

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：32607

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2022

課題番号：22K21122

研究課題名（和文）水環境におけるAeromonas属細菌による薬剤耐性プラスミドの蔓延機序の解明

研究課題名（英文）Analysis of the mechanism of spread of antimicrobial resistant plasmids by Aeromonas spp. in aquatic environments

研究代表者

江田 諒太郎（Eda, Ryotaro）

北里大学・医療衛生学部・特任助教

研究者番号：40963682

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 1,100,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究では、病院排水中に存在するGES-24型カルバペネマーゼの蔓延におけるAeromonas属菌の関与の一端を明らかにした。臨床分離Aeromonas属菌の遺伝子解析では獲得性カルバペネマーゼ保有株は認められなかった。系統樹解析では臨床分離株の中に病院排水株と類似した遺伝背景を持つ株の存在が明らかになった。病院排水由来GES-24型カルバペネマーゼ産生菌の保有するIncP-6プラスミドの比較解析では、異種菌から検出されたIncP-6プラスミドが同一のものであることが明らかになった。さらに、本邦で水環境から検出されているIncP-6プラスミドとも高い類似性および地域性が認められた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

臨床分離Aeromonas属菌は病院排水中のGES-24型カルバペネマーゼ産生菌の直接的な原因ではないことが示唆された。Aeromonas属菌の特徴として、環境中に存在する他菌種からカルバペネマーゼ遺伝子などの臨床上重要な薬剤耐性遺伝子をリザーバーとして譲り受けやすいリスクが考えられるため、Aeromonas属菌を介したプラスミド伝達に焦点を当てたさらなる解析が必要である。また、臨床報告が少ないGES-24型カルバペネマーゼが骨格の類似したIncP-6プラスミドにより本邦の水環境に広く存在しており、臨床現場においてこの耐性株の今後の拡散に注視する必要がある。

研究成果の概要（英文）：In this study, we determined one aspect of the involvement of Aeromonas spp. in the dissemination of GES-24 carbapenemase in hospital sewage water. Genetic analysis of clinical isolates of Aeromonas spp. revealed no acquired carbapenemase-producing strains. Phylogenetic tree analysis revealed the presence of clinical isolates with a genetic background similar to that of the hospital sewage water isolates. Comparative analysis of the IncP-6 plasmids in GES-24 carbapenemase-producing isolates from hospital sewage water revealed that the IncP-6 plasmid detected in the different strains was identical to the IncP-6 plasmid. Furthermore, a high degree of similarity and regionality was also observed with IncP-6 plasmids detected in the aquatic environment in Japan.

研究分野：環境微生物学

キーワード：薬剤耐性菌 カルバペネマーゼ GES-24 Aeromonas属 IncP-6 臨床分離株 病院排水

様式 C-19、F-19-1、Z-19（共通）

1. 研究開始当初の背景

薬剤耐性プラスミドにより近年世界に急速に拡散したカルバペネマーゼ産生菌（carbapenemase-producing organisms: CPO）は、重篤な感染症時に適用される抗菌薬カルバペネムですら有効性が低く、治療薬に限られる。したがって、CPO による難治性感染症は WHO でも指定されている公衆衛生上コントロールすべき感染症である。CPO の蔓延防止のためには、ワンヘルスの観点からヒト/環境/動物を包括してその存在実態を明らかにし、薬剤耐性プラスミドの蔓延ルートをコントロールすることが重要である。

申請者はこれまで臨床分離株（患者由来の病原性細菌）および環境分離株（病院排水由来）の CPO 研究で、病院排水内で GES-24 型カルバペネマーゼ遺伝子が多様な菌種に蔓延していることを明らかにし、その蔓延には *Aeromonas* 属が関与しているリスクを明らかにした（図1）。しかしながらこれまでの研究では、病院排水中に存在する薬剤耐性 *Aeromonas* 属が臨床に由来するのか、ひいては地域社会（ヒトへの感染リスクのある環境）に蔓延しているのか、未解であった。そこで、これらの病院排水中に存在する薬剤耐性 *Aeromonas* 属が、臨床由来なのか？地域社会に蔓延しているのか？を詳細に追及すべきであると考えた。

