

主論文の要旨

**Long-term Colonization of *bla*_{CTX-M}-Harboring
Escherichia coli Found in Ordinary Japanese People
Engaged in Food Handling in Community**

〔 日本人の食品取扱従事者における *bla*_{CTX-M} 遺伝子を保有する
大腸菌の腸管内長期保菌 〕

名古屋大学大学院医学系研究科 分子総合医学専攻
微生物・免疫学講座 分子病原細菌学分野

(指導：荒川 宜親 教授)

中根 邦彦

【緒言】

基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ（ESBL）産生菌は、第三世代セファロスポリン系薬やモノバクタム系薬に耐性を示す。近年、ESBL産生菌が入院患者のみならず、健常人から分離される事も多く、特にフルオロキノロン系薬耐性のCTX-M-15産生大腸菌O25b-ST131クローン株の世界的な広がりが、尿路感染症や血流感染などの市中感染症原因菌として公衆衛生上問題視されている。さらに諸外国においては、ESBL産生菌の腸管内への継続的な定着保菌が報告されている。しかしながら、市中における日本人の腸管内でのESBL産生株の定着の実態については不明な点が多い。そこで本研究では、食品を扱う一般人を対象にESBL産生株の保有状況や保菌期間の調査、および分離株の分子疫学的解析を行った。

【対象及び方法】

本学の「疫学研究倫理審査委員会」での審査と承認を得た後、岡崎市保健所において2010年1月から2011年12月までに調査に同意が得られた2,563名（男性：1,050名／女性：1,513名）の食品取り扱い従事者から提出された4,314件の便を対象とした。なお、2,563名中2,230名は調査期間中1回のみ検査され、残りの333名は2回～18回検査された（Supplementary Figure S1）。ESBL産生株の検出方法は、cefotaxime 1μg/mL 添加マッコンキー寒天培地に便を直接塗抹し、発育した菌株に対しdouble disk synergy testを実施後、ESBLの産生性が疑われた菌株については、菌種同定、血清型別、ESBL関連遺伝子、薬剤感受性試験（14薬剤）およびパルスフィールドゲル電気泳動（PFGE）を、さらに長期保菌株については、multilocus sequence typing（MLST）および耐性遺伝子を担うプラスミドのレプリコンタイプを解析した。

【結果】

単回検査者2,230名中70名（3.1%）及び複数回検査者333名中52名（15.6%）から、ESBLを産生する*Escherichia coli*が145株、*Klebsiella pneumoniae*が3株、*Aeromonas hydrophila*が1株分離された（Supplementary Figure S1 and Table 1）。145株のESBL産生大腸菌のうち、138株はCTX-M遺伝子を保有していた（Table 2）。遺伝子型の内訳は、CTX-M-14（43.5%）が主で、次いでCTX-M-15（17.9%）、CTX-M-27（13.1%）、CTX-M-2（13.1%）であり、O血清型はO25（27株）、次いでO1（11株）、O153（8株）であった（Table 2）。薬剤感受性試験では、ほとんどのESBL産生大腸菌がcefmetazole, flomoxef, imipenem, amikacin, fosfomycinに感受性である一方で、aztreonam, minocycline, ciprofloxacin, levofloxacinに耐性傾向を示した（Table 3）。さらに、CTX-M-27遺伝子を持つ血清型O25b株に対しては、他の株に比較して有意にciprofloxacin及びlevofloxacinのMICが高く（Supplementary Figure S2）、CTX-M-15遺伝子保有株に対しては他のCTX-M遺伝子グループ保有株に比較し有意にaztreonam及びceftazidimeのMICが高かった（Supplementary Figure S3）。

PFGE 解析の結果、血清型 O25b:H4-ST131 株グループはクラスターを形成したが、血清型 O1 株は複数のクラスターに分散した (Figure 1)。

複数回検査者の ESBL 産生菌陽性者 52 名中 13 名において、同一タイプの ESBL 産生大腸菌の継続検出が確認され、3 カ月から最長 2 年以上の保菌が確認された (Table 4, Supplementary Table S1, and Supplementary Figure S1)。これら長期保菌株は主に O25b:H4-ST131 (4/13 株) と O1:H6-ST648 (3/13 株) であり、他に O 血清型では O15, O74, O78 が検出され、MLST では ST354, ST38, ST23, ST3407 が検出された (Figure 2)。遺伝子型は主に CTX-M-Gp.9 (CTX-M-14, -27) (10/13 株) であり、薬剤感受性試験では 13 株中 11 株がフルオロキノロン系薬剤耐性であった。また、血清型 O25b:H4-ST131 株が保有する伝達性プラスミドのレプリコンタイプは IncF か IncFIB であった。

【考察】

今回の研究において、単回検査者 2,230 名中 70 名 (3.1%) から ESBL 産生株が検出されたが、これは日本における他の調査 (6.4%) とほぼ同程度の検出率と考えられる。一方、複数回検査者 333 名中 52 名 (15.6%) から ESBL 産生株が検出され、この値は単回検査者 (2,230 名) の検出率 (3.1%) より高かったが、この値は、市中で生活する日本人腸管内における ESBL 産生菌保有の実態をより正確に反映していると考えられる。

ESBL 産生菌保菌者における長期保菌の割合は 25% (13/52) であり、諸外国の報告とほぼ同程度であった。今回の研究は被験者数が 2,500 名以上の前例のない調査であったことから、抗菌薬を投与されていない一般的日本人における ESBL 産生菌保有状況をより正確に示していると思われる。

O25 および O1 型の O 抗原株はヒト腸管内に保持されやすいと考えられているが、実際に O25 および O1 の占める割合が ESBL 産生菌全体における割合よりも長期保菌株においてより高かったことから (Table 5)、ヒト腸管内に定着しやすい遺伝型の大腸菌が ESBL の遺伝子を獲得することが、長期保菌の一要因となると考えられた。さらに大腸菌における ESBL 遺伝子の獲得後の安定化には、IncF グループのプラスミドも関与していると考えられた。

世界的に広がっている CTX-M-15 産生大腸菌 O25b:H4-ST131 はフルオロキノロン系薬に通常耐性である。今回検出された長期保菌株も 85% (11/13) がフルオロキノロン系薬に耐性であり、日本で臨床分離される大腸菌のそれよりも高い耐性率であった。また、特に CTX-M-27 産生大腸菌 O25b:H4-ST131 は 4 株全てフルオロキノロン系薬に耐性であったことから、今後、世界的蔓延の CTX-M-15 産生大腸菌 O25b:H4-ST131 と同様に、日本やアジアにおいて CTX-M-27 産生大腸菌 O25b:H4-ST131 の流行が予想される。

【結論】

市中で普通の生活を送っている日本人腸管内において、一定の割合で **ESBL** 産生大腸菌が長期に保菌されていることが明らかとなった。また、長期保菌株は主に血清タイプ **O1** および **O25** で多く、フルオロキノロン系薬耐性株の割合が高いことから、地域社会や臨床現場における **ESBL** 産生大腸菌保菌者の継続的な増加に伴い尿路感染症や菌血症などの市中感染症の治療における抗菌薬選択への影響が懸念される。