

## [原 著]

全ゲノム解析による ESBL 非産生キノロン耐性 *Escherichia coli* の分子疫学解析吉村公利<sup>1)</sup>・松村康史<sup>2)3)</sup>・山本正樹<sup>2)3)</sup>・長尾美紀<sup>2)3)</sup><sup>1)</sup> 大阪府済生会野江病院臨床検査科<sup>2)</sup> 京都大学医学部附属病院検査部・感染制御部<sup>3)</sup> 京都大学大学院医学研究科臨床病態検査学

(令和7年1月8日受付, 令和7年2月17日受理)

フルオロキノロンは *Escherichia coli* に対する重要な治療薬であるが、耐性率は増加傾向にある。Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) 産生 *E. coli* においては、キノロン耐性 ST131 クローンの増殖が知られているが、ESBL 非産生キノロン耐性菌についての知見は十分でない。大阪市の急性期病院において、2018年～2021年に臨床分離された124株のESBL非産生キノロン耐性 *E. coli* を対象に全ゲノムシーケンスを実施し、クローン性増殖およびその薬剤耐性機序について解析した。対象株は計12のSTに分類され、ST131 (59%) と ST1193 (30%) がほとんどを占めていた。ST131のクレードはC1-non-M27が最多であった。ST131, ST1193すべての株が、キノロン耐性決定領域 (QRDR) にそれぞれ特定パターンの4箇所変異および3箇所変異を有していた。ESBL非産生キノロン耐性 *E. coli* の全ゲノム解析により、特徴的なQRDR変異を有するST131とST1193の二つのパンデミッククローンの増殖というESBL産生菌と類似した分子疫学が明らかとなった。国内におけるキノロン耐性 *E. coli* の分子疫学解析の強化により、薬剤耐性菌対策の発展が期待される。

**Key words:** 大腸菌, ST131, ST1193, QRDR, クローン

## はじめに

腸管外病原性 *Escherichia coli* は、市中及び院内感染症いづれにおいても、血流感染症、尿路感染症、腹腔内感染症等の最も一般的な原因菌である<sup>1)</sup>。*E. coli* に対する治療薬の一つがフルオロキノロン系薬剤 (以下、キノロンとする) であり、1987年に ciprofloxacin (CPFX) が導入されて以来、特に外来治療で広く用いられている<sup>2)</sup>。一方で、キノロン耐性 *E. coli* の検出率は世界的に増加し、年間5万人以上の死亡への寄与が推測されている<sup>3)</sup>。国内においても、*E. coli* の levofloxacin (LVFX) の耐性率は増加している (厚生労働省院内感染対策サーベイランスデータによると、2013年35.5%、2021年40.4%)。政府は2016年と2023年にAMR対策アクションプランを策定し、*E. coli* のキノロン耐性率に関する成果目標を掲げたが、2016年から2020年の評価では目標達成に至らなかった。

*E. coli* のキノロン耐性機序としては、標的となるDNAジャイレース (GyrA および GyrB) とトポイソメラーゼIV (ParC および ParE) に存在する quinolone resistance determinant region (QRDR) と呼ばれる部位の変異が主として関わっており、特に GyrA の83と87番目、ParC の80と84

番目のアミノ酸変異が重要である<sup>4)</sup>。QRDR 以外には、plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) 遺伝子群<sup>5)</sup> や AcrAB-TolC 排出ポンプを制御する遺伝子の変異<sup>6)</sup> などが知られている。

キノロン耐性 *E. coli* の増加には、2008年に報告されたQRDR変異によるキノロン耐性を有する sequence type 131 (ST131) の世界的なクローン性増殖が関与していることが示唆されている<sup>7)</sup>。Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) 産生菌におけるクローン性増殖についても、日本からを含め多くの研究において、キノロン耐性 ST131 が最も頻度の高いクローンであることが報告されている<sup>7)8)</sup>。一方で、ESBL非産生のキノロン耐性 *E. coli* におけるクローン性増殖やその耐性機序についてのデータは限られている。本研究では、大阪市の急性期病院におけるESBL非産生キノロン耐性 *E. coli* の全ゲノムシーケンス (WGS) 解析を実施し、クローン性増殖およびその薬剤耐性機序について明らかにすることを目的とした。

## 対象と方法

## 細菌分離株

済生会野江病院は大阪府大阪市に位置する400床の急性期二次医療機関である。2018年4月～2019年12月 (期間I) は血液培養分離株のみ、2020年5月～2021年9月 (期間II) は保菌調査を目的とした検体を除く全ての臨床検体を対象とし、*E. coli* 初回分離株のみを解析した。期間Iの総分離株数150株のうちキノロン耐性 (LVFX MIC $\geq$ 8) は51株、ESBL非産生菌は19株であった。期間IIの総分離株数588株のう

著者連絡先: (〒606-8507) 京都市左京区聖護院川原町54  
京都大学大学院医学研究科臨床病態検査学  
松村康史  
TEL: 075-751-3502  
FAX: 075-751-3323  
E-mail: yazblood@kuhp.kyoto-u.ac.jp

ちキノロン耐性は 205 株, ESBL 非産生菌は 118 株であった。これら ESBL 非産生キノロン耐性 *E. coli* 137 株のうち保存されていた 124 株 (期間 I: 18 株, 期間 II: 106 株) を対象とした。検体材料は, 尿 73 株, 血液 35 株, その他 16 株であった。

#### 菌種同定

Microscan WalkAway: NegENCombo1J (ベックマン・コールター社), 又は MALDI バイオタイパー (ブルカー・ジャパン社) を用いて同定した。

#### 薬剤感受性

Microscan WalkAway および NegENCombo1J, NegMICEN2J, NegMIC3J のいずれかを用いて測定し, CLSI M100-S26<sup>9)</sup> に従い判定した。CLSI ESBL スクリーニング基準 (cefepodoxime 4 ug/mL, ceftazidime 1 ug/mL, aztreonam 1 ug/mL, cefotaxime 1 ug/mL, ceftriaxone 1 ug/mL) のいずれかに該当した株に関しては, CLSI ガイドラインに従い combination disk test による ESBL 確認試験を行って, ESBL 産生の有無を決定した。

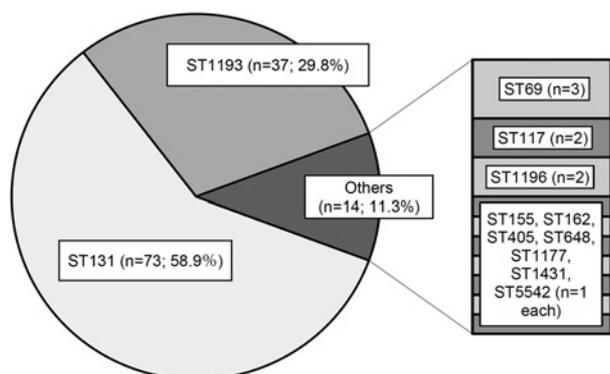


Figure 1. Distribution of sequence types among 124 ESBL-non-producing fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* isolates.

#### WGS 解析

Illumina DNA Prep (イルミナ社) を用いてライブラリーを作成し, NextSeq1000 (159 bp, ペアエンド) にて WGS を行った。SPAdes version 3.15.3<sup>10)</sup> によりドラフトゲノムを作成し, multilocus sequence typing (MLST) データベース (<https://pubmlst.org/organisms/escherichia-spp>) を用いて ST を決定した。ST131 クレードは, Matsumura らによるクレード分類 PCR<sup>11)</sup> を *in silico* で実施し ST1193 クレードについては K type および IncF plasmid MLST による FAB 分類を決定した<sup>12)</sup>。QRDR 変異, PMQR 遺伝子を含む薬剤耐性遺伝子は, AMRFinderPlus<sup>13)</sup> を用いて検出した。Core single nucleotide polymorphisms (SNPs) の同定は snippy (<https://github.com/tseemann/snippy>) を用いて行い, Gubbins<sup>14)</sup> により同定された組み換え領域は除去した。Maximum-likelihood 法を用いた系統樹の再構築には IQ-TREE2<sup>15)</sup> を用いた。WGS データは, NCBI BioProject accession no. PRJNA1204161 にアップロードした。

#### 結 果

##### クローン

全 124 株の *E. coli* は, 計 12 の ST に分類された (Figure 1)。ST131 が 73 株 (58.9%) と最も多く, 続いて ST1193 が 37 株 (29.8%), 残り 10 の ST に各 1~3 株が属し計 14 株が分布していた。ST131 のクレードは, C1-non-M27 (C1-nM27) が 41 株 (56.2%) と最も多く, 続いて C1-M27 が 16 株 (21.9%), C2 が 13 株 (17.8%) であった (Table 1)。期間 I と期間 II における ST131 の頻度は, それぞれ 55.6% と 59.4%, ST1193 の頻度はそれぞれ 22.2% と 31.1% であった。

##### キノロン耐性機序

全ての菌株で QRDR 変異が認められた (Table 1)。GyrA の S83L 変異はすべての株で, D87 変異 (N または Y) は 122 株 (98.4%), ParC の S80I 変異は 123 株 (99.2%), E84 変異 (V または K) は 74 株 (59.7%) で認められた。変異数は 4 箇所が 73 株 (58.9%) と最も多く, 続いて 3 箇所が 49 株

Table 1. Fluoroquinolone resistance mechanisms among different sequence types.

ST	Clade	Number of isolates	QRDR mutation pattern				PMQR gene (n)
			GyrA		ParC		
			83 (S)	87 (D)	80 (S)	84 (E)	
131	A	2	L	N	I	V	-
	C0	1	L	N	I	V	-
	C1-nM27	41	L	N	I	V	<i>qnrB19</i> (1), <i>qnrS1</i> (1)
	C1-M27	16	L	N	I	V	<i>qnrD1</i> (1)
	C2	13	L	N	I	V	<i>aac</i> (6) - <i>Ib-cr</i> (6)
1193		37	L	N	I	-	-
69		1	L	-	I	-	<i>qnrS1</i> (1)
5542		1	L	-	I	-	<i>qnrS2</i> (1)
117		1	L	Y	-	K	-
Others <sup>a</sup>		11 <sup>a</sup>	L	N	I	-	-

ST, sequence type; QRDR, quinolone resistance determinant region; PMQR, plasmid-mediated quinolone resistance; C1-nM27, C1-non-M27

<sup>a</sup>ST69 (n=2), ST1196 (n=2), ST117, ST155, ST162, ST405, ST648, ST1177, and ST1431 (n=1 each)

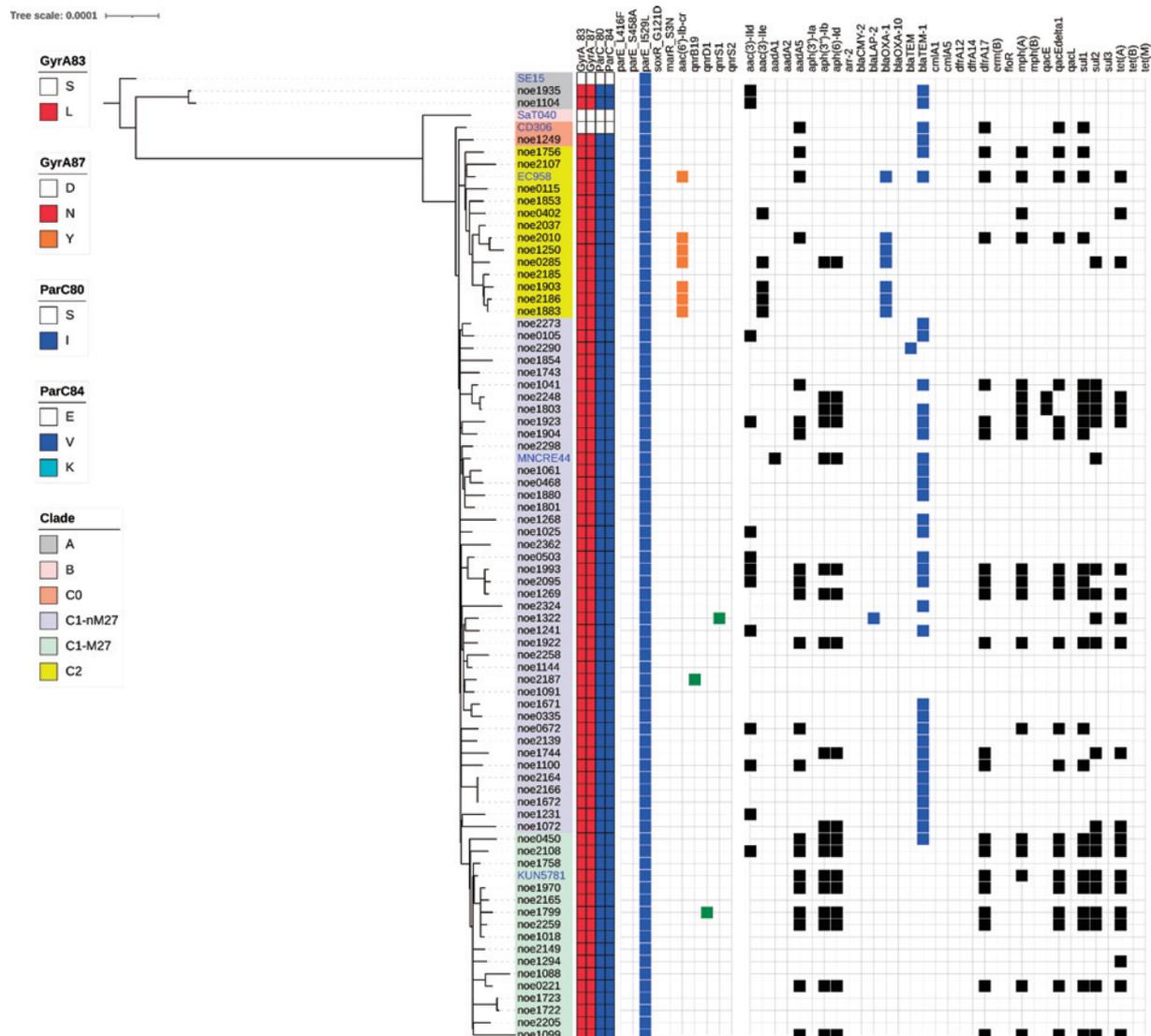


Figure 2. Phylogenetic analysis of 73 ST131 genomes. This maximum-likelihood phylogram is based on 2,682 core SNPs. The tree is rooted using the reference genome EC958 (HG941718.1). The reference genomes for each clade (SE15, A; SaT040, B; MN-CRE44, C1-nM27; KUN5781, C1-M27; EC958, C2) are marked in blue. The best-fit substitution model (TVMe + ASC + R2) determined using ModelFinder, was employed.

(39.5%), 2箇所が2株(1.6%)であった。4箇所変異はLNIVパターン(GyrA83, GyrA87, ParC80, ParC84のアミノ酸順)のみであり、全株がST131であった。3箇所変異は1株を除きすべてLNIEパターンであり、ST1193全株と9つのSTにわたり認められた。残り1株はST117におけるLYSKパターンであった。2箇所変異は、2つのSTにおけるLDIEパターンのみであった。ParEの変異は、I529L変異がST131の73株すべて、L416FがST1193の37株すべて、S458Aは5つのSTが有していた(Figures 2~4)。

PMQR遺伝子を保有していたのは11株(8.9%)であった。*aac*(6)-*Ib-cr*の頻度が最も多かったが、ST131クレードC2に限定されていた。その他のPMQR遺伝子としては、*qnrS*, *qnrB*, *qnrD*が検出された(Table 1)。

AcrAB-TolC排出ポンプ制御遺伝子の変異としては、SoxR G121DがST1196の1株で、MarR S3NがST1193の36株

で認められた(Figure 3, Figure 4)。

#### その他の耐性遺伝子

ESBLを有している株はなかったが、ST405の1株が*bla*<sub>CMY-2</sub>を有していた。キノロン耐性関連遺伝子以外で最も頻度が高かったのは、*bla*<sub>TEM-1</sub>であり、57株(46%)で認められた。

#### 考 察

大阪市内で臨床分離されたESBL非産生キノロン耐性*E. coli*のWGS解析の結果、特徴的なQRDR変異を有するST131・ST1193クローンの拡がりが見られた。世界のキノロン耐性*E. coli*は42~80%をST131が占め最も多く、ST1193が次いで8~26%を占めるとされている<sup>16)</sup>。国内のキノロン耐性*E. coli*の疫学も、2014年にST131(クレードC)が74%と最も多かったとする報告<sup>17)</sup>、2008年と2020年

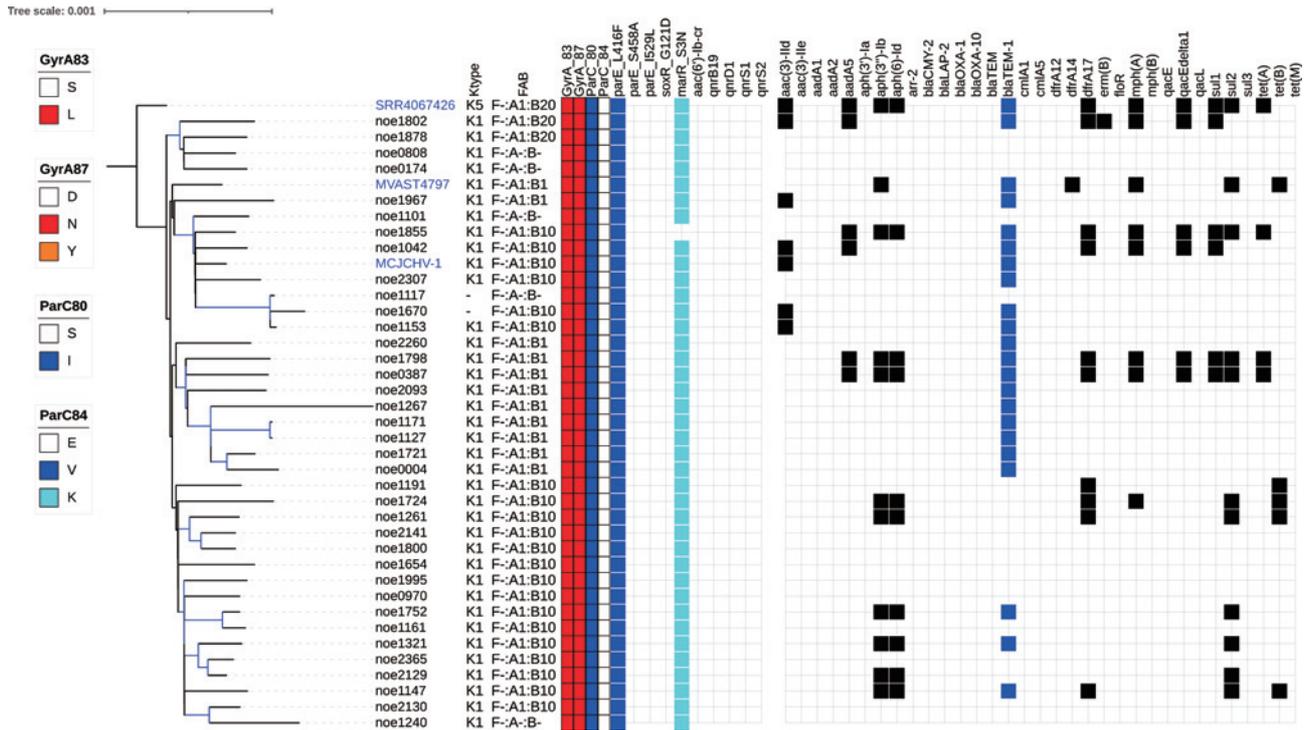


Figure 3. Phylogenetic analysis of 37 ST1193 genomes. This maximum-likelihood phylogram is based on 1,279 core SNPs. The tree is rooted using the reference genome MCJCHV-1 (CP030111.1). The reference genomes (MCJCHV-1, MVAST4797, and SRR4067426) are marked in blue. The best-fit substitution model (TVMe + ASC) determined using ModelFinder, was employed.

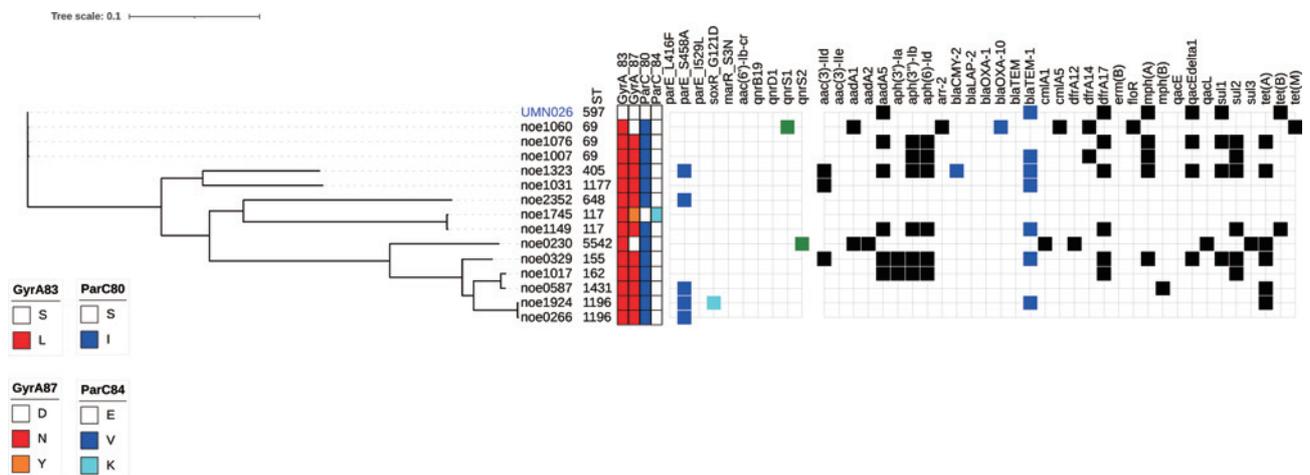


Figure 4. Phylogenetic analysis of 14 non-ST131/ST1193 genomes. This maximum-likelihood phylogram is based on 102,301 core SNPs. The tree is rooted using the reference genome UMN026 (CU928163.2). The reference genome is marked in blue. The best-fit substitution model (TVMe + ASC + G4) determined using ModelFinder, was employed.

を比較し、ST131 はいずれも約 3/4 を占め最も多く、ST1193 は 2020 年のみで 18% 認められたとする報告<sup>18)</sup>など、本報告と合致するものであった。

これまでの *E. coli* ST131 における全ゲノム解析により、クレード C は 1990 年ごろにクレード B から進化し生まれたが、この際 LNIV パターンの QRDR 変異を獲得しキノロン耐性となり、2000 年代以降に世界的クローン性増殖を起こ

したことが明らかにされている<sup>19)20)</sup>。クレード C は主としてサブクレード C1 と C2 に分けられ、C1 はさらに C1-M27 とそれ以外の C1 (C1-nM27) に分けられる。C1-M27, C2 はそれぞれ *bla*<sub>CTX-M27</sub>, *bla*<sub>CTX-M15</sub> を有している株が多いが、C1-nM27 は ESBL 陰性株が多いという特徴がある<sup>1)</sup>。日本の ESBL 産生菌の疫学は、C1-M27 が最も多く、次いで C1-nM27, C2 が多い<sup>11)</sup>。2020 年に行われた研究でも同様の傾向であった<sup>21)</sup>。

本研究では非 ESBL 産生キノロン耐性菌を対象としたため、必然的に C クレド、特に C1-nM27 が多くなったことは予想通りであった。C1-M27, C2 は、ESBL 産生菌の疫学と同じ順位で多かったが、いずれも ESBL 遺伝子を有していなかった。このことは、もともと有していた ESBL 遺伝子を失ったこれらのサブクレドに属する株がキノロン耐性菌の中で優勢になった、あるいは ESBL を獲得せずに進化を遂げたグループがあった可能性が考えられる。

ST1193 は、2010 年代以降に薬剤耐性関連 *E. coli* として世界的増加を起しているクローンである<sup>16)</sup>。ST complex 14 から進化する際に QRDR に LNIE パターンの変異とキノロン耐性を獲得したと考えられている<sup>22)</sup>。ESBL を有する株もあり、ESBL 産生菌の 2~18% を占めるなど、ST131 と似た特徴を有している。ST1193 は ParE L416F を有していることも知られており<sup>16)</sup>、本研究における ST1193 もこれら既存の特徴と合致するものであった。MarR の変異は、AcrAB-TolC 過剰発現によりキノロン耐性に寄与すると考えられており<sup>23)</sup>、ST1193 に特徴的に認められた。

検体材料の差異があるため直接の比較は難しい可能性はあるものの、本研究の期間 I (2018~2019 年) と期間 II (2020~2021 年) を比較した場合、キノロン耐性率はそれぞれ 34.0%、34.9% と大きく変わらなかったが、キノロン耐性を示した株における ESBL 非産生株の割合は 37% から 58% へ増加していた。ESBL 非産生キノロン耐性株における ST131 の分離率は同程度であったが、ST1193 の分離率は約 1.4 倍となっており、ESBL 非産生キノロン耐性菌の増加が ST1193 と関連している可能性が示唆された。

キノロン耐性の獲得には、4 箇所の QRDR のうち少なくとも 3 箇所の変異 (うち GyrA が 2 箇所) が必要であるとされている<sup>4)</sup>。本研究では、GyrA と ParC それぞれ 1 変異しかもたない 2 株がキノロン耐性を呈していたが (Table 1)、これらは PMQR 遺伝子を有していた。PMQR や AcrAB-TolC 過剰発現は、それぞれ単体で耐性化するほどではないが MIC 上昇へ寄与し、また QRDR 変異を起しやすくなることが示唆されている<sup>5)6)</sup>。CLSI は、主として PK/PD 解析の結果を受け 2019 年に LVFX のブレイクポイントを 2 管引き下げた<sup>24)</sup>。新しいブレイクポイントでは、GyrA の 2 箇所以下変異を有する株もキノロン耐性とみなされることから、分子疫学についても今後再検討が必要と考えられる。

*aac (6) -Ib-cr* は本研究で最も頻度の高い PMQR であったが、すべて ST131 C2 が有していた。両者の関連は、C2 クレドが有する IncF プラスミドに *aac (6) -Ib-cr* が多くコードされていることで説明されている<sup>7)19)</sup>。

本研究の限界として、単施設での研究であり菌株数が多くないこと、収集年によって検体材料の偏りがあることが挙げられる。したがって、データの一般化に当たっては留意が必要であるが、世界的クローンが優勢であったことや、系統樹解析で区別できない同一株が多く認められたわけではないことから、施設特有の状況ではないことが示唆される。また、臨床データの解析を行っていないため、経時的な患者の臨床的特徴の変遷、クローンごとのリスク因子解析や伝播経路の推測などはできなかった。抗菌薬適正使用や院内感染対策の変遷など薬剤耐性菌の検出状況に影響を与えうる因子も評価

していない。

大阪市の急性期病院で行った分子疫学解析により、ESBL 非産生キノロン耐性 *E. coli* において、ESBL 産生菌と類似したクローン性増殖が認められた。それぞれ特徴的な QRDR 変異を有する ST131 と ST1193 という二つのパンデミッククローンが優勢であった。ESBL 産生菌あるいはキノロン耐性を含めた全 *E. coli* を対象とした解析、幅広い分離年の株の解析、地域・国レベルの多施設研究を行うことで、キノロン耐性 *E. coli* の正確な分子疫学と進化の過程が明らかとなり、薬剤耐性菌対策を前進させうるデータとなることが期待される。

本論文の概要は第 34 回日本臨床微生物学会・学術集会 (2023 年 2 月横浜) にて発表した。

利益相反：申告すべき利益相反なし

## 文 献

- 1) Laupland, KB, DL Church. 2014. Population-based epidemiology and microbiology of community-onset bloodstream infections. *Clin Microbiol Rev* 27: 647-664.
- 2) Zhu, DM, QH Li, Y Shen, et al. 2020. Risk factors for quinolone-resistant *Escherichia coli* infection: a systematic review and meta-analysis. *Antimicrob Resist Infect Control* 9: 11.
- 3) Antimicrobial Resistance Collaborators. 2022. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet* 399: 629-655.
- 4) Morgan-Linnell, SK, L Zechiedrich. 2007. Contributions of the combined effects of topoisomerase mutations toward fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 51: 4205-4208.
- 5) Strahilevitz, J, GA Jacoby, DC Hooper, et al. 2009. Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat. *Clin Microbiol Rev* 22: 664-689.
- 6) Morgan-Linnell, SK, L Becnel Boyd, D Steffen, et al. 2009. Mechanisms accounting for fluoroquinolone resistance in *Escherichia coli* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 53: 235-241.
- 7) Nicolas-Chanoine, MH, X Bertrand, JY Madec. 2014. *Escherichia coli* ST131, an intriguing clonal group. *Clin Microbiol Rev* 27: 543-574.
- 8) 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: 1639-1649.
- 9) CLSI. 2016. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Twenty-sixth informational supplement. CLSI document M100-S26, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
- 10) Nurk, S, A Bankevich, D Antipov, et al. 2013. Assembling single-cell genomes and mini-metagenomes from chimeric MDA products. *J Comput Biol* 20: 714-737.
- 11) Matsumura, Y, JDD Pitout, G Peirano, et al. 2017. Rapid