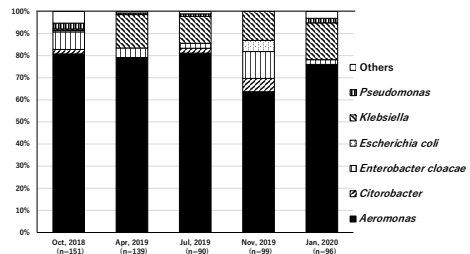


図1. 病院排水における薬剤耐性菌の菌種割合

2. 研究の目的

本研究の目的は、患者由来の臨床検体から分離された *Aeromonas* 属の基礎的な表現型の解析および遺伝子解析を実施し、さらに、病院排水中の薬剤耐性プラスミドの比較解析を行うことで、病院排水中に存在する GES-24 型カルバペネマーゼの蔓延ルートおよびそのルーツを明らかにすることである。本研究では以下の2課題について試みる。

課題1) 臨床分離株 *Aeromonas* 属の実態解明

課題2) GES-24 型カルバペネマーゼ蔓延に至るルートの解明

3. 研究の方法

課題1) 臨床分離株 *Aeromonas* 属の実態解明

北里大学病院微生物検査室に保存されている臨床由来 *Aeromonas* 属の集積解析を行った。具体的には、1997～2022年の期間に保存された全62株を対象として下記①～③の解析を行った。

① PCR 及びシーケンスによるカルバペネマーゼ遺伝子保有の解析

6つのカルバペネマーゼ遺伝子（*bla*_{IMP}, *bla*_{VIM}, *bla*_{KPC}, *bla*_{NDM}, *bla*_{OXA-48 like}, *bla*_{GES}）を対象に、その存在の有無を確認した。

② カルバペネマーゼ産生能試験

カルバペネマーゼの産生性を mCIM 法により確認した。

③ 薬剤感受性試験

CLSI 法に準拠し、タゾバクタム/ピペラシリン（TZP）、セフトキシム（CTX）、セフトリアキソン（CRO）、セフメタゾール（CMZ）、セフトジジム（CAZ）、アズトレオナム（AZT）、イミペネム（IPM）、メロペネム（MEM）、シプロフロキサシン（CIP）、ホスホマイシン（FOF）、ゲンタマイシン（GEN）、コリスチン（CST）、チゲサイクリン（TGC）の13薬剤に対する薬剤感受性試験を行った。また TZP、CTX、CRO、CAZ、AZT、IPM、MEM、CIP、GEN については CLSI M45 に準拠し、耐性（R）、中間耐性（I）、感性（S）の判定を行った。

課題2) GES-24 型カルバペネマーゼ蔓延に至るルートの解明

① 臨床由来 *Aeromonas* 属62株を対象に次世代シーケンス解析にて、MLST 解析による疫学解析、薬剤耐性遺伝子の網羅的検出、保有プラスミド種の検索を行った。

② 病院排水由来 GES-24 型カルバペネマーゼ産生菌を対象に完全ゲノム配列を構築し、比較プラスミド解析を行った。さらに、NCBI データベースに登録されている GES-24 型カルバペネマーゼを含む類似のプラスミドとの比較解析および一塩基多型解析を行った。

③ 臨床由来 *Aeromonas* 属のうち任意の10株を本研究室で保存している病院排水由来 *Aeromonas* 属52株と共に系統樹解析を行った。

4. 研究成果

課題1) 臨床分離株 *Aeromonas* 属の実態解明

① 臨床由来 *Aeromonas* 属を対象に、PCR によるカルバペネマーゼ遺伝子保有の解析を行った。全ての株において対象とした6つのカルバペネマーゼ遺伝子の保有は確認されなかった（表1）。

- ② 解析対象とした臨床由来 *Aeromonas* 属のカルバペネマーゼ産生性を mCIM にて確認したところ、62 株中 45 株が陽性を示した。また判定保留が 3 株、陰性が 14 株であった (表 1)。
- ③ 臨床由来 *Aeromonas* 属の詳細な薬剤感受性を寒天平板希釈法にて測定したところ、対象菌株全 62 株中 TZP に R または I を示した株は 3 株 (4.8%)、CTX に R または I を示した株は 4 株 (6.6%)、CRO に R または I を示した株は 4 株 (6.6%)、CAZ に R または I を示した株は 4 株 (6.6%)、AZT に R または I を示した株は 29 株 (46.8%)、MEM に R または I を示した株は 3 株 (4.8%)、CIP に R または I を示した株は 1 株 (1.6%)、GEN に R または I を示した株は 0 株 (0%) であった (表 2)。また、判定カテゴリーが設けられていない抗菌薬で多剤耐性菌感染症の治療に用いられる CST や TGC においても高い MIC 値を示す株が多く見られた。

課題 1)-③の結果から、複数系統の薬剤に耐性を持つこのような臨床由来 *Aeromonas* 属菌が環境中でカルバペネマーゼ遺伝子を獲得した場合、β-ラクタム系薬を含む多くの系統の薬剤に耐性を示す多剤耐性 *Aeromonas* 属が生まれる可能性があると考えられた。また、臨床由来株は多剤耐性菌による感染症治療に用いられる CST や TGC に対して潜在的に MIC 値が高い株が多いことが明らかになり、薬剤耐性遺伝子を譲り受け耐性化した *Aeromonas* 属菌による血流感染症などの重症感染症に罹患した場合、治療に難渋する事が予想された。

表 1. 臨床由来 *Aeromonas* 属のカルバペネマーゼ産生能並びに遺伝子の保有解析

Isolate	Species	Year	m-CIM	PCR (Big5+GEs)
KAM793	<i>Aeromonas veronii</i>	2004	Pos	N.D.
KAM794	<i>Aeromonas veronii</i>	2004	Pos	N.D.
KAM795	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2005	Pos	N.D.
KAM796	<i>Aeromonas caviae</i>	2005	Neg	N.D.
KAM797	<i>Aeromonas caviae</i>	2005	Neg	N.D.
KAM798	<i>Aeromonas caviae</i>	2006	Neg	N.D.
KAM799	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2006	Pos	N.D.
KAM800	<i>Aeromonas enteropelogenes</i>	2007	Neg	N.D.
KAM801	<i>Aeromonas caviae</i>	2007	Neg	N.D.
KAM802	<i>Aeromonas veronii</i>	2007	Pos	N.D.
KAM803	<i>Aeromonas caviae</i>	2007	Neg	N.D.
KAM804	<i>Aeromonas enteropelogenes</i>	2008	Neg	N.D.
KAM805	<i>Aeromonas media</i>	2008	Neg	N.D.
KAM806	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2009	Pos	N.D.
KAM807	<i>Aeromonas veronii</i>	2010	Pos	N.D.
KAM808	<i>Aeromonas veronii</i>	2010	Pos	N.D.
KAM809	<i>Aeromonas veronii</i>	2011	Pos	N.D.
KAM810	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2011	Pos	N.D.
KAM811	<i>Aeromonas enteropelogenes</i>	2012	Neg	N.D.
KAM812	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2012	Pos	N.D.
KAM813	<i>Aeromonas veronii</i>	2013	Pos	N.D.
KAM814	<i>Aeromonas veronii</i>	2013	Pos	N.D.
KAM815	<i>Aeromonas caviae</i>	2014	Neg	N.D.
KAM816	<i>Aeromonas dhakensis</i>	2015	Pos	N.D.
KAM817	<i>Aeromonas caviae</i>	2015	Neg	N.D.
KAM818	<i>Aeromonas veronii</i>	2015	Pos	N.D.
KAM819	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2015	Pos	N.D.
KAM820	<i>Aeromonas veronii</i>	2015	Pos	N.D.
KAM821	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2015	Pos	N.D.
KAM822	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2016	Pos	N.D.
KAM823	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2016	Pos	N.D.
KAM824	<i>Aeromonas caviae</i>	2016	Pos	N.D.
KAM825	<i>Aeromonas caviae</i>	2017	Pos	N.D.
KAM826	<i>Aeromonas caviae</i>	2017	Judgment pending	N.D.
KAM827	<i>Aeromonas veronii</i>	2017	Pos	N.D.
KAM828	<i>Aeromonas veronii</i>	2017	Pos	N.D.
KAM829	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2017	Pos	N.D.
KAM830	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2017	Pos	N.D.
KAM831	<i>Aeromonas caviae</i>	2017	Judgment pending	N.D.
KAM832	<i>Aeromonas caviae</i>	2017	Pos	N.D.
KAM833	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2017	Pos	N.D.
KAM834	<i>Aeromonas caviae</i>	2018	Pos	N.D.
KAM835	<i>Aeromonas caviae</i>	2018	Pos	N.D.
KAM836	<i>Aeromonas caviae</i>	2018	Pos	N.D.
KAM837	<i>Aeromonas dhakensis</i>	2018	Pos	N.D.
KAM838	<i>Aeromonas dhakensis</i>	2018	Pos	N.D.
KAM839	<i>Aeromonas dhakensis</i>	2018	Pos	N.D.
KAM840	<i>Aeromonas dhakensis</i>	2018	Pos	N.D.
KAM841	<i>Aeromonas veronii</i>	2019	Pos	N.D.
KAM842	<i>Aeromonas veronii</i>	2019	Pos	N.D.
KAM843	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2019	Pos	N.D.
KAM844	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2019	Pos	N.D.
KAM845	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2019	Pos	N.D.
KAM846	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2019	Judgment pending	N.D.
KAM847	<i>Aeromonas caviae</i>	2019	Neg	N.D.
KAM848	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2020	Pos	N.D.
KAM849	<i>Aeromonas caviae</i>	2020	Neg	N.D.
KAM850	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2020	Pos	N.D.
KAM851	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>ranee</i>	2020	Pos	N.D.
KAM852	<i>Aeromonas caviae</i>	2021	Pos	N.D.
KAM853	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2021	Pos	N.D.
KAM854	<i>Aeromonas caviae</i>	2021	Neg	N.D.

 : Negative
 : Judgment pending
 : Positive

表2. 臨床由来 *Aeromonas* 属の薬剤感受性

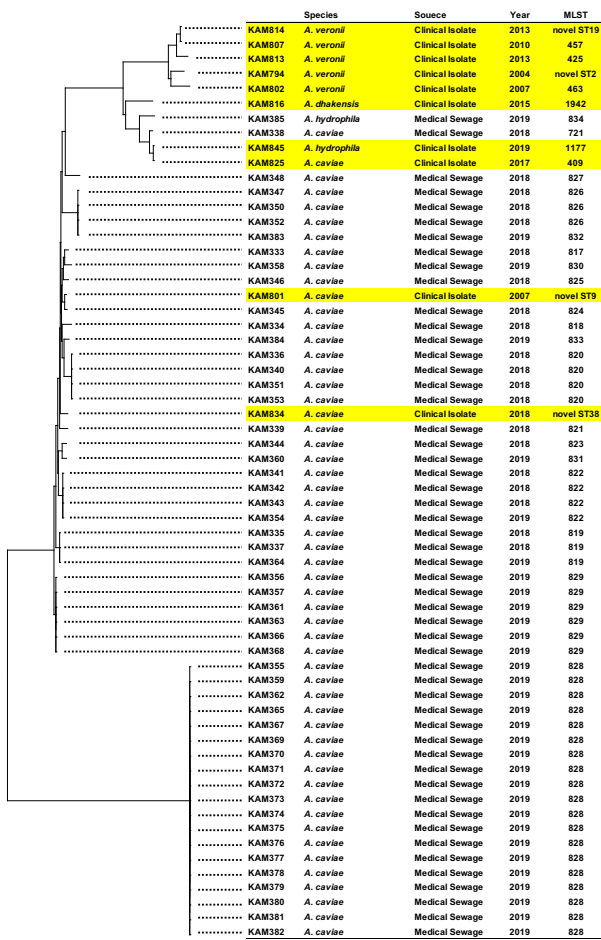
Isolate	Species	Year	MIC (µg/mL)												
			TZP	CTX	CRO	CMZ	CAZ	AZT	MEM	CIP	FOF	GEN	CST	TGC	
KAM793	<i>Aeromonas veronii</i>	2004	2	0.063	0.125	0.5	0.125	0.063	4	1	0.063	2	2	1	
KAM794	<i>Aeromonas veronii</i>	2004	1	0.063	0.063	1	0.125	0.063	4	0.25	0.25	2	2	0.5	
KAM795	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2005	2	0.063	0.063	2	0.063	0.063	1	0.063	0.063	0.5	0.5	2	
KAM796	<i>Aeromonas caviae</i>	2005	2	0.25	0.25	>256	0.25	0.063	0.5	0.063	0.063	8	0.5	1	
KAM797	<i>Aeromonas caviae</i>	2005	2	0.125	0.125	16	0.25	0.063	0.5	0.063	0.063	8	0.5	0.5	
KAM798	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2006	2	0.125	0.125	16	0.25	0.063	0.5	0.063	0.063	32	1	1	
KAM799	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2006	2	0.063	0.063	16	0.125	0.063	0.5	0.063	0.063	1	0.5	128	
KAM800	<i>Aeromonas enteropelogenes</i>	2007	2	64	32	128	>256	>256	1	1	0.25	32	4	>256	
KAM801	<i>Aeromonas caviae</i>	2007	4	0.25	0.5	32	0.5	0.063	0.5	0.063	0.063	8	2	1	
KAM802	<i>Aeromonas veronii</i>	2007	2	0.063	0.063	0.5	0.125	0.063	4	0.25	0.063	2	4	1	
KAM803	<i>Aeromonas caviae</i>	2007	2	0.063	0.063	1	0.25	0.063	0.25	0.063	0.063	16	0.5	1	
KAM804	<i>Aeromonas enteropelogenes</i>	2008	0.25	0.063	0.063	1	0.25	0.063	0.25	0.063	0.063	2	2	1	
KAM805	<i>Aeromonas media</i>	2008	4	0.125	0.125	4	0.25	0.063	0.25	0.063	0.063	1	2	2	
KAM806	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2009	2	0.5	0.125	16	0.5	0.063	4	0.125	0.063	1	1	>256	
KAM807	<i>Aeromonas veronii</i>	2010	4	0.063	0.063	0.5	0.125	0.063	4	0.5	0.125	2	2	4	
KAM808	<i>Aeromonas veronii</i>	2010	2	0.063	0.063	0.25	0.125	0.063	2	0.063	0.063	1	2	4	
KAM809	<i>Aeromonas veronii</i>	2011	1	0.063	0.063	0.25	0.063	0.063	1	0.063	0.063	1	2	0.5	
KAM810	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2011	2	0.125	0.25	16	0.25	0.063	4	1	0.25	2	1	256	
KAM811	<i>Aeromonas enteropelogenes</i>	2012	0.5	0.063	0.063	1	0.25	0.063	0.25	0.063	0.063	0.25	2	0.5	
KAM812	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2012	1	0.063	0.063	8	0.125	0.063	2	0.063	0.063	1	0.5	8	
KAM813	<i>Aeromonas veronii</i>	2013	2	0.063	0.063	0.5	0.125	0.063	4	0.25	0.063	2	2	4	
KAM814	<i>Aeromonas veronii</i>	2013	2	0.063	0.063	0.5	0.125	0.063	4	0.063	0.063	2	4	0.5	
KAM815	<i>Aeromonas caviae</i>	2014	2	0.125	0.125	16	0.25	0.063	0.5	0.063	0.063	64	1	2	
KAM816	<i>Aeromonas dhakensis</i>	2015	1	0.25	0.5	128	0.25	0.063	4	0.063	0.063	2	1	4	
KAM817	<i>Aeromonas caviae</i>	2015	2	0.25	0.125	16	0.25	0.063	0.25	0.063	0.063	32	0.5	1	
KAM818	<i>Aeromonas veronii</i>	2015	2	0.063	0.063	1	0.125	0.063	8	0.063	0.063	1	4	0.5	
KAM819	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2015	2	0.063	0.125	8	0.5	0.063	2	0.063	0.063	2	1	1	
KAM820	<i>Aeromonas veronii</i>	2015	1	0.063	0.063	0.25	0.125	0.063	8	0.063	0.063	2	2	0.5	
KAM821	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2015	4	0.063	0.063	2	0.125	0.063	0.25	0.063	0.063	1	2	16	
KAM822	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2016	1	0.063	0.063	8	0.063	0.063	1	0.063	0.063	1	1	8	
KAM823	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2016	2	0.063	0.063	16	0.25	0.063	8	0.125	0.063	1	0.5	4	
KAM824	<i>Aeromonas caviae</i>	2016	2	0.25	0.25	64	0.25	0.063	0.5	0.063	0.063	8	1	2	
KAM825	<i>Aeromonas caviae</i>	2017	4	0.5	0.25	16	0.5	0.063	0.25	0.063	0.125	128	1	1	
KAM826	<i>Aeromonas caviae</i>	2017	2	0.25	0.25	16	0.25	0.063	0.25	0.063	0.063	1	0.5	1	
KAM827	<i>Aeromonas veronii</i>	2017	1	0.063	0.063	0.5	0.25	0.063	2	0.125	0.063	8	2	1	
KAM828	<i>Aeromonas veronii</i>	2017	1	0.063	0.063	0.5	0.25	0.063	16	0.125	0.063	2	2	2	
KAM829	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2017	1	0.063	0.063	4	0.125	0.063	1	0.063	0.063	1	0.5	8	
KAM830	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2017	2	0.063	0.125	8	0.125	0.063	0.25	0.063	0.063	1	0.5	128	
KAM831	<i>Aeromonas caviae</i>	2017	2	0.063	0.125	0.5	0.125	0.063	0.25	0.063	0.25	32	1	1	
KAM832	<i>Aeromonas caviae</i>	2017	2	0.125	0.125	16	0.25	0.063	0.5	0.063	0.063	256	2	1	
KAM833	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2017	2	0.063	0.063	8	0.125	0.063	2	0.063	0.063	1	0.5	128	
