

令和 2 年 5 月 26 日現在

機関番号：20101

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H04664

研究課題名(和文) アジア・カリブ開発途上地域における新興薬剤耐性菌の蔓延実態解明と包括的分子疫学

研究課題名(英文) Analysis of present status and comprehensive molecular epidemiology of emerging drug-resistant bacteria in developing regions of Asia and Caribbean province

研究代表者

小林 宣道 (Kobayashi, Nobumichi)

札幌医科大学・医学部・教授

研究者番号：80186759

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：病原細菌に関する薬剤耐性の情報が少ないアジア、カリブ地域の3カ国(バングラデシュ、ミャンマー、キューバ)において、主要な感染症起因菌(大腸菌、肺炎桿菌、アシネトバクター、黄色ブドウ球菌、腸球菌)の各種薬剤への耐性率、薬剤耐性に関与する遺伝子および病原因子の分布率、薬剤耐性菌の遺伝子学的特徴を解析した。その結果、大腸菌等のグラム陰性桿菌においてラクタム耐性に関わる各種遺伝子が広く分布し、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌において高い病原性に関与する病原因子(PVL)が比較的高率に分布していることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

感染性微生物の薬剤耐性は世界的な公衆衛生上の重要課題のひとつである。開発途上国では、抗菌薬使用に関する規制が遅れているため薬剤耐性が急速に進行していると予想されるが、その実態は良くわかっていない。本研究ではバングラデシュ、ミャンマー、キューバにおける感染症の主要な原因菌において、世界的に増加が懸念される各種の薬剤耐性遺伝子や病原遺伝子が比較的高率に分布していることを明らかにした。本研究の成果は、開発途上国において薬剤耐性の実態とその対策の重要性を示す科学的根拠として用いられることが期待される。

研究成果の概要(英文)：In three countries in Asia and Caribbean regions (Bangladesh, Myanmar, and Cuba) where information on antimicrobial resistance (AMR) is insufficient, resistance rates to various antimicrobials, prevalence of genes associated with AMR and virulence, genetic characteristics of drug-resistant isolates were analyzed for major pathogenic bacterial species (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus*). As a result, it was revealed that various beta-lactamase genes have been widely distributed to Gram-negative rods represented by *E. coli*, and virulence factor PVL (Panton-Valentine leukocidin) associated with increased pathogenicity has been prevalent at relatively high rate among methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA).

研究分野：衛生学 微生物学

キーワード：薬剤耐性菌、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)、基質拡張型ベータラクタマーゼ(ESBL)、カルバペネマーゼ、バングラデシュ、ミャンマー、キューバ

1. 研究開始当初の背景

感染症の原因となる細菌の薬剤耐性 (AMR) は、現在公衆衛生上の最重要課題のひとつとされている。英国薬剤耐性に関するレビュー委員会 (オニール委員会) による予測では、対策がない場合、2050 年には AMR により世界で年間 1,000 万人が死亡し、癌による死亡数を上回ると警告している。世界保健機関 (WHO) は 2011 年に AMR の世界的な取り組みの必要性を訴え、2015 年総会では薬剤耐性に対するグローバルアクションプランを採択し、加盟各国には 2 年以内に独自の行動計画を策定するよう求めている。

このような AMR に対する世界的な動向に対し、先進諸国は比較的迅速な対応を見せているものの、開発途上国での対応、対策は遅々として進んでいない。多くの開発途上国では医療資源・医療従事者の不足などから、抗菌薬が市販されており、そのため医師の処方がないまま患者が自らの判断で抗菌薬を使用する不適切な状況が存在する。WHO では無処方での抗菌薬販売の規制の導入と強化を求めているが、旧来の状況は今なお続いている。開発途上国では 3 大感染症のほか、蚊媒介ウイルス性感染症などの新興感染症対策が優先され、AMR 対策は相対的に遅れをとっている。

近年注目されている薬剤耐性菌には、カルバペネマーゼを産生する腸内細菌科細菌、多剤耐性アシネトバクター、市中感染型メチシリン耐性黄色ブドウ球菌 (CA-MRSA) などがあり、これらは途上国・先進国を問わず拡がっていると考えられている。CA-MRSA はその薬剤耐性もさることながら、感染症の重症化に関与する毒素の産生が問題となっている。特に Panton-Valentine leukocidin (PVL) は皮膚・軟部組織における重症感染や壊死性肺炎に関与し、CA-MRSA の病原性を高める要因の一つとなっている。

