

[短 報]

神奈川県内中小規模医療施設から分離された CTX-M 型 β -lactamase 産生 *Escherichia coli* の疫学調査

除村 萌¹⁾・蓮沼裕也¹⁾²⁾・石松 尚³⁾・角田拓也⁴⁾・徳岡由一¹⁾²⁾

¹⁾ 桐蔭横浜大学大学院工学研究科医用工学専攻

²⁾ 桐蔭横浜大学医用工学部生命医工学科

³⁾ (株) 保健科学研究所感染症分析センター

⁴⁾ (株) 保健科学研究所検査本部

(平成 30 年 2 月 7 日受付, 平成 30 年 6 月 29 日受理)

本研究では, 神奈川県内の病床数 300 床以下の中小規模病院から臨床検査センターを経て分離された extended-spectrum β -lactamase (ESBL) 産生 *Escherichia coli* 207 株を用いて, 薬剤感受性および分子疫学調査を実施した。全ての株が IPM に感性を示し, 一方で CPF_X の非感性率は 93% であった。地域別では, CAZ の非感性率は湘南地区が 68% と最も高く, 一方, 相模原地区は他の地域より CMZ, CAZ および CFPM の非感性率が低い傾向だった。本研究により, 単一県内であっても地域によって薬剤感受性データが異なることが示された。また, ESBL 遺伝子は CTX-M-1 group では CTX-M-15 型が 51 株, CTX-M-9 group では CTX-M-27 型が 64 株でそれぞれ最も優位であった。さらに CAZ に耐性を示す D240 G のアミノ酸置換を保有する遺伝子型 (CTX-M-15, -55, -27) は全体のうち 123 株 (59%) だった。本研究は院内に細菌検査室を有しない医療施設を含めた神奈川県内および隣接地域へ疫学情報を提供し, 地域を包括した感染制御に寄与すると考えられる。

Key words: ESBL, *Escherichia coli*, サーベイランス, 中小規模病院, 神奈川県

序 文

薬剤耐性菌の拡散は, 医療施設における患者の平均在院日数の増加や治療難渋の原因となるだけでなく, 医療経済を圧迫する要因の一つとなる。さらに, 医療施設の機能分化が進み, 施設間の患者往来が活発になることは, 地域内での耐性菌拡散の潜在的リスクとなる。薬剤耐性菌の拡散の抑制は時代の要請であり, そのための地域を包括した感染制御が求められている¹⁾。しかし, 中小規模病院には細菌検査室がない施設も多く, そのような施設の多くは臨床検査センターにおいて細菌検査を実施している²⁾。平成 27 年度の横浜市内における 300 床未満の病院の施設数は全体の 78% を占め³⁾, その多くが臨床検査センターに細菌検査を依頼している。細菌検査室を持たない中小規模病院の耐性菌サーベイランスを臨床検査センターと連携して行うことは, 地域の感染制御に有益な情報を与え, 耐性菌蔓延防止および抗菌薬適正使用の手助けになると考えられる。

現在, 広域 β -ラクタム系抗菌薬である第 3~4 世代広域セファロスポリン系やカルバペネム系抗菌薬の耐性菌が世界的な問題となっている⁴⁾。前者は, 基質拡張型 β -ラクタマーゼ (extended-spectrum β -lactamase; ESBL) 産生菌や plasmid

mediated AmpC (pAmpC) 産生菌として知られ, 後者はカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*; CRE) として知られている。これらの多くはプラスミド上に遺伝子を有することから, 遺伝子を多くの菌種間に拡散・伝播し, 院内感染のみならず市中感染症の起因菌としても重要視されつつある。実際, 本邦においても, ESBL 産生菌は院内感染症からの分離にとどまらず, 市中への拡散も報告されている⁵⁾。そのため, 地域の感染制御を充実させる上で検出状況を把握することは重要である。

また, 厚生労働省院内感染サーベイランス事業 (JANIS) の調査によると, 第 3 世代セファロスポリン耐性 *E. coli* は, 2012 年~2016 年の 5 年間でわずかではあるが増加傾向にあり, *E. coli* における広域 β -ラクタム系抗菌薬耐性化の進行が示唆されている⁶⁾。さらに, ESBL 産生菌の増加はカルバペネム系抗菌薬の使用量の増加に繋がり, CRE の感染拡大に繋がる可能性がある。これらのことから, ESBL 産生菌の薬剤感受性結果および分子疫学情報は, 治療に適切な抗菌薬を選定する上で重要な指標となる。

本研究では, 神奈川県における ESBL 産生 *E. coli* の疫学情報を横断的かつ地域限定的に収集することを目的に, 神奈川県内の病床数 300 床以下の中小規模病院から臨床検査センターを経て分離された ESBL 産生 *E. coli* を用いて, 薬剤感受性および分子疫学調査を実施した。

材料と方法

供試菌株として, 2016 年 2 月~10 月に神奈川県内の 300 床以下の医療施設から臨床検査センターを経て分離された

著者連絡先: (〒225-8503) 神奈川県横浜市青葉区鉄町 1614 番地
桐蔭横浜大学医用工学部生命医工学科
蓮沼裕也
TEL: 045-972-5881
FAX: 045-972-5972
E-mail: hyuya@toin.ac.jp

Table 1. Resistance rate and MIC parameter

Antimicrobial agents	Resistance rate (%)	MIC Range ($\mu\text{g}/\text{mL}$)		MIC ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	MIC ₉₀ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
		Min	Max		
AMPC/CVA	25	1	>256	8	16
CMZ	5	≤ 0.5	>32	2	8
CAZ	50	0.094	>256	4	32
CFPM	31	0.016	>256	4	64
IPM	0	0.064	0.38	0.13	0.25
CPFX	93	0.38	>32	>32	>32
GM	26	≤ 0.5	>16	1	>16

AMPC/CVA: Amoxicillin/Clavulanic acid, CMZ: Cefmetazole, CAZ: Ceftazidime, CFPM: Cefepime, IPM: Imipenem, CPFX: Ciprofloxacin, and GM: Gentamicin

ESBL 産生 *E. coli* 207 株を用いた。菌株に付随する基本情報は、検査材料、地域、分離された施設の病床数、診療科および入院/外来患者別とした。単一施設における同一患者から分離された菌株の重複は予め省いているが、患者転院により分離施設が異なる場合、同一患者から分離された菌株を含む可能性がある。

薬剤感受性試験に用いる供試菌株はカジトン培地（栄研化学）にて保存された供試菌株を、 $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ の Cefotaxime (CTX, Sigma) 含有ドリガルスキー改良培地 (BTB, 栄研化学) にて分離し⁷⁾、さらに単一コロニーを $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ の CTX 含有 BTB にて純培養した。純培養した菌株は、1 mL 滅菌生理食塩水にて McFarland No.0.5 の濁度に調整後、ミュラーヒントンス寒天培地 (MHA, 栄研化学) に滅菌綿棒を用いて 3 方向から均一に塗布した。その後、 $0.016\text{--}256 \mu\text{g}/\text{mL}$ の Amoxicillin/Clavulanic acid (AMPC/CVA), $0.016\text{--}256 \mu\text{g}/\text{mL}$ の Cefepime (CFPM), $0.002\text{--}32 \mu\text{g}/\text{mL}$ の Imipenem (IPM) の計 3 種類の抗菌薬含有 Etest ストリップ (シスメックス・ビオメリユー株式会社) を MHA に配置した。Cefmetazole (CMZ, Sigma), Ceftazidime (CAZ, Sigma), Ciprofloxacin (CPFX, 和光純薬工業株式会社), Gentamicin (GM, 和光純薬工業株式会社) の薬剤感受性試験は、寒天平板希釈法にて標準法に則って実施した。また、Quality Control 株として *Escherichia coli* ATCC 25922 を用いた。薬剤感受性の判定は Clinical and Laboratory Standards Institute のカテゴリ (S, I, R) に準拠して行った⁸⁾。

$2 \mu\text{g}/\text{mL}$ の CTX 含有 BTB に分離した供試菌株を、 $2 \mu\text{g}/\text{mL}$ の CTX 含有 LB ブイヨン (ナカライテスク株式会社) にて増菌後、DNeasy Blood & Tissue キット (QIAGEN) を用いて DNA を抽出した。ESBL 遺伝子型別⁹⁾および CTX-M group 型別¹⁰⁾は、マルチプレックス PCR 法にて実施した。PCR の反応試薬として *Ex taq* (Takara) を使用した。ESBL 遺伝子型別 PCR は、 94°C で 2 分間熱変性後、 94°C で 30 秒間、 60°C で 30 秒間および 72°C で 2 分間を 1 サイクルとして 30 サイクル行い、最後に 72°C で 2 分間伸長反応を行った。さらに、ESBL 遺伝子型別で CTX-M 型陽性と判定された株に対して CTX-M group 型別 PCR を実施した。PCR 試薬条件は、 94°C で 2 分間熱変性後、 94°C で 30 秒間、 57°C で 30 秒間および 72°C で 1 分間を 1 サイクルとして 30 サイクル行い、最後に 72°C で 2 分間伸長反応を行った。いずれも、

SeaKem LE Agarose (ロンザジャパン株式会社) を用いて 1.8% アガロースゲルを作製し、100V で 40 分間電気泳動後、エチジウムブロマイド染色を行い、遺伝子増幅産物を UV で検出した。さらに CTX-M-1 group および CTX-M-9 group 陽性株に対して、種々の特異的プライマー^{10)~12)}を用いて、抽出 DNA を増幅した。また、シークエンス反応には、ABI PRISM BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kits (Thermo) を用いた。さらに、シークエンス反応溶液を、Sephadex G-75 (GE Healthcare Life Sciences) で精製後、3130 xl Genetic Analyzer (Applied Biosystems) にて解析した。

結 果

供試菌株 207 菌株が分離された医療施設の内訳は、横浜地区では 117 株 (57%)、川崎地区では 29 株 (14%)、鎌倉地区 (鎌倉市および逗子市) では 27 株 (13%)、湘南地区 (茅ヶ崎市、平塚市および藤沢市) では 22 株 (11%) および相模原地区 (厚木市、海老名市、相模原市および大和市) では 12 株 (6%) であった。検査材料は、泌尿器系が 64%、呼吸器系が 32%、皮膚軟部組織が 4% であった。分離株の由来医療施設の病床数は、100 床未満が 20%、101~200 床が 63%、201~300 床が 16% であった。入院/外来患者別の内訳は、入院患者が 81%、外来患者が 14% あり、不明が 5% であった。

供試菌株 207 株における薬剤感受性試験と MIC パラメータの結果を Table 1 に示す。CAZ および CFPM の非感性率はそれぞれ 50% および 31% であったのに対し、CMZ の非感性率は 5% であった。また、ほとんどの株は CPFX に耐性を示した。一方、全ての株は IPM に感性を示した。神奈川県内および地域別の感受性結果を Fig. 1 に示す。地域別では、CAZ に対する非感性率は湘南地区が最も高く、68% であった。次いで、鎌倉地区で 63%、横浜地区で 50% を示した。さらに、湘南地区では CMZ に対する非感性率も高く、23% であった。一方、川崎地区および相模原地区は、他の地域に比べ、CPFX または GM を除く抗菌薬に対する非感性率が低い傾向となった。

ESBL 型別は 207 株のうち、203 株で CTX-M 型が陽性となった。さらに、その内訳は CTX-M-1 group が 64 株 (31%)、CTX-M-2 group が 6 株 (3%)、CTX-M-9 group が 128 株 (62%) であった。また、複数の CTX-M 型遺伝子が陽性となった株が 5 株あった。TEM 型陽性株は 75 株で、SHV 型

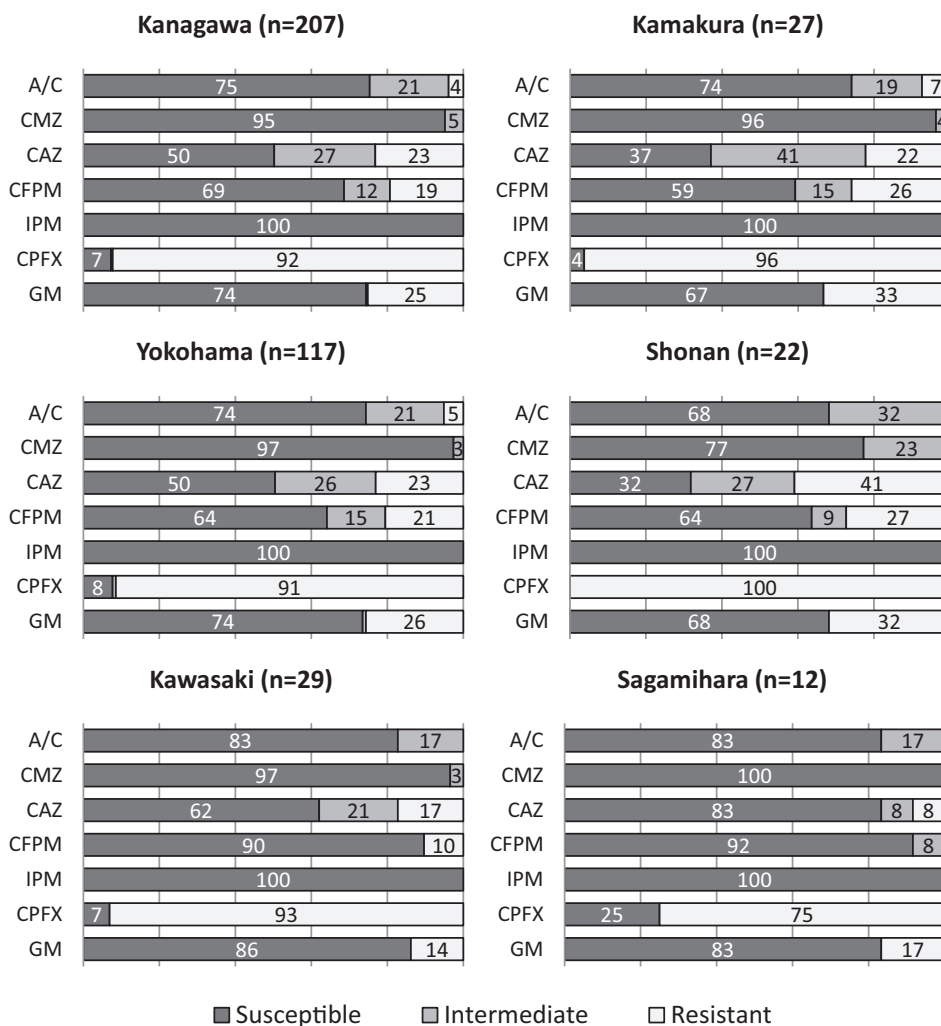


Fig. 1. Antimicrobial susceptibility rate (%) in Kanagawa prefecture and each region

A/C: Amoxicillin/Clavulanic acid, CMZ: Cefmetazole, CAZ: Ceftazidime, CFPM: Cefepime, IPM: Imipenem, CPMX: Ciprofloxacin, and GM: Gentamicin

陽性株は1株であった。さらに、CTX-M型が陰性であった4株のうち、TEM型およびSHV型が陽性となった株が1株あった。TEM型陽性株において、CTX-M-1 groupは26株、CTX-M-2 groupは2株およびCTX-M-9 groupは47株が陽性であった。CTX-M groupの地域別疫学データをFig. 2に示す。神奈川県内全体としてはCTX-M-9 groupが最も多く、62%を占めたが、地域別では、湘南地区のみCTX-M-1 groupが最も優位であり、他の地域とは異なった。さらに川崎地区は最も優位なCTX-M-9 groupが県全体の割合に比べて、83%と高かった。

CTX-M型β-lactamase遺伝子型別の結果をTable 2に示す。シーケンス解析の結果、CTX-M-1 group陽性64株のうちCTX-M-15保有株が51株で最も優位であった。また、CTX-M-9 group陽性128株のうちCTX-M-14保有株が58株、CTX-M-27保有株が64株と多くを占めた。地域別に最も優位であったCTX-M型は、横浜地区ではCTX-M-14 β-lactamase、川崎、鎌倉および相模原地区ではCTX-M-27 β-lactamase、湘南地区ではCTX-M-15 β-lactamaseであった。

考 察

本研究では、神奈川県内の病床数300床以下の中小規模病院を対象に、ESBL産生*E. coli*の疫学情報を横断的かつ地域限定的に収集した。近年の類似調査では、単一施設における報告¹³⁾や総*E. coli*分離株から算出されるESBL保有率についての報告が中心であり¹⁴⁾、短期間で収集された200株以上のESBL菌株に関する調査報告はない。そこで、本研究は一県下において分離菌株の薬剤感受性結果およびCTX-M group遺伝子型が地域によって大きく異なる可能性を示唆する横断的分子疫学的報告である(Fig. 1, 2)。さらに、本研究では臨床検査センターにて分離された菌株を対象としているため、院内に細菌検査室を保有しない神奈川県内および隣接地域の医療施設へ、ESBL産生*E. coli*の疫学情報を提供する。

収集された菌株207株のうち、泌尿器系や呼吸器系検査材料から分離された菌株が多かったことから、ESBL産生*E. coli*は尿路感染症や呼吸器感染症の原因菌として重要であることが推察される。このことは、これまでの報告¹⁵⁾¹⁶⁾と一致

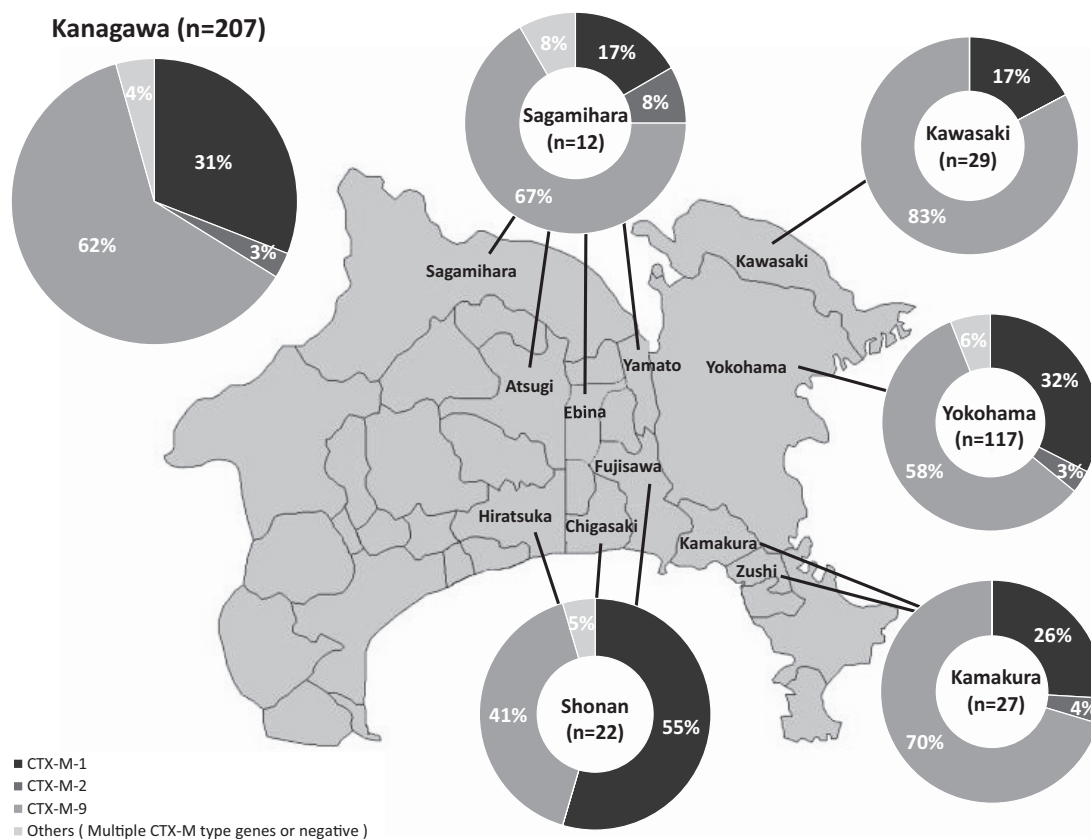


Fig. 2. Geographical data of CTX-M group type

Table 2. Geographical distribution of CTX-M type genes in Kanagawa prefecture

Area	CTX-M-1 group (n = 64)				CTX-M-2 group	CTX-M-9 group (n = 128)				Others	Total
	CTX-M-3	CTX-M-15	CTX-M-55	ND		CTX-M-14	CTX-M-27	CTX-M-65	CTX-M-134		
Yokohama	2	31	5	0	4	38	28	2	0	4	114
Kawasaki	0	5	0	0	0	7	14	0	3	0	29
Kamakura	0	5	2	0	1	8	11	0	0	1	28
Shonan	2	8	1	1	0	3	6	0	0	0	21
Sagami	0	2	0	0	1	2	5	1	0	0	11
Total*	4 (6%)	51 (80%)	8 (13%)	1 (2%)	6	58 (45%)	64 (50%)	3 (2%)	3 (2%)	5	203

*Percent of type for each group

ND: not determined

Others: Multiple CTX-M gene

する。さらに、分離株の14%が外来患者由来であったことから、院内感染のみならず市中感染症の起原菌としての可能性も推察できる。Yong Chong⁵⁾らは2003年~2011年における外来患者のESBL検出率が年々増加し、2011年には外来患者から分離した*E. coli*の14%がESBL産生菌であったと報告している。

ESBL産生菌に対する第一選択薬はカルバペネム系薬である¹⁷⁾。本研究でIPM非感性率が0%であったことはそれを支持し、さらには本研究では薬剤感受性試験を行わなかったmeropenemの感受性率も0%に限りなく近いことが予想される。一方、ESBL産生腸内細菌科細菌に対してセファマイシン系薬であるCMZの有効性が示されており¹⁸⁾、本研究に

においてもCMZに対する非感性率は5%と低かった。また、カルバペネム系薬使用によるCREの感染拡大のリスクを避けるため、CMZ、Faropenem¹⁹⁾等による治療効果について既に報告がなされており、地域毎の薬剤感受性データと合わせてCREの選択や拡散を防ぐための抗菌薬適正使用に有用となる可能性がある。CAZに対する非感性率は横浜地区、鎌倉地区および湘南地区で高かった。これらの地域ではCAZに耐性を示す bla_{CTX-M} 型を保有している株数が多かったことがこの要因であると考えられる (Table 2)。一方、相模原地区はCAZに耐性を示すことの多いCTX-M-15、-27が複数検出されているにもかかわらず、他の地区と比較して、GMを除く抗菌薬に対する非感性率が低かった。これは相模原地

区のみ、抗菌薬の使用状況が異なり *bla*_{CTX-M} 型保有菌株に対する選択圧が低くなっており、さらに神奈川県内における他の地域との医療機関での患者の行き来が少なく、同一菌株の拡散が起こっていない可能性が推察できる。このように、本論文の一つの示唆は、同一県内においても地域によって、薬剤感受性が大きく異なることを示したことである。

一方、本研究の課題は、個々の医療施設や地域の Antimicrobial use density (AUD) と薬剤感受性データとを比較できなかったことである。橋本らは、地域感染制御連携の一環として、地域の AUD とカルバペネム耐性 *Pseudomonas aeruginosa* の検出率とを比較している²⁰⁾。地域毎の薬剤耐性率をより高い精度で比較し、より質の高い地域の耐性菌サーベイランスを実現するためには、各地域における中小規模病院の AUD を算出して医療機関や地域の抗菌薬選択圧について明らかにすることが求められる。また、県内各地区の医療機関より収集された菌株数が 117-12 株と差がある点も本研究の課題の一つである。しかし最も収集株が少ない相模原地区においても、収集された株の検査材料および入院/外来など菌株背景の比率に大きな差はない (data not shown) ことは、上記で述べた薬剤感受性の違いを強く否定するものではないと考えられる。

本邦で分離される ESBL 産生菌の 90% 以上が CTX-M 型遺伝子を保有している。さらに、2000 年頃から CTX-M-9 group が主流となったことが Suzuki らにより報告されている²¹⁾。本研究では、神奈川県内中小規模施設由来 ESBL 産生 *E. coli* の CTX-M 型の割合は、CTX-M-9 group が 62% と半分以上を占め、Suzuki らの報告と同様な傾向を示した。さらに、CAZ を分解できるアミノ酸置換 (D240 G) を保有する CTX-M 型 (CTX-M-15, -55 および -27) ESBL も 61% 検出された。世界的な流行株となっている *E. coli* O25b-B2-ST131 株は CTX-M-15²²⁾、CTX-M-14 および CTX-M-27 を産生し¹³⁾、さらにニューキノロン系薬に対しても耐性を示す。さらには、Y Matsumura らは京都・滋賀の地域における調査で *E. coli* D-ST405 は CPFYX に対して耐性率が 100% で、急性期病院における CTX-M-14 もしくは CTX-M-15 を保有する株の出現と拡散を報告している²²⁾²³⁾。神奈川県内中小規模病院から分離される ESBL 産生 *E. coli* における CPFYX の非感受率は 93% であった。本研究では MLST (Multilocus sequence typing) は実施していないが、この結果から、*bla*_{CTX-M15} を保有した *E. coli* O25b-B2-ST131 の拡散が急性期病院のみならず、中小規模病院にも及んでいることが示唆される。今後、中小規模病院において、*E. coli* O25b-B2-ST131 や ST405 がどのように拡散していくかを明らかにし、大学病院などの地域中核病院における分子疫学データと比較することは、地域における拡散経路の推定とそれに基づく感染制御を充実させていく上で重要である。さらに近年、プラスミド上に *bla*_{CTX-M} 遺伝子とともにニューキノロン系やアミノグリコシド系耐性遺伝子を載せて多剤耐性を示す ESBL 産生菌の存在が報告されている²⁴⁾。Fig. 1 に示すように CPFYX や GM に対して耐性を示す菌株が収集された結果からも、その傾向が認められる。また、主に家畜から分離されていた CTX-M-55 型 ESBL 産生 *E. coli* が²⁵⁾、近年、院内感染²⁶⁾や糞便中の保菌²⁷⁾など、ヒトから分離されたという報告も増えている。本研究

においても CTX-M-55 型は CTX-M-1 group のうち 13% を占めており、今後、その拡散が懸念される。

*bla*_{CTX-M134} 保有株に関しては、Y Matsumura らが国内の急性期病院におけるサーベイランスで 1 株分離しているのみ²⁸⁾で、国内サーベイランスにおいては未だ多く分離されていない。しかしながら中小規模病院を対象としたサーベイランスで検出されたことは、国内に潜在的に定着している可能性を示唆する。海外では、Castanheira らが外科手術後の *bla*_{CTX-M134} 保有 *E. coli* ST131 株 1 株について、感受性プロファイルと接合伝達試験を報告しており、分離株および接合伝達株に対する CAZ の MIC は、それぞれ 4 および 8 μg/mL であった²⁹⁾。結果には示していないが、本研究においても、*bla*_{CTX-M134} 陽性株に対する CAZ の MIC は 1.5-2 μg/mL であった。CTX-M-134 は D240S を有しているが、D240 G の変異を保有して CAZ の MIC が 32->256 μg/mL となる³⁰⁾ CTX-M-15 産生株などに比べると、いずれの研究においても CAZ の MIC は低いことがわかる。これは 240 番目のアミノ酸がアスパラギン酸からセリンへ変異したとしても、ヒドロキシル基残基が存在するため CAZ の MIC の上昇が顕著ではないことに起因していると考えられる。*E. coli* ST131 株が、CAZ の MIC 軽度上昇をもたらす *bla*_{CTX-M134} を保有する報告があることは、新たな CAZ 耐性株の拡散に対する懸念があり、継続的に調査を行う必要がある。

本研究では、単一県内において中小規模医療施設から分離された ESBL 産生 *E. coli* の地域特性を明らかにした。単一県内であっても、地域によって薬剤感受性疫学データは異なることが示された。さらに今後、CTX-M-55 型および CTX-M-134 型 ESBL の出現と拡散が示唆される。同時に、地域の感染制御のために包括的なサーベイランスを実現させるためには、地域中核病院から分離される株との分子疫学的比較を行い、精度の高い耐性菌分離モニタリングと拡散防止に向けたローカルシステムの構築の必要性があると考えられる。

利益相反：申告すべき利益相反なし

文 献

- 1) 刈谷直子, 朝野和典, 磯 博康. 2016. 感染防止対策加算導入後の院内感染対策における地域医療連携の効果. 環境感染誌 31: 24-31.
- 2) 森兼啓太. 2014. 感染対策における地域連携. 日内会誌 103: 2754-2760.
- 3) 平成 27 年横浜市の医療施設. 横浜市健康福祉局 (平成 29 年 4 月発行) <http://www.city.yokohama.lg.jp/kenko/iryou-anzen/iryou-shisetsu/file/h27/27-ikkatsu.pdf> 2017 年 10 月 6 日現在.
- 4) 荒川宜親. 2003. 広域 β-ラクタマーゼの特徴と遺伝的相関. 日臨徴誌 13: 150-158.
- 5) Yong, C, S Shimoda, H Yakushiji, et al. 2013. Community spread of extended-spectrum β-lactamase-producing *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Proteus mirabilis*: a long-term study in Japan. J Med Microbiol 62: 1038-1043.
- 6) 厚生労働省院内感染対策事業サーベイランス. 全体. 院内感

- 染対策サーベイランス 検査部門. CLSI 2012 版. 2015. <https://janis.mhlw.go.jp/report/kensa.html> 2017 年 10 月 6 日現在.
- 7) Polsfuss, S, GV Bloemberg, J Giger, et al. 2012. Evaluation of a diagnostic flow chart for detection and confirmation of extended spectrum β -lactamases (ESBL) in *Enterobacteriaceae*. *Clin Microbiol Infect* 18: 1194-1204.
 - 8) Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 21st informational supplement. M100-S21. CLSI, Wayne, Pa2011.
 - 9) Monstein, HJ, A Ostholm-Balkhed, MV Nilsson, et al. 2007. Multiplex PCR amplification assay for the detection of *bla*SHV, *bla*TEM and *bla*CTX-M genes in *Enterobacteriaceae*. *APMIS* 115: 1400-1408.
 - 10) Neil, W, EJ Fagan, MJ Ellington. 2006. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding CTX-M extended-spectrum β -lactamases. *J Antimicrob Chemother* 57 (1): 154-155.
 - 11) Pitout, JD, A Hossain, ND Hanson. 2004. Phenotypic and Molecular Detection of CTX-M- β -Lactamases Produced by *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. *J Clin Microbiol* 42 (12): 5715-5721.
 - 12) Dallenne, C, A Da Costa, D Decré, et al. 2010. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important β -lactamases in *Enterobacteriaceae*. *J Antimicrob Chemother* 65 (3): 490-495.
 - 13) Yano, H, M Uemura, S Endo, et al. 2013. Molecular Characteristics of Extended-Spectrum β -Lactamases in Clinical Isolates from *Escherichia coli* at a Japanese Tertiary Hospital. *PLoS ONE* 8 (5): e64359.
 - 14) Hara, T, T Sato, T Horiyama, et al. 2015. Prevalence and molecular characterization of CTX-M extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* from 2000 to 2010 in Japan. *Jpn J Antibiot* 68 (2): 75-83.
 - 15) 吉川晃司, 森武潤, 鈴木鑑, 他. 2014. 尿路由来基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ産生大腸菌の検出状況および薬剤感受性の検討. *日化療会誌* 62 (2): 198-203.
 - 16) Cheng, WL, PR Hsueh, CC Lee, et al. 2016. Bacteremic pneumonia caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: Appropriateness of empirical treatment matters. *J Microbiol Immunol Infect* 49: 208-215.
 - 17) Rodríguez-Baño, J, MD Navarro, L Romero, et al. 2006. Bacteremia Due to Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* in the CTX-M Era: A New Clinical Challenge. *Clin Infect Dis* 43 (11): 1407-1414.
 - 18) Fukuchi, T, K Iwata, S Kobayashi, et al. 2016. Cefmetazole for bacteremia caused by ESBL-producing *Enterobacteriaceae* comparing with carbapenems. *BMC Infect Dis* 16 (1): 427.
 - 19) Mushtaq, S, R Hope, M Warner, et al. 2007. Activity of faropenem against cephalosporin-resistant *Enterobacteriaceae*. *J Antimicrob Chemother* 59 (5): 1025-1030.
 - 20) 橋本 治, 宮崎博章, 山口征啓, 他. 2016. 北九州市東部地域における抗菌薬使用密度と耐性菌検出に関するサーベイランス. *環境感染誌* 31 (4): 247-251.
 - 21) Suzuki, S, N Shibata, K Yamane, et al. 2009. Change in the prevalence of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* in Japan by clonal spread. *J Antimicrob Chemother* 63 (1): 72-79.
 - 22) Matsumura, Y, M Yamamoto, M Nagao, et al. 2013. Association of Fluoroquinolone Resistance, Virulence Genes, and IncF Plasmids with Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Sequence Type 131 (ST131) and ST405 Clonal Groups. *Antimicrob Agents Chemother* 57: 4736-4742.
 - 23) Matsumura, Y, M Yamamoto, M Nagao, et al. 2012. Emergence and spread of B2-ST131-O25b, B2-ST131-O16 and D-ST405 clonal groups among extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* in Japan. *J Antimicrob Chemother* 67 (11): 2612-2620.
 - 24) Nicolas-Chanoine, MH, J Blanco, V Leflon-Guibout, et al. 2008. Intercontinental emergence of *Escherichia coli* clone O25: H4-ST131 producing CTX-M-15. *J Antimicrob Chemother* 61 (2): 273-281.
 - 25) Kameyama, M, T Chuma, J Yabata, et al. 2013. Prevalence and Epidemiological Relationship of CMY-2 AmpC β -Lactamase and CTX-M Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Isolates from Broiler Farms in Japan. *J Vet Med Sci* 75 (8): 1009-1015.
 - 26) Kiratisin, P, A Apisarnthanarak, P Saifon, et al. 2007. The emergence of a novel ceftazidime-resistant CTX-M extended-spectrum β -lactamase, CTX-M-55, in both community-onset and hospital-acquired infections in Thailand. *Diagn Microbiol Infect Dis* 58 (3): 349-55.
 - 27) 西原弘人, 小林謙一郎, 阪本直也, 他. 2017. 東京都立墨東病院の感染症科外来患者における糞便からの ESBL 産生腸内細菌の検出状況について. *医学検査* 66 (2): 141-146.
 - 28) Matsumura, Y, JR Johnson, M Yamamoto, et al. 2015. CTX-M-27- and CTX-M-14-producing, ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* of the H30 subclonal group within ST131 drive a Japanese regional ESBL epidemic. *J Antimicrob Chemother* 70 (6): 1639-49.
 - 29) Castanheira, M, SE Costello, RN Jones. Molecular Characterization of Genes Encoding CTX-M-134, TEM-207 and TEM-212 Detected among Clinical Isolates from USA Hospitals. Abstract of ECCMID 2015.
 - 30) Poirel, L, M Gniadkowski, P Nordmann. 2002. Biochemical analysis of the ceftazidime-hydrolyzing extended-spectrum β -lactamase CTX-M-15 and of its structurally related β -lactamase CTX-M-3. *J Antimicrob Chemother* 50 (6): 1031-1034.

Surveillance of CTX-M type ESBL-producing *Escherichia coli* isolated from intermediate and small medical facilities in Kanagawa prefecture

Moe Yokemura¹⁾, Yuya Hasunuma^{1) 2)}, Takashi Ishimatsu³⁾, Takuya Tsunoda⁴⁾, Yoshikazu Tokuoka^{1) 2)}

¹⁾Department of Medical Engineering, Graduate School of Engineering, Toin University of Yokohama

²⁾Department of Biomedical Engineering, Faculty of Medical Engineering, Toin University of Yokohama

³⁾Infection Analysis Center, Health Sciences Research Institute, Inc.

⁴⁾Inspection headquarters, Health Sciences Research Institute, Inc.

Dissemination of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* is of global concern. CTX-M type ESBL harbored in *Enterobacteriaceae* is the most common enzyme that hydrolyzes broad-spectrum cephalosporins. The regional relationship among medical facilities needs to be elucidated to control the dissemination of antimicrobial resistant bacteria. In this study, we collected 207 isolates of ESBL-producing *E. coli* from hospitals with less than 300-beds in Kanagawa prefecture, and examined their antimicrobial susceptibility and molecular epidemiology. All strains were found susceptible to imipenem, but 93% of the strains were resistant to ciprofloxacin. The antimicrobial susceptibility of the strains was found to differ from region to region and the rate of resistance to cefmetazole, cefepime, and ceftazidime in isolates from Sagami-hara region was less than that in all other regions. Furthermore, the genotype of CTX-M-27 type ESBL was the most prevalent, and CTX-M-15, -55, and -27 types of ESBL that induce ceftazidime resistance were detected in 61% of the isolates. In conclusion, our study provides epidemiological data regarding ESBL-producing *E. coli* to surrounding medical facilities and contributes to their regional surveillance in Kanagawa prefecture.