KAM834	<i>Aeromonas caviae</i>	2018	2	0.125	0.125	0.5	0.25	0.063	0.25	0.063	0.063	8	1	1	
KAM835	<i>Aeromonas caviae</i>	2018	2	0.125	0.125	16	0.25	0.063	0.25	0.063	0.063	64	1	1	
KAM836	<i>Aeromonas caviae</i>	2018	2	0.125	0.125	2	0.25	0.063	0.25	0.063	0.063	2	1	1	
KAM837	<i>Aeromonas dhakensis</i>	2018	1	0.25	0.25	16	0.125	0.063	2	0.125	0.063	2	1	>256	
KAM838	<i>Aeromonas dhakensis</i>	2018	>256	>256	>256	>256	128	8	8	2	0.063	2	4	>256	
KAM839	<i>Aeromonas dhakensis</i>	2018	>256	>256	>256	>256	128	8	8	4	0.063	2	4	>256	
KAM840	<i>Aeromonas dhakensis</i>	2018	>256	>256	>256	>256	128	8	4	2	0.063	2	4	64	
KAM841	<i>Aeromonas veronii</i>	2019	2	0.063	0.063	0.25	0.063	0.063	2	0.063	0.063	2	1	2	
KAM842	<i>Aeromonas veronii</i>	2019	1	0.063	0.063	0.25	0.063	0.063	4	0.063	0.063	2	4	2	
KAM843	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2019	1	0.125	0.063	8	0.125	0.063	2	0.125	0.5	0.5	1	>256	
KAM844	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2019	1	0.125	0.25	8	0.125	0.063	1	0.063	0.063	0.5	0.5	16	
KAM845	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2019	2	0.063	0.063	8	0.125	0.063	2	0.063	0.063	0.5	4	1	
KAM846	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2019	2	0.063	0.125	8	0.125	0.063	0.5	0.063	0.063	0.5	0.5	256	
KAM847	<i>Aeromonas caviae</i>	2019	2	0.125	0.25	>256	0.125	0.063	0.5	0.063	0.063	8	1	1	
KAM848	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2020	2	0.125	0.25	16	1	0.25	2	0.25	4	4	4	1	
KAM849	<i>Aeromonas caviae</i>	2020	4	0.25	0.5	>256	0.5	0.063	0.5	0.063	0.063	32	1	2	
KAM850	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2020	2	0.063	0.063	8	0.063	0.063	2	0.063	0.063	0.5	1	8	
KAM851	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>ranae</i>	2020	4	0.063	0.063	8	0.125	0.063	2	0.063	0.063	0.5	0.5	4	
KAM852	<i>Aeromonas caviae</i>	2021	1	0.125	0.125	256	0.125	0.063	0.5	0.063	0.063	64	4	1	
KAM853	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2021	1	0.063	0.125	8	0.125	0.063	0.25	0.063	0.063	2	1	4	
KAM854	<i>Aeromonas caviae</i>	2021	1	0.063	0.125	4	0.125	0.063	0.25	0.063	0.063	128	1	1	

課題 2) GES-24 型カルバペネマーゼ蔓延に至るルートの解明

- ① 臨床由来 *Aeromonas* 属 62 株を次世代シーケンス解析にて網羅的遺伝子解析を行なった。その結果、多くの菌株で *Aeromonas* 属が染色体性に保有しているクラス B β -ラクタマーゼ遺伝子である *bla*_{CphA} やクラス C β -ラクタマーゼ遺伝子である *bla*_{MOX}などを保有していた一方で、病院排水由来株が多く保有している IMP-1 型カルバペネマーゼや GES-24 型カルバペネマーゼなどの獲得性カルバペネマーゼ遺伝子を保有している株は確認されなかった。また、いくつかの株ではテトラサイクリン系薬の耐性に関与する遺伝子である *tet* や、コリスチン耐性に関与する遺伝子である *mcr-3* など、他系統の抗菌薬耐性に関与する遺伝子を保有する株が確認された。また、臨床由来 *Aeromonas* 属の多くは新規 ST である事が明らかになった (表 3)。
- ② 病院排水由来 GES-24 型カルバペネマーゼ産生菌のもつ GES-24 型カルバペネマーゼ陽性 IncP-6 プラスミドを比較解析したところ、採水日が異なる異種菌 (*Aeromonas caviae*, *Klebsiella quasipneumoniae*, *Citrobacter braakii*) が同一のプラスミドを有していることが明らかになった。さらに、NCBI データベースに登録されている類似のプラスミドとの比較解析および一塩基多型解析を行ったところ、日本各地の環境で同様の特徴を持つプラスミドが検出されていることが明らかになり、さらにそれらのプラスミドには地域性があることが明らかになった。これらの結果から、IncP-6 プラスミドに媒介される GES-24 型カルバペネマーゼにより耐性を獲得した病原性細菌が臨床現場において今後出現することが予測されることから、今後の動向に注意が必要であるだろう。
- ③ 臨床由来 *Aeromonas* 属株のうち、任意の 10 株を病院排水由来 *Aeromonas* 属 52 株と共に系統樹解析を行なった。その結果、臨床由来株のうちのいくつかの株は病院排水由来株と近縁な株が存在することが明らかになった (図 2)。課題 2)-①の結果より、臨床由来株からは病院排水由来株が多く保有している IMP-1 型カルバペネマーゼや GES-24 型カルバペネマーゼなどの獲得性カルバペネマーゼ遺伝子を保有している株は確認されなかったことから、臨床由来 *Aeromonas* 属株は病院排水などの環境中に流入した際に、環境中に存在する *Aeromonas* 属や他菌種からカルバペネマーゼ遺伝子などの臨床上重要な薬剤耐性遺伝子を譲り受け耐性化するリスクが示唆された。

表3. 臨床由来 *Aeromonas* 属の次世代シーケンス解析による遺伝子的特徴

Isolate	Species	Year	MLST	Genotype	Phasmid
KAM703	<i>Aeromonas veronii</i>	2004	novel S71	sdslA, ampS, catB8, gdhA4, qacE, sul1, tet(A)	None
KAM784	<i>Aeromonas veronii</i>	2004	novel S72	ampS, blaCEPH-3, tet(E)	None
KAM795	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2005	novel S73	ampS, cpbA1	None
KAM796	<i>Aeromonas caviae</i>	2005	novel S74	blaMOX-6	repCluster1068
KAM797	<i>Aeromonas caviae</i>	2005	novel S75	blaMOX-6	None
KAM798	<i>Aeromonas caviae</i>	2005	novel S76	blaMOX-5	None
KAM799	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2006	novel S77	ampS, mshI	None
KAM800	<i>Aeromonas enteropneustes</i>	2007	novel S78	ampS, blaTR	None
KAM801	<i>Aeromonas caviae</i>	2007	novel S79	sdslA1, blaMOX-6, cat, mcr-3.15, mcr-3.18, mcr-3.9, tetA, tetC1	None
KAM802	<i>Aeromonas veronii</i>	2007	643	ampS, blaTR, mcr-3.17, mcr-3.24, tet(E)	None
KAM803	<i>Aeromonas veronii</i>	2007	novel S710	ampS, blaCEPH-3, tet(E)	None
KAM804	<i>Aeromonas enteropneustes</i>	2008	novel S711	blaTR	None
KAM805	<i>Aeromonas media</i>	2008	novel S712	None	None
KAM806	<i>Aeromonas veronii</i>	2009	novel S713	ampS, cpbA1	None
KAM807	<i>Aeromonas veronii</i>	2010	657	ampS, cpbA1, mcr-3.6, mcr-3.7, tet(E)	None
KAM808	<i>Aeromonas veronii</i>	2010	novel S714	ampS, blaCEPH-3	None
KAM809	<i>Aeromonas veronii</i>	2011	novel S715	ampS, cpbA4	None
KAM810	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2011	novel S716	ampS, cpbA4	None
KAM811	<i>Aeromonas enteropneustes</i>	2012	novel S717	blaTR	None
KAM812	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2012	novel S718	ampS, cpbA2	None
KAM813	<i>Aeromonas veronii</i>	2013	625	ampS, cpbA4	None
KAM814	<i>Aeromonas veronii</i>	2013	novel S719	ampS, cpbA1	None
KAM815	<i>Aeromonas caviae</i>	2014	novel S720	blaMOX-6	None
KAM816	<i>Aeromonas dhakensis</i>	2015	1542	ampS, cpbA7	repCluster2020
KAM817	<i>Aeromonas caviae</i>	2015	novel S722	blaMOX-6	repCluster2022
KAM818	<i>Aeromonas veronii</i>	2015	novel S723	ampS, cpbA4	None
KAM819	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2015	novel S724	ampS, cpbA1	None
KAM820	<i>Aeromonas veronii</i>	2015	novel S725	ampS, blaCEPH-3	None
KAM821	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2015	novel S726	ampS, mshI	None
KAM822	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2016	novel S727	ampS, mshI	repCluster2022, repCluster2023
KAM823	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2016	novel S728	ampS, cpbA2	repCluster2022
KAM824	<i>Aeromonas caviae</i>	2016	novel S729	blaMOX-6	None
KAM825	<i>Aeromonas caviae</i>	2017	459	ampS, cpbA7	None
KAM826	<i>Aeromonas veronii</i>	2017	novel S730	blaMOX-6	None
KAM827	<i>Aeromonas veronii</i>	2017	novel S731	ampS, cpbA2	None
KAM828	<i>Aeromonas veronii</i>	2017	novel S732	ampS, cpbA2	None
KAM829	<i>Aeromonas veronii</i>	2017	novel S733	ampS, cpbA1	None
KAM830	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2017	novel S734	ampS, cpbA7	None
KAM831	<i>Aeromonas caviae</i>	2017	novel S735	blaMOX-6, dhA15, qacE, sul1	None
KAM832	<i>Aeromonas caviae</i>	2017	novel S736	ampS, cpbA6	None
KAM833	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2017	novel S737	ampS, mshI	None
KAM834	<i>Aeromonas caviae</i>	2018	novel S738	blaMOX-7	None
KAM835	<i>Aeromonas caviae</i>	2018	novel S739	blaMOX-6	None
KAM836	<i>Aeromonas caviae</i>	2018	novel S740	blaMOX-6	repCluster2023, repCluster2023, repCluster2023
KAM837	<i>Aeromonas dhakensis</i>	2018	novel S741	ampS, mshI, tet(E)	None
KAM838	<i>Aeromonas dhakensis</i>	2018	novel S742	ampS, tet(E)	None
KAM839	<i>Aeromonas dhakensis</i>	2018	novel S743	ampS, mshI, tet(E)	None
KAM840	<i>Aeromonas dhakensis</i>	2018	novel S744	ampS, mshI, tet(E)	None
KAM841	<i>Aeromonas veronii</i>	2018	novel S745	ampS, blaCEPH-3	None
KAM842	<i>Aeromonas veronii</i>	2018	novel S746	ampS, cpbA7	None
KAM843	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2019	novel S747	ampS, cpbA1	None
KAM844	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2019	novel S748	ampS, cpbA2	None
KAM845	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2019	1177	ampS, mshI	repCluster2021
KAM846	<i>Aeromonas hydrophila</i>	2019	novel S750	ampS, mshI	repCluster2022, repCluster2022
KAM847	<i>Aeromonas caviae</i>	2019	novel S751	ampS, cpbA1	None
KAM848	<i>Aeromonas hydrophila</i> subsp. <i>hydrophila</i>	2020	novel S752	ampS, cpbA1	repCluster2020, repCluster2020



—:臨床分離株

図2. 臨床由来 *Aeromonas* 属株と病院排水由来 *Aeromonas* 属株の系統解析による遺伝的背景の比較

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
--	---------------------------	-----------------------	----

7 . 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------