



Title	Antibiotic Resistance Analysis of Aquatic Environmental and Clinical Pathogenic Bacteria in Zhejiang Province
Author(s)	张, 嵘
Citation	大阪大学, 2012, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/60075
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、大阪大学の博士論文についてをご参照ください。

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

【30】

氏 名	張 嶸 (Zhang Rong)
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬学)
学 位 記 番 号	第 2 5 6 5 0 号
学 位 授 与 年 月 日	平成 24 年 9 月 25 日
学 位 授 与 の 要 件	学位規則第 4 条第 2 項該当
学 位 論 文 名	Antibiotic Resistance Analysis of Aquatic Environmental and Clinical Pathogenic Bacteria in Zhejiang Province (中国浙江省における水環境分離細菌および臨床分離株菌の薬剤耐性に関する研究)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 那 須 正 夫 (副査) 教 授 高 木 達 也 教 授 平 田 収 正 教 授 堤 康 央

論 文 内 容 の 要 旨

中国においては、経済の発展とともに生活様式が大きく変化し、医療のレベルも向上してきている。これにともない、特に都市部においては抗生物質の使用量が増加しており、その環境および微生物への影響が懸念されている。本研究では、中国浙江省の水環境および患者より分離した細菌の同定を行うとともに、抗生物質感受性について特にキ

ノロン系とβラクタム系の抗生物質に着目し、解析した。浙江省は中国の東岸に位置し、人口4,600万人で、中国国内において経済的に最も発展している地域の一つである。中国国内においても患者一人当たりの薬剤の使用量が多く、抗生物質耐性菌の増加が強く懸念されている。

*Shigella*属は赤痢の原因細菌であり、先進国、途上国を問わず、全世界に広く分布している。しかしながら、先進国と途上国では、優占する*Shigella*属の細菌の種類が異なることが知られている。そこでまず、浙江省における*Shigella*属の臨床分離株について、その種の経時変化と抗生物質耐性、基質特異性拡張型βラクタマーゼ (Extended-spectrum β-lactamase: ESBL) の型を明らかにした。その結果、*S. flexneri*の分離率は2003年以後毎年下がり、2009年には 31%に減少したのに対し、*S. sonnei*は2000年から2003年の間の分離率は50%以下で、2009年には69%に上昇したことがわかった。すなわち、2005年までは*S. flexneri*が分離される割合が高かったのに対し、2006年以降は*S. sonnei*の分離率が高くなった。*S. sonnei*は途上国よりも先進国で分離されやすいことから、浙江省の経済の発展にともなって、分離される*Shigella*属の細菌の種も変化したものであると考えられた。また分離した*Shigella*属の細菌について、抗生物質感受性を確認したところ、アンピシリンやゲンタマイシンに耐性をもつ株が96%存在した一方、シプロフロキサシンやメロペネム等に対する感受性が高かった。また分離した*S. flexneri* 2株はESBLのCTX-M-14型であった。*S. sonnei* 8株のうち3株はESBLのCTX-M-14型であり、5株はCTX-M-15型であった。これまでCTX-M-15型の*S. sonnei*は中国国内では見つかっておらず、今回の研究が最初の検出例となった。

次に、水環境から分離した細菌と臨床分離株について、抗生物質感受性および耐性遺伝子について解析した。まず分離株の属種について、2008年から2009年に浙江省杭州市内の河川や湖などの十か所の淡水環境から分離された細菌種に大きな違いは無く、最も多かったのは*Aeromonas*属の細菌であり、2008年と2009年の分離率はそれぞれ27%と29%であった。また、これまでヨーロッパ以外では検出されていない*qnrS2*遺伝子を保有する*Aeromonas*属の細菌が検出された。水環境からの腸内細菌科 (*Enterobacteriaceae*) の分離率はそれぞれ40%から50%であり、*Citrobacter*属と*Escherichia coli*が最も多く分離された。一方、患者より分離された細菌の中で一番多く分離された腸内細菌科の細菌は*E. coli* と*Klebsiella pneumoniae*であった。水環境から分離された*Citrobacter freundii*の50%以上、臨床から分離された*C. freundii*の60%以上が*qnrB*遺伝子を保有していた。*C. freundii*については、水環境分離株および臨床分離株のいずれにおいても、*qnrB*遺伝子の中では*qnrB6*、*qnrB8*および*qnrB9*をもつ株が多く存在しており、プラスミド上の遺伝子配列も近似していたことから、環境中のキノロン耐性菌と臨床で分離されるキノロン耐性菌の間でのプラスミドを介した耐性遺伝子の伝播が示唆された。

最後に、浙江省において臨床から分離される腸内細菌の抗生物質感受性の経時変化について、2000年から2009年にかけて調査した。中国国内では腸内細菌が臨床から最も多く分離されており、臨床で分離されるグラム陰性菌の52%が腸内細菌である。中でもESBLを産生する腸内細菌が問題化しており、アミノグリコシド系とフルオロキノロン系に対する多剤耐性を有していることが多い。そのため、よりスペクトルの広いカルバペネムが多く使用されてきており、カルバペネム耐性の腸内細菌が今後、問題となる可能性が考えられる。そこで、浙江省の10地域・15病院を対象に、臨床分離株の種類とその抗生物質感受性を調査した。その結果、腸内細菌では*E. coli*と*K. pneumoniae*の分離頻度が高かった。2000年から2004年までは*K. pneumoniae*よりも*E. coli*の分離頻度が高かったが、2005年から2009年は*E. coli*よりも

*K. pneumonia*の分離頻度が高くなった。また*Serratia*属の細菌の分離頻度が経年的に高くなった。分離株の抗生物質耐性については、*K. pneumonia*と*E. coli*についてESBLを産生する株の割合が、調査期間を通じて増加傾向にあった。セフトロサドリンに対する耐性も調査期間を通じて増加傾向にあり、セフトラジウムに対する耐性は*K. pneumonia*では24%から69%に、*E. coli*では5.5%から50%に急増した。*Serratia*属の細菌のカルバペネム耐性は2005年から2007年の間に50%以上に増加し、耐性*Serratia*属菌の分離頻度は杭州市で高かった。カルバペネム耐性菌分離頻度は、農業地域に比べて経済の発展している都市部や沿岸部において高くなった。これは経済の発展している地域でのカルバペネム使用量の増加が影響しているものと考えられた。

本研究では、中国浙江省を対象に、臨床分離株および淡水環境から分離した細菌について、その同定を行うとともに抗生物質感受性を調査した。その結果、抗生物質耐性を有する細菌が水環境からも比較的高い割合で分離され、臨床分離株と淡水環境分離株のキノロン耐性遺伝子やESBL遺伝子が高い相同性をもっていたことから、プラスミドを介した伝播が考えられた。臨床分離株においてはこれまで中国国内で見つかっていない耐性菌が検出された。また、2000年頃よりカルバペネム耐性の腸内細菌が増加しており、特に経済発展の著しい地域で顕著であることがわかった。これはカルバペネムをはじめとする抗生物質使用量の増加を反映するものであり、今後、中国においては抗生物質のより適切な使用を進めていく必要があることを強く示す結果である。

論文審査の結果の要旨

世界の様々な地域では、経済の発展とともに生活様式も大きく変化し、医療のレベルも向上している。これにともない抗生物質の使用量も増加していることから、その微生物および生態系に及ぼす影響を明らかにし、新たな耐性菌の出現やその分布の拡大等を抑制することが重要である。

本研究は、中国国内において経済的に最も発展している地域の一つである浙江省を対象として、臨床試料および水環境から分離した細菌について、その同定を行うとともに、抗生物質感受性を詳細に調査研究したものである。その結果、抗生物質耐性菌が水環境からも高い割合で分離されること、また臨床分離株と水環境分離株のキノロン耐性遺伝子やESBL遺伝子が高い相同性をもっていることを明らかにした。さらにこれらの結果をもとに、プラスミドを介した臨床株から環境中の細菌への耐性遺伝子の伝播を考察した。臨床試料からは、これまでに中国国内で見つかっていない耐性遺伝子をもつ細菌を分離するとともに、浙江省では2000年頃からカルバペネム耐性をもつ腸内細菌が増加していること、この傾向が特に沿岸部等の経済発展の著しい地域で顕著であることを明らかにした。

以上のように本論文は、中国・浙江省における抗生物質耐性菌の臨床・環境内における動態を経年的に解析したものであり、抗生物質の適切な使用の重要性を環境微生物学の視点から提示するものであることから、博士（薬学）の学位に値するものである。