- Identification of Different *Escherichia coli* Sequence Type 131 Clades. *Antimicrob Agents Chemother* 61.
- 12) Johnson, TJ, E Elnekave, EA Miller, et al. 2019. Phylogenomic Analysis of Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* Sequence Type 1193, an Emerging Multidrug-Resistant Clonal Group. *Antimicrob Agents Chemother* 63.
  - 13) Feldgarden, M, V Brover, N Gonzalez-Escalona, et al. 2021. AMRFinderPlus and the Reference Gene Catalog facilitate examination of the genomic links among antimicrobial resistance, stress response, and virulence. *Sci Rep* 11: 12728.
  - 14) Croucher, NJ, AJ Page, TR Connor, et al. 2015. Rapid phylogenetic analysis of large samples of recombinant bacterial whole genome sequences using Gubbins. *Nucleic Acids Res* 43: e15.
  - 15) Minh, BQ, HA Schmidt, O Chernomor, et al. 2020. IQ-TREE 2: New Models and Efficient Methods for Phylogenetic Inference in the Genomic Era. *Mol Biol Evol* 37: 1530-1534.
  - 16) Pitout, JDD, G Peirano, L Chen, et al. 2022. *Escherichia coli* ST1193: Following in the Footsteps of *E. coli* ST131. *Antimicrob Agents Chemother* 66: e0051122.
  - 17) Matsumura, Y, T Noguchi, M Tanaka, et al. 2017. Population structure of Japanese extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* and its relationship with antimicrobial resistance. *J Antimicrob Chemother* 72: 1040-1049.
  - 18) Fukushima, Y, T Sato, N Tsukamoto, et al. 2021. Clonal/subclonal changes and accumulation of CTX-M-type beta-lactamase genes in fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* ST131 and ST1193 strains isolated during the past 12 years, Japan. *J Glob Antimicrob Resist* 27: 150-155.
  - 19) Pitout, JDD, TJ Finn. 2020. The evolutionary puzzle of *Escherichia coli* ST131. *Infect Genet Evol* 81: 104265.
  - 20) Ben Zakour, NL, AS Alsheikh-Hussain, MM Ashcroft, et al. 2016. Sequential Acquisition of Virulence and Fluoroquinolone Resistance Has Shaped the Evolution of *Escherichia coli* ST131. *mBio* 7: e00347-16.
  - 21) Hayakawa, K, Y Matsumura, K Uemura, et al. 2023. Effectiveness of cefmetazole versus meropenem for invasive urinary tract infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 67: e0051023.
  - 22) Tchesnokova, V, M Radey, S Chattopadhyay, et al. 2019. Pandemic fluoroquinolone resistant *Escherichia coli* clone ST1193 emerged via simultaneous homologous recombinations in 11 gene loci. *Proc Natl Acad Sci U S A* 116: 14740-14748.
  - 23) Komp Lindgren, P, A Karlsson, D Hughes. 2003. Mutation rate and evolution of fluorquinolone resistance in *Escherichia coli* isolates from patients with urinary tract infections. *Antimicrob Agents Chemother* 47: 3222-3232.
  - 24) Van, TT, E Minejima, CA Chiu, et al. 2019. Don't Get Wound Up: Revised Fluoroquinolone Breakpoints for Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol* 57.

## Whole-genome sequencing and molecular epidemiology of extended-spectrum $\beta$ -lactamase-non-producing fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli*

Kimitoshi Yoshimura<sup>1)</sup>, Yasufumi Matsumura<sup>2) 3)</sup>, Masaki Yamamoto<sup>2) 3)</sup>, Miki Nagao<sup>2) 3)</sup>

<sup>1)</sup>Department of Clinical Laboratory, Saiseikai Noe Hospital

<sup>2)</sup>Department of Infection Control and Prevention, Kyoto University Hospital

<sup>3)</sup>Department of Clinical Laboratory Medