査事業費補助金  
(新興・再興感染症及び予防接種政策推進研究事業)  
分担研究報告書

ESBL 産生大腸菌の動向把握と薬剤耐性因子の伝播機序の解明 (分担課題名)

研究分担者 松尾美樹

研究要旨

マレーシア、インドネシア、ベトナム3カ国との業務委託契約を完結し、耐性菌サーベイランスシステムの構築と耐性菌採取ならびに輸送に係る支援を行った。広島県のデイケア通所患者・在宅介護患者に口腔から耐性菌を分離し、分離状況やゲノム解析、消毒剤感受性検証を行った。

A. 研究目的：

1) アジア各国のサーベイランスシステムの構築を支援するために、WHO/OIE/FAO が推進する三輪車サーベイランス (基質特異性拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼ (ESBL) 産生大腸菌に関するヒト、動物、環境における調査) の実施を希望する国と協力し、サーベイランス体制構築のための技術支援を行うとともに、各国で得られたサーベイランスデータを効率的に集計してレポートを作成し、WHO の求める集計データを作成可能な環境を構築する。各国で分離した薬剤耐性菌株を収集・保存をし、ゲノム解析を行い、薬剤耐性菌の分離状況やゲノム情報等を各国の担当者と共有することで、サーベイランスシステムの構築・強化を図る。

2) 日本国内での薬剤耐性菌サーベイランスシステムである JANIS システムでカバーできない在宅歯科医療利用者やデイケア通所者の薬剤耐性菌情報を明らかにすることで、国内の薬剤耐性菌情報をより詳細にすることで、AMR 対策の向上を図る。さらに海外耐性菌との性状比較を行うことにより、耐性菌の世界的な動向を把握する。

B. 研究方法：

1) アジア 3 各国との共同研究に基づく耐性菌の分離

NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH),  
MINISTRY OF HEALTH MALAYSIA (マレーシ

ア)、Cho Ray Hospital (ベトナム)、Airlangga 大学および Mataram 大学 (インドネシア) との共同研究を国立感染症研究所薬剤耐性研究センターと共に行うための、共同研究契約や資金の支援を行う。

2) デイケア、在宅介護患者口腔からの耐性菌分離と性状解析

4 施設 (内 3 施設はデイケア、1 施設は在宅介護) の患者の口腔から、種々の選択培地を用いて分離した。MALDI TOF-MS で菌種を同定した。NGS 解析を行い、耐性遺伝子の保有状況を検証した。口腔領域で用いられる消毒剤に対する感受性を検証した。

(倫理面への配慮)

本研究は広島大学疫学研究倫理審査委員会承認済みである (E2022-0092)

C. 研究結果：

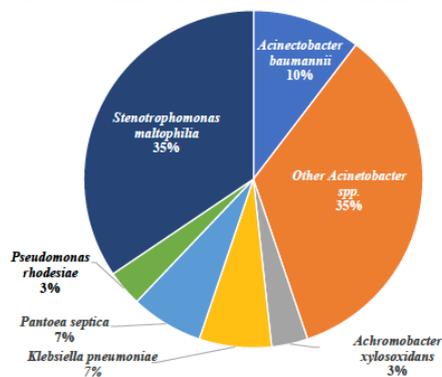
1) アジア 3 各国との共同研究に基づく耐性菌の分離

提携を結んだアジア 3 各国においては、AMR サーベイランスの構築や AMR に関するネットワークの構築のための資金の支援を行った。また、インドネシア、マレーシア、ベトナムから輸送されたサンプルについては、耐性菌株分離ならびに NGS 解析が終了した時点で広島大学に順次輸送するための契約の準備を行なった。

## 2) 国内施設耐性菌の同定ならびに性状解析

4施設（内3施設はデイケア、1施設は在宅介護）から計101検体を採取した。種々の選択培地を用いて検証した結果、101名から第三世代セファロスポリン/カルバペネム耐性菌を20名（19.8%）33株分離した。33株について、TOF/MS解析ならびにゲノム解析により、コンタミネーション等を除き29株の菌種が同定された。*Acinetobacter*属菌が13株、*Stenotrophomonas maltophilia* 10株、*Klebsiella pneumoniae* 2株、*Pantoea septic* 2株、*Pseudomonas*属菌1株、*Achromobacter*属菌1株であった（図）。

図. 在宅医療と介護施設から分離されたグラム陰性抗生物質耐性菌の分布



遺伝子の保有状況を検証した結果、表に示す通りであり、そのうちESBL遺伝子保有株は2株であり、*bla*<sub>CTX-M-1</sub>単独保有株、*bla*<sub>CTX-M-15</sub>と*bla*<sub>OXA-1</sub>複数遺伝子保有株を認めた。

表. 薬物耐性グラム陰性細菌におけるβ-ラクタマーゼ保有状況

菌名	菌株名	Beta-lactamase		
		ESBL産生遺伝子		CPE
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	<i>bla</i> <sub>SHV-11</sub> *	<i>bla</i> <sub>CTX-M15</sub> , <i>bla</i> <sub>TEM-1B</sub> , <i>bla</i> <sub>OXA-1</sub>	-
	2	<i>bla</i> <sub>SHV-11</sub> *	<i>bla</i> <sub>CTX-M15</sub> , <i>bla</i> <sub>TEM-1B</sub>	-
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	1	<i>bla</i> <sub>OXA114g</sub>	-	-
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1-3	<i>bla</i> <sub>ADC25</sub>	-	<i>bla</i> <sub>OXA-98</sub>
<i>Acinetobacter seifertii</i>	1	<i>bla</i> <sub>ADC25</sub>	-	-
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1-10	-	-	<i>bla</i> <sub>L1</sub>

黄色ブドウ球菌は101名から32名（31.7%）分離され、その中でメチシリン耐性黄色ブドウ球菌（MRSA）は10名（9.9%）から分離された。

分離した耐性菌株のうち、第三世代セファロスポリン/カルバペネム耐性菌を用いて、消毒剤感受性の検証を行った結果、ポビドンヨードや塩酸アミノグアニジン、塩化ベンザルコニウムでは菌種間の感受性に大きな差異を認めなかったが、塩化

セチルピリジニウム（CPC）に対する感受性は、菌種間で異なる傾向を認め、*Achromobacter*属や*Pseudomonas*属ではCPC感受性が低い傾向を認めた。

## D. 考察

本年度はアジア3カ国への業務委託契約を完結し、耐性菌サーベイランスシステムの構築と耐性菌採取ならびに輸送に係る支援を行ったが、当該国でのシステム構築のための整備はまだ準備段階である。そのため次年度以降は日本とアジア3カ国の実地責任者間でプロトコルの確立と新党に向け、よりスムーズな耐性菌サーベイランスシステムの確立が必要になる。

また海外業務提携国からの菌株は感染研への輸送が始まっており、NGS解析、菌株同定が終了した段階で広島大学へ移送する。これらの耐性菌は、国内耐性菌との性状解析の比較を行うことから現在広島大学で分離した耐性菌の性状解析を行っており、消毒剤感受性においてはCPCで顕著な菌種間の感受性の相違を認めており、この現象が国内特有であるのかどうかを含め、検討が必要である。

## E. 結論

アジア3カ国の大学と国立感染症研究所と共に共同研究契約を結んだ。海外と日本との比較検討を行うため、今年度は国内分離株としてデイケアや在宅介護患者の口腔から分離した耐性菌の耐性遺伝子の保有状況や消毒剤感受性検証を行い、CPCに対する感受性の多様性を認めた。今後は海外分離耐性菌の消毒剤感受性を検証することで、アジアにおける消毒剤感受性を比較する。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

なし

2. 学会発表

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況  
(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし