

## 広島市で分離された赤痢菌の薬剤耐性遺伝子解析

生物科学部

### はじめに

赤痢菌(*Shigella*)は、アジアやアフリカだけでなく米国などの先進国においても主要な細菌性腸管感染症の原因菌となっている。わが国においても海外からの輸入感染症としてだけでなく国内感染事例としての発症もみられる重要な感染症で、感染症法では3類感染症に指定されている。広島市においても毎年発症者およびその接触者の検査が複数例行われる感染症菌かつ食中毒細菌である。

一方、赤痢菌の抗生物質等の薬剤に対する耐性状況に関する情報は、患者の治療ならびに公衆衛生的見地から重要である。この観点から、本市で分離される赤痢菌株についての薬剤耐性傾向を把握することを目的として、従前より6薬剤に対する薬剤耐性傾向を調べているが、今回は本菌の薬剤耐性に関する詳細を把握することを目的として、耐性遺伝子の保有状況を広島大学大学院食品衛生学教室との共同により調べたので報告する。

### 方法

#### 1 分離菌株

2000年から2006年までに広島市において分離された下痢症患者由来の赤痢菌株24株を供試した。

#### 2 薬剤感受性試験

アンピシリン(ABPC)、ストレプトマイシン(SM)、カナマイシン(KM)、ナリジクス酸(NA)、テトラサイクリン(TC)、クロラムフェニコール(CP)、の6薬剤について、NCCLS法に準拠し、センシディスク(BBL)を用いたKB法により試験した。

#### 3 薬剤耐性遺伝子解析

菌株の解析は、広島大学大学院生物圏科学研究科食品衛生学教室に依頼して行った。

##### (1) -ラクタマーゼ遺伝子(*bla*)検出

TEM, SHV, OXA, CTX-M, CMY, GESの各*bla*遺伝子群を個別のPCR法で増幅検出した。

##### (2) Integron 検出

class 1およびclass 2 integronの有無を各classの保存領域に特異的なprimerを用いたPCR法で検出した。

##### (3)塩基配列解析

PCR増幅DNAの両鎖塩基配列をダイレクトシ

ーケンス法により決定し、薬剤耐性遺伝子とその並びを同定した。

### 結果

#### 1 ヒト下痢症由来赤痢菌株の薬剤耐性

*S. sonnei*の薬剤耐性パターンはSM/TC/TMP, SM/TC/TMP/NA, SM/TC/TMP/AM/NA/CPがみられた。*S. flexneri*はSM/TC, SM/TC/TMP/AM, SM/TC/TMP/AM/NA/CP, SM/KM/TC/TMP/AM/NA/CPが、*S. boydii*はSM/TCが認められた。

#### 2 薬剤耐性遺伝子の解析結果

本市分離赤痢菌の耐性遺伝子の解析結果を表に示した。2000年分離のSM/TC/TMP耐性*S. sonnei*がclass 2 integronを保有しており、その中にtrimethoprim, streptothricin, streptomycin/spectinomycin耐性遺伝子の[*dfrA1-sat1-aadA1*]遺伝子カセットが組み込まれた菌株が分離された。2001年には、国内感染と考えられるSM/TC/TMP/ABPC/CP耐性*S. flexneri*分離株から、同様の遺伝子カセットを持つclass 2 integronに加えてESBL型の-lactamase遺伝子(*bla*<sub>OXA-30</sub>)が検出されたが、同年カンボジアならびにペルーへの海外渡航歴のある下痢症患者2名から分離された*S. flexneri*からも*bla*<sub>OXA-30</sub>保有株が分離された。2002年は初めてclass 1 integron(*estX-aadA1*)保有株が分離された。2004年にはclass 2 integron(*dfrA1-aadA1*)保有株が分離され、また、*bla*<sub>OXA-30</sub>保有*S. flexneri*1株が分離された。2006年分離株もclass 2 integron(*dfrA1-sat1-aadA1*)を保有した。

以上の結果、広島市において海外および国内感染と考えられた赤痢菌は多剤耐性の菌株が多く、integronとしてclass 2 integron(*dfrA1-sat1-aadA1*)を保有するものが多く認められた。また、*S. flexneri*に*bla*<sub>OXA-30</sub>保有が特徴的にみられたことが注目された。

### 謝辞

菌株を分離、分与頂きました各医療機関ならびに検査機関の諸先生方に深謝いたします。また、共同研究として、各種*bla*遺伝子およびインテグロン遺伝子の検出、ならびに薬剤耐性遺伝子カセットの塩基配列解析を実施して頂いた広島大学大

学院生物圏科学研究科食品衛生学教室島本整先生  
および学生の方々に対し感謝いたします。

文 献

- 1) Ashraf M. Ahmed et al : Genetic characteriza-  
tion of multidrug resistance in Shigella spp. from  
Japan, J Med Microbiol, 55, 1685-1691, 2006

表 広島市分離赤痢菌の薬剤耐性遺伝子解析結果

No	菌株 No.	菌種	Integron	bla	薬剤耐性	渡航先
1	sh00005	S.sonnei	Class 2 (dfrA1-sat1-aadA1)	-	SM,TC,TMP	タイ
2	sh00006	S.flexneri 3a	-	-	SM,TC	タイ他
3	sh00007	S.boydii 2	-	-	SM,TC	モロッコ他
4	sh00008	S.sonnei	Class 2 (dfrA1-sat1-aadA1)	-	SM,TC,TMP	国内
5	sh01002	S.flexneri 2a	Class 2 (dfrA1-sat1-aadA1)	OXA30	SM,TC,TMP,AM,CP	国内
6	sh01003	S.sonnei	Class 2 (dfrA1-sat1-aadA1)	-	SM,TMP	国内
7	sh01005	S.flexneri 1b	-	OXA30	SM,KM,TC,TMP	カンボジア
8	sh01006	S.flexneri 1b	-	OXA30	SM,TC,AM	ペルー
9	sh01007	S.sonnei	Class 2 (dfrA1-sat1-aadA1)	-	SM,TC,TMP,NA	国内
10	sh01008	S.sonnei	Class 2 (dfrA1-sat1-aadA1)	-	SM,TC,TMP,NA	国内
11	sh01009	S.sonnei	Class 2 (dfrA1-sat1-aadA1)	-	SM,TC,TMP,NA	国内
12	sh01010	S.sonnei	Class 2 (dfrA1-sat1-aadA1)	-	SM,TC,TMP,NA	国内
13	sh01012	S.sonnei	Class 2 (dfrA1-sat1-aadA1)	-	SM,TC,TMP,NA	国内
14	sh02001	S.sonnei	Class 2 (dfrA1-sat1-aadA1)	-	SM,TC,TMP	インドネシア
15	sh02002	S.sonnei	Class 1 (estX-aadA1)	-	SM,TMP,AM,CP	フィリピン
16	sh02003	S.sonnei	-	-	SM	国内
17	sh03001	S.sonnei	Class 2 (dfrA1-sat1-aadA1)	-	SM,TC,TMP	中央アジア
18	sh03002	S.sonnei	Class 2 (dfrA1-sat1-aadA1)	-	SM,TC,TMP	国内
19	sh04005	S.sonnei	Class 2 (dfrA1-sat1)	-	SM,TC,TMP,NA	ネパール
20	sh04006	S.flexneri 2a	Class 2 (dfrA1-sat1-aadA1)	OXA30	SM,TC,TMP,AM,NA,CP	中国
21	sh04010	S.sonnei	Class 2 (dfrA1-sat1-aadA1)	-	SM,TC,TMP,AM,NA,CP	中国
22	Sh06001	S.sonnei	Class 2 (dfrA1-sat1-aadA1)	-	SM	シンガポール
23	Sh06002	S.sonnei	Class 2 (dfrA1-sat1-aadA1)	-	SM	シンガポール
24	Sh06004	S. flexneri	Class 2 (dfrA1-sat1-aadA1)	-	SM,TC	韓国