開発途上国において AMR 対策が進まない原因は、薬剤耐性菌に関する正確な情報が欠如していることであり、そのためにこの問題に対する医療従事者・研究者、政策担当者の意識が低いことにある。したがって、薬剤耐性菌の現状 (頻度や性状) を明らかにすることが、AMR への認識を高め対策の促進を図るうえで第一義的に重要である。我々が最近海外との共同で行った予備的研究では、白血球障害毒素 PVL を持つ CA-MRSA をバングラデシュ、ネパール、ミャンマーで初めて分離し、また NDM-1、KPC、OXA-23 等カルバペネマーゼ遺伝子を保有する大腸菌、肺炎桿菌、アシネトバクターをバングラデシュ、キューバで初めて検出した。この結果は、これらの国においてそれら新型の薬剤耐性菌が浸淫していることを示唆するものであり、その確認のためさらに規模を広げた研究が必要と考えられた。

2. 研究の目的

本研究はアジア・カリブ海地域の開発途上国 3 カ国 (バングラデシュ、ミャンマー、キューバ) において、新興薬剤耐性菌 (市中感染型 MRSA、カルバペネム耐性腸内細菌 (CRE)、多剤耐性アシネトバクター) の蔓延状況の実態を、包括的な分子疫学解析により明らかにすることを目的とする。対象国のうちアジア 2 カ国は後発開発途上国であると同時に経済発展も著しく、医療の基盤整備が急務となっている。キューバはカリブ海地域最大の島国であるが、長期の経済制裁のため医学研究の発展が遅れている。いずれの国も他のアジアまたは中南米諸国に比して、薬剤耐性に関する情報や研究がきわめて少なく、本研究の必要性が高いと考えられる。研究対象とする新興薬剤耐性菌は、常在菌としても分布するため世界的な伝播拡大が懸念され、最も重要な耐性菌とされているものである。また CRE や CA-MRA の中には病原因子遺伝子の獲得により高い病原性を示す耐性菌も存在すると考えられる。本研究ではそれら新興薬剤耐性菌の検出率を調べるとともに、世界的な比較が可能な遺伝子型 (MLST 等) を解析し、国毎、菌種毎に分布している菌株のクローンの種類、多様性を明らかにする。また菌種毎に薬剤耐性遺伝子、耐性関連変異を同定し、臨床分離株におけるそれらの頻度を明らかにする。腸内細菌科細菌を含むグラム陰性菌では、基質拡張型ラクタマーゼ (ESBL) 遺伝子、各種カルバペネマーゼ遺伝子、プラスミド性 AmpC、プラスミド媒介性キノロン耐性遺伝子 (*qnr*)、キノロン耐性変異 (*gyrA*, *parC* 遺伝子) について解析する。MRSA については各種薬剤耐性遺伝子の分布やバンコマイシン非感受性株の有無を調べるほか、病原因子 (PVL、エンテロトキシン、ヘモリジン、表皮剥離毒素、等) 遺伝子の分布についても解析する。以上により新興薬剤耐性菌の実態を包括的に解明し、今後 AMR 対策のために有用な基礎資料としてまとめ、公表することが目標である。

3. 研究の方法

本研究はバングラデシュ、ミャンマー、キューバの 3 カ国との共同研究として実施した。各国の共同研究機関は我々の教室と長年共同研究を行なっている実績があることから、調査対象国とした。これら 3 カ国の共同研究機関は、マイメンシン医科大学 (バングラデシュ、マイメンシン市)、ヤンゴン第二医科大学 (ミャンマー、ヤンゴン市)、国立 IPK 熱帯医学研究所 (キューバ、ハバナ市) である。

対象菌種は、黄色ブドウ球菌 (*S. aureus*)、腸球菌 (*Enterococcus*)、大腸菌 (*Escherichia coli*)、肺炎桿菌 (*Klebsiella pneumoniae*)、アシネトバクター属菌 (*Acinetobacter spp.*) とした。黄色ブドウ球菌は皮膚・軟部組織由来の検体、腸球菌、大腸菌、肺炎桿菌は尿路または呼吸器由来の検体から

の分離株とした。アシネトバクターについては臨床材料の指定はしなかった。

菌株は各共同研究機関において分離・採集し、共同研究先及び札幌医科大学において以下の手順で解析を進めた。

(1) 薬剤感受性試験

微量液体希釈法またはディスク拡散法により、菌種毎に指定する各種薬剤（オキサシリン、ペニシリン、セフェム系薬、カルバペネム系薬）に対し、感受性（最少発育阻止濃度、MIC）を測定した。

(2) 菌種別の遺伝学的・分子疫学的解析

菌種毎に行う分子疫学的解析は、薬剤耐性遺伝子、病原因子、分子疫学的型別の3つに大きく分けた。

おもな薬剤耐性遺伝子の検出・同定

- 1) MRSA：メチシリン耐性に関与する *mecA* を含む遺伝子複合体 *SCCmec* 遺伝子型を、多重PCRによって決定される *mec* 複合体、*ccr* 複合体の型の組み合わせにより同定した。
- 2) 大腸菌、肺炎桿菌、アシネトバクター：基質拡張型 β ラクタマーゼ(ESBL)の有無を多重PCR、シークエンス解析により調べ、TEM、SHV、またはCTX-M 遺伝子と型番号を特定した。カルバペネム耐性 ラクタマーゼ (IMP, VIM, NDM, KPC, OXA48 等) をカルバペネム系薬剤 (イミペネム、メロペネム) 耐性菌において検出し、それら遺伝子全長のシークエンス解析からそれら酵素遺伝子のサブタイプを同定した。さらにコリスチン耐性の菌株について、耐性に関与する遺伝子の同定を行った。またキノロン耐性に関わる遺伝子変異 (*gyrA*, *parC* 遺伝子) 各種のプラスミド性キノロン耐性関連遺伝子 (*qnr*) の分布状況についても解析を行った。

- 3) 腸球菌：各種アミノグリコシド耐性 (アミノグリコシド修飾酵素) 遺伝子、オキサゾリジノン耐性遺伝子 *optrA* を、PCR 及びシークエンシングにより検出、解析した。

病原因子 (対象：MRSA を含む黄色ブドウ球菌)

多数の外毒素 (エンテロトキシン、表皮剥離毒素他) 付着因子の分布を多重PCRで調べた。特に感染の重症化と関連するPVLの有無と変異・多型、PVLファージの種類を同定した。

分子疫学的型別

全対象菌株 (黄色ブドウ球菌、腸球菌、大腸菌、肺炎桿菌) の中から代表的な菌株を選び、多座位配列型別 (MLST) による遺伝子型 (ST) を同定した。黄色ブドウ球菌・MRSA については *spa* type (プロテイン A 遺伝子) *agr* type も決定した。大腸菌については系統群分類 (A, B1, B2, D) を、多重PCR法を用いて行なった。

4. 研究成果

以下、国ごとに、大腸菌、肺炎桿菌、黄色ブドウ球菌 (MRSA を含む) 腸球菌に関する研究結果の概要を述べる。

(1) ミャンマーでの研究結果

A) 大腸菌におけるESBLおよびカルバペネマーゼ遺伝子の解析

ヤンゴン第2医科大学の教育病院において1年間で臨床材料から分離された大腸菌426株を対象とした。37% (157株) がESBL遺伝子陽性で、その多く (146株) がCTX-M-1群 (CTX-M-15, CTX-M-55) に分類され、残りはCTX-M-9群 (CTX-M-14, CTX-M-27) に属した。カルバペネム耐性は35株 (8.2%) に検出され、そのうち26株にカルバペネマーゼ遺伝子が検出された。同定されたのはNDM-1遺伝子 (2株)、NDM-4遺伝子 (6株)、NDM-5遺伝子 (14株)、NDM-7遺伝子 (3株)、OXA-181遺伝子 (2株) であった。NDM-5保有株は系統群A、B1、Dに属し、様々な遺伝子型 (ST101, ST354, ST405, ST410, ST1196) に分類された。OXA-181を保有する2株は系統群Aに属し、うち1株はNDM-5、CTX-M-15、CMY-2遺伝子を有し、他の1株はCMY-42と*aac6'-Ib-cr*遺伝子を合わせ持っていた。系統群B2の菌株は調べられたものの殆どがST131に型別され、CTX-M-15またはCTX-M-27のいずれかを単独で有し、他の系統群の菌株よりも多数の病原因子を保有していた。本研究ではCTX-M-15遺伝子を中心とするESBL遺伝子が大腸菌に高率に分布し、NDM遺伝子の中ではNDM-5が最も優勢で様々な大腸菌のクローンに分布していることが明らかとなった。OXA-181の同定は、ミャンマーでは初めての報告となった。

B) 大腸菌におけるAmpC(CMY)遺伝子の解析

CMY型酵素はプラスミド媒介性のAmpC型 β ラクタマーゼの一つであり、ESBLとともに広域セファロスポリン耐性に関与する。上記(1)で解析された426株のうち、50株がCMY遺伝子保有株であったため、CMYの性状およびCMY保有株の遺伝子学的特徴を解析した。CMY遺伝子は9つの型に分類され、そのうちCMY-42が最多 (22株、44%) で、次いで多い順にCMY-2、CMY-6、CMY-146と続き、3つの型CMY-156、CMY-158、CMY-159は本研究で初めて同定された。CMY遺伝子保有株の中では、系統群D-ST405、A-ST410の遺伝子型が最多であり、CMY保有株の72% (36株) はCTX-M-15遺伝子も同時に保有していた。CMY-42遺伝子は系統群A、

B1、D の 11 種の ST に属する大腸菌に分布し、カルバペネマーゼ遺伝子 (NDM-4、NDM-5、NDM-7) を保有する 10 株を含んでいた。今回新たに同定された 3 つの CMY 遺伝子と既知の全 CMY 遺伝子を合わせて系統解析を行ったところ、少なくとも 4 つの主要な遺伝子群 (CMY-1 群、CMY-2 群、CMY-70 群、CMY-98 群) が区別され、これらの間では遺伝子配列の一致率が 91% 以下であった。CMY-2 群は最も多くの CMY 型 (90%) を包含し、かつ多様性が認められ、2 つのクラスター (I、II) に分けられた。今回、ミャンマーの大腸菌で検出された CMY 型のうち、8 つは CMY-2 群クラスター I に分類され、新規の型 CMY-159 が CMY-98 群に区分された。CMY-98 はタイ国の *Citrobacter freundii* でのみ報告されており、この CMY 群が主に東南アジアで分布している可能性が示唆された。

C) 大腸菌におけるコリスチン耐性遺伝子の検出

コリスチンはカルバペネム耐性グラム陰性桿菌に対し、最後の手段となる治療薬として広く世界中で使われているが、コリスチン耐性に関与する *mcr* 遺伝子が 2016 年以降世界各地で報告されている。ただしミャンマーでは *mcr* 遺伝子の検出は報告されていない。そこでヤンゴン第 2 医科大学の教育病院で 1 年間に分離された腸内細菌科細菌 1555 株のうち、442 株の大腸菌を調査したところ、57 株 (13%) がカルバペネム耐性であった。それらを対象に PCR による *mcr* 遺伝子の検出を試みたところ、*mcr-1* 遺伝子が 1 株 (MMR-CR4) に検出された。この株は系統群 A、ST90 に属し、*mcr-1* のほか CTX-M-15、TEM-1 を持っていた。ただしカルバペネマーゼ遺伝子は陰性であった。この菌株は多剤耐性を示し、アミノグリコシド耐性遺伝子、キノロン耐性変異を有していたが、ホスホマイシン、チゲサイクリンには感受性であった。ミャンマーでは *mcr* 遺伝子の検出はこれが初めてであり、このような菌株の拡がりに関する警鐘を鳴らすこととなった。

D) 肺炎桿菌における ESBL、カルバペネマーゼ遺伝子、キノロン耐性変異およびプラスミド性耐性遺伝子の解析

肺炎桿菌は大腸菌と同様、臨床材料からの分離頻度が高いと同時に薬剤耐性化の進行が問題となっているが、ミャンマーでの疫学的調査報告はない。そこでヤンゴン第 2 医科大学の教育病院において 1 年間、呼吸器疾患患者の臨床材料から分離された肺炎桿菌 191 株を対象として解析を行った。ESBL 遺伝子は 33% の株に検出され、CTX-M-15 が最も多かった。7.3% (14 株) にカルバペネマーゼ遺伝子が検出され、NDM-1、NDM-5、NDM-7 遺伝子と同定された。62% の株はキノロン系薬剤 (レボフロキサシン) に耐性であった。プラスミド性キノロン耐性遺伝子 (PMQR) で最も多かったのは *aac6'-Ib-cr* (51.8%) で、*qnrB* (41.9%)、*oqxAB* (23%)、*qnrS* (15.2%) の順に多く検出された。DNA ジャイレースにおけるキノロン耐性変異は、8 つの異なる変異のタイプが見つかったが、そのうち 2 つの部位での変異 (S83F、D87A) が最も多かった (55%)。変異が 2 つの部位 (3 つのパターン) にある株ではレボフロキサシンに対する MIC が 64 μ g/ml 以上を示し、1 ヲ所での変異を持つ株の MIC よりも高かった。ESBL、カルバペネマーゼ遺伝子を持つ株およびキノロン耐性株の多くが ST15 およびその単一座位変異型 (single locus variant, SLV) に型別された。最も多かった NDM 遺伝子である NDM-5 を有する株は、ST975 (ST15 の SLV) と ST4000 に分類された。ミャンマーの病院分離株に関する今回の研究では、様々な PMQR 遺伝子や β ラクタマーゼ遺伝子が、おもに単一クローンの系統の菌株に広く分布していることが明らかとなった。

E) メチシリン感受性及び耐性黄色ブドウ球菌 (MSSA、MRSA) の分子疫学

ミャンマーにおいては MRSA の検出率やクローンの種類などについて、多数の分離株を用いた疫学的研究は行われていない。そこで本研究では、ヤンゴン市内の私立総合病院において 2 年間に臨床材料から分離された黄色ブドウ球菌 239 株を対象に解析を行った。このうち MRSA は 33 株 (13.8%) で、SCC*mec* 型 IV、V が大部分を占め、その他は III、IX 型であった。PVL 遺伝子は、MRSA の 66.7%、MSSA の 28.6% に検出された。PVL 陽性 MRSA では、ST772/SCC*mec*-V (ベンガル湾クローン) が優勢で 7 割を占め、PVL ファージである Φ Sa119 を保有していた。2 株の MRSA は ST8-SCC*mec*-IVa で Φ Sa2usa および I 型 ACME (アルギニン代謝系可動性遺伝子要素) を有していたため、米国に多い USA300 クローンと考えられた。PVL 陽性 MSSA では、 Φ PVL を持つものが 56% で最も多く、多様な遺伝子型が同定された。中でも ST88 と ST121 が多かった。また Φ Sa2usa、 Φ Sa119 は、ST8、ST772 以外の MSSA においても検出された。ミャンマーでの MRSA の検出率は比較的低かったが、そのクローンの多くはインド、バングラデシュに多いベンガル湾クローンであり、USA300 クローンも初めて見つかった。またベンガル湾クローン、USA300 クローンの持つ PVL ファージが、様々な MSSA のクローンに伝播し拡がっていることが示唆された。

(2) バングラデシュでの研究結果

A) 大腸菌および肺炎桿菌における ESBL とカルバペネマーゼ産生菌株の分子疫学

バングラデシュ中央北部にあるマイメンシン市において、マイメンシン医科大学付属病院および民間検査機関で 2014 年 10 月から 1 年 3 ヲ月間に臨床材料から分離された大腸菌 233 株、

肺炎桿菌 142 株を研究対象とした。主要な ESBL は CTX-M-1 群であり、大腸菌の 33.9%、肺炎桿菌の 51.4% に検出された。そのうち最も多い型は CTX-M-15 であった。SHV 型ベータラクタマーゼ遺伝子は、肺炎桿菌に多く検出 (27%) され、新規の遺伝子型 SHV-201、SHV-202 が同定された。大腸菌のうち 9 株 (3.9%) がカルバペネマーゼ遺伝子陽性であり、NDM-1 が系統群 A-ST2104、B2-ST73 に、NDM-5 が A-ST167、B2-ST38/ST2659 に、NDM-7 が B1-ST101/ST224、D-ST6682 に検出された。AmpCβ ラクタマーゼでは CMY-2、CMY-42 遺伝子が同定され、その保有株のほとんどが ESBL である CTX-M-15 と PMQR 遺伝子を合わせ持っていた。CMY-2 群に属する新規の CMY 型である CMY-160 が、系統群 D の大腸菌に同定された。肺炎桿菌では、3 株 (2%) にカルバペネマーゼ遺伝子が検出された。それらは NDM-1 遺伝子 (ST11、ST1322 株) と OXA-181 遺伝子 (ST43 株) であった。本研究ではバングラデシュにおいて CTX-M-15 に代表される ESBL 遺伝子の増加、NDM 型カルバペネマーゼ遺伝子の大腸菌への拡がりが見られた。OXA-181 型 β ラクタマーゼ遺伝子は、肺炎桿菌においてはバングラデシュで初めての報告となった。

B) 皮膚・軟部組織感染症由来の MRSA、MSSA の分子疫学的解析

本研究では 2015-2016 年にマイメンシン医科大学付属病院および市内医療機関で、皮膚・軟部組織感染症から分離された黄色ブドウ球菌 430 株を対象とした。このうち MRSA は 31% を占め、SCCmec-IV 型が 73%、V 型が 14% であり、コアグラマーゼ遺伝子型 IIa、IIIa、IVb、XIa が多かった。MSSA ではコアグラマーゼ遺伝子型 IIIa が最も多く、Va、IIa、VIa と続いた。PVL 遺伝子は MSSA での検出率 (54%) が MRSA でのそれ (24%) よりも高かった。PVL 陽性 MRSA の遺伝子型は、MLST のクロノナルコンプレックス (CC) 88、CC6、CC1 に、PVL 陰性 MRSA は CC5、CC22、CC80、CC121、CC672 に分類された。PVL 陰性 ST80 の MRSA は SCCmec-IVa を持ち、agr-III/coa-XIc に分類され、etd/edinB を有していたため、ヨーロッパで優勢な CA-MRSA である CC80 クローンと関連していることが分かった。PVL 陽性及び陰性 MSSA は ST121、ST2884 に型別され、ST772 菌株はすべて PVL 遺伝子を有していた。今回の研究では、バングラデシュでは CC88 と ST772 が PVL 陽性 MRSA/MSSA での、CC80 クローンが PVL 陰性 MRSA の主要なクローンであることが示された。

C) 尿路感染症由来腸球菌 (*Enterococcus faecalis*) の薬剤耐性と分子疫学的解析

腸球菌は腸管内に常在するグラム陽性球菌で、通常病原性は低い、多くの薬剤に対し自然耐性および獲得耐性を示し、日和見感染症の原因として重要である。バングラデシュでは本菌に関する疫学的情報が乏しいため、本研究では尿路感染症に由来する *Enterococcus faecalis* について解析を行った。対象は最近 1 年間に分離された 210 株とした。ゲンタマイシン高度耐性が 13%、エリスロマイシン耐性が 85%、テトラサイクリン耐性が 60%、レボフロキサシン耐性が 46% に見られた。アンピシリン、ホスホマイシン、バンコマイシン、テイコプラニンへはすべて感受性であったが、リネゾリド耐性菌が 5 株 (2.4%) に検出された。マクロライド耐性遺伝子 *erm(B)* が 97% の株で検出されたほか、アミノグリコシド耐性 (修飾酵素) 遺伝子 *aph(3')-IIIa*、*aac(6')-aph(2'')* が各々 35%、22% に検出された。リネゾリド耐性の 5 株は *fexA-optrA* 遺伝子クラスターを有しており、これはバングラデシュでは初めての報告となった。ゲンタマイシン高度耐性、レボフロキサシン耐性菌の多くは ST6、ST16、ST28 に分類されたが、リネゾリド耐性菌は ST59 (およびその SLV)、ST902 に型別され、リネゾリド耐性菌は他の多くの薬剤耐性腸球菌とは異なるクローンに属することが判明した。

(3) キューバでの研究結果

キューバでは国内の耐性菌サーベイランスに合わせて、本共同研究を行った。研究対象は同国の 16 地域における定点医療機関において、便以外の臨床材料から分離された大腸菌 (腸管外感染大腸菌) 306 株であった。これら的大腸菌の系統群で最も多かったのは B2 (49%) で、その他は多い順に D、A、B1 であった。ESBL では CTX-M 遺伝子が 61% に検出され、その大部分は CTX-M-1 群であった。CTX-M 遺伝子の検出率は、系統群 A、B2、D では 61-63% であったが、B1 では 52% とやや低かった。カルバペネマーゼ遺伝子では、NDM-1 遺伝子が系統群 B1-ST448 の 2 菌株に検出された。系統群 B2 で ESBL (CTX-M-15 または CTX-M-27) 遺伝子を持つ菌株は、おもに ST131 に属し、O25b アレル陽性であり、これは ST131 パンデミッククローンと呼ばれるものと同じと考えられた。系統群 B2 には、エマージングタイプの ST1193 が含まれていた。PMQR 遺伝子では *aac(6')-Ib-cr* が最も多く (40.5% で保有)、CTX-M 保有株の 55% がこれを合わせ持っていた。以上より、キューバにおける腸管外感染大腸菌での高い ESBL 保有率が示され、また NDM-1 遺伝子や新興クローンが出現していることが明らかとなり、大腸菌における薬剤耐性化への対策が必要と考えられた。

腸球菌に関しては、過去の保存菌株の調査の中で VanA 型のバンコマイシン耐性菌 VRE を同定した。アシネトバクター (*A. baumannii* 等) では、国内各地から分離された異なる遺伝子型の菌株に NDM-1 遺伝子を持つものが多数検出され、本菌種においてカルバペネム耐性が腸内細菌科細菌以上に広がっていると考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件／うち国際共著 11件／うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Khan ER, Aung MS, Paul SK, Ahmed S, Haque N, Ahamed F, Sarkar SR, Roy S, Rahman MM, Mahmud MC, Hossain MA, Urushibara N, Kawaguchiya M, Sumi A, Kobayashi N.	4. 巻 24
2. 論文標題 Prevalence and molecular epidemiology of clinical isolates of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae harboring extended-spectrum beta-lactamase and carbapenemase genes in Bangladesh.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Microbial Drug Resistance	6. 最初と最後の頁 1568-1579
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1089/mdr.2018.0063	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Haque N, Aung MS, Paul SK, Bari MS, Ahmed S, Sarkar SR, Roy S, Nasreen SA, Mahmud MC, Hossain MA, Urushibara N, Kawaguchiya M, Sumi A, Kobayash N	4. 巻 25
2. 論文標題 Molecular epidemiological characterization of methicillin-susceptible and -resistant Staphylococcus aureus isolated from skin and soft tissue infections in Bangladesh.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Microbial Drug Resistance	6. 最初と最後の頁 241-250
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1089/mdr.2018.0123	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Aung MS, San T, San N, Oo WM, Ko PM, Thet KT, Urushibara N, Kawaguchiya M, Sumi A, Kobayashi N	4. 巻 68
2. 論文標題 Molecular characterization of Staphylococcus argenteus in Myanmar: identification of novel genotypes/clusters in staphylocoagulase, protein A, alpha-hemolysin and other virulence factors.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Medical Microbiology	6. 最初と最後の頁 95-104
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1099/jmm.0.000869	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する
1. 著者名 Quinones D, Aung MS, Sousa Martins JP, Urushibara N, Kobayashi N	4. 巻 21
2. 論文標題 Genetic characteristics of VanA-type vancomycin-resistant Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium in Cuba.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 New Microbes and New Infections	6. 最初と最後の頁 125-127
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.nmni.2017.12.001	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Aung MS, San N, Maw WW, San T, Urushibara N, Kawaguchiya M, Sumi A, Kobayashi N	4. 巻 24
2. 論文標題 Prevalence of Extended-Spectrum Beta-Lactamase and Carbapenemase Genes in Clinical Isolates of Escherichia coli in Myanmar: Dominance of blaNDM-5 and Emergence of blaOXA-181.	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Microbial Drug Resistance	6. 最初と最後の頁 1333-1344.
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/mdr.2017.0387	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Aung MS, San T, Aye MM, Mya S, Maw WW, Zan KN, Htut WHW, Kawaguchiya M, Urushibara N, Kobayashi N	4. 巻 9
2. 論文標題 Prevalence and Genetic Characteristics of Staphylococcus aureus and Staphylococcus argenteus Isolates Harboring Panton-Valentine Leukocidin, Enterotoxins, and TSST-1 Genes from Food Handlers in Myanmar.	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Toxins (Basel)	6. 最初と最後の頁 pii:E241
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/toxins9080241	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 San N, Aung MS, Thu PP, Myint YY, Aung MT, San T, Mar TT, Lwin MM, Maw WW, Hlaing MS, Kobayashi N.	4. 巻 30
2. 論文標題 First detection of the mcr-1 colistin resistance gene in Escherichia coli from a patient with urinary tract infection in Myanmar.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 New Microbes and New Infections	6. 最初と最後の頁 100550
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.nmni.2019.100550	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Aung MS, San T, Urushibara N, San N, Oo WM, Soe PE, Kyaw Y, Ko PM, Thu PP, Hlaing MS, Kawaguchiya M, Kobayashi N	4. 巻 26
2. 論文標題 Molecular characterization of methicillin-susceptible and -resistant Staphylococcus aureus harboring Panton Valentine leukocidin (PVL)-encoding bacteriophages in a tertiary care hospital in Myanmar.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbial Drug Resistance	6. 最初と最後の頁 360-367
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/mdr.2019.0208	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 San N, Aung MS, Urushibara N, San T, Maw WW, Lwin MM, Mar TT, Myint YY, Thu PP, Hlaing MS, Ganesh B, Kobayashi N	4. 巻 26
2. 論文標題 Genetic diversity of CMY beta-lactamase genes in clinical isolates of Escherichia coli in Myanmar : identification of three novel types and updated phylogenetic classification of blaCMY	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbial Drug Resistance	6. 最初と最後の頁 497-504
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1089/mdr.2019.0234	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Quinones D, Aung MS, Carmona Y, Gonzalez MK, Pereda N, Hidalgo M, Rivero M, Zayas A, del Campo R, Urushibara N, Kobayashi N	4. 巻 9
2. 論文標題 High Prevalence of CTX-M Type Extended-Spectrum Beta-Lactamase Genes and Detection of NDM-1 Carbapenemase Gene in Extraintestinal Pathogenic Escherichia coli in Cuba.	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pathogens	6. 最初と最後の頁 65
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pathogens9010065	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Aung MS, Win NC, San N, Hlaing SM, Myint YY, Thu PP, Aung MT, Yaa KT, Maw WW, Urushibara N, Kobayashi N	4. 巻 -
2. 論文標題 Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase/carbapenemase genes and quinolone-resistance determinants in Klebsiella pneumoniae clinical isolates from respiratory infections in Myanmar	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Microbial Drug Resistance	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計8件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 3件)

1. 発表者名 Meiji Soe Aung, 漆原範子, Thida San, 川口谷充代, 小林宣道
2. 発表標題 Molecular characterization of Staphylococcus aureus and Staphylococcus argenteus from food handlers in Myanmar.
3. 学会等名 第63回日本ブドウ球菌研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ahmed S, Paul SK, Nasreen SA, Haque N, Kawaguchiya M, Urushibara N, Hossain MA, Kobayashi N
2. 発表標題 Escherichia coli O25b-ST131: a pandemic, multi-resistant, community-associated strain isolated from puerperal infections in Bangladesh.
3. 学会等名 15th International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology (IUMS, 2017) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Aung MS, San N, Kawaguchiya M, Urushibara N, Kobayashi N
2. 発表標題 Molecular epidemiology, virulence and drug resistance profile of extended-spectrum β -lactamases- (ESBLs) producing extraintestinal pathogenic Escherichia coli (ExPEC) in Myanmar.
3. 学会等名 30th International Congress of Chemotherapy and Infection 2017 (ICC, 2017) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 小林宣道、アウンメイジソウ、サン ニラ、モウ ウィンウィン、川口谷充代、漆原範子、鷺見紋子
2. 発表標題 ミャンマーの大腸菌臨床分離株におけるESBL・カルバペネマーゼ遺伝子の分布状況
3. 学会等名 第88回日本衛生学会総会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Meijisoe Aung, Thida San, 漆原範子、川口谷充代、小林宣道
2. 発表標題 Genetic characterization of virulence factor genes in Staphylococcus argenteus.
3. 学会等名 第92回日本細菌学会総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Haque N, Aung MS, Urushibara N, Kawaguchiya M, Paul SK, Kobayashi N
2. 発表標題 Molecular epidemiological characterization of methicillin-susceptible and -resistant <i>Staphylococcus aureus</i> isolated from skin and soft tissue infections in Bangladesh.
3. 学会等名 第64回日本ブドウ球菌研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小林宣道、メイジソウアウン、漆原範子、川口谷充代、ニラサン、ヤミンチョウ、ピョマイコウ、ウィンマーウー、ティダサン
2. 発表標題 ミャンマーにおける黄色ブドウ球菌の分子疫学とPVL遺伝子の分布状況
3. 学会等名 第90回日本衛生学会総会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Quinones D, Aung MS, Cartaya YC, Novales NP, Kobayashi N
2. 発表標題 Molecular epidemiology and prevalence of extended-spectrum beta-lactamase and carbapenem genes of extraintestinal pathogenic <i>Escherichia coli</i> in Cuba
3. 学会等名 29th European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases (国際学会)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

札幌医科大学医学部衛生学講座ホームページ http://web.sapmed.ac.jp/hygiene/index.html

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	鷺見 紋子 (Sumi Ayako) (10363699)	札幌医科大学・医学部・准教授 (20101)	
研究分担者	アウン メイジソウ (Aung Meiji Soe) (10749584)	札幌医科大学・医学部・助教 (20101)	
研究分担者	川口谷 充代 (Kawaguchiya Mitsuyo) (70733062)	札幌医科大学・医学部・助教 (20101)	
研究分担者	漆原 範子 (Urushibara Noriko) (80396308)	札幌医科大学・医学部・准教授 (20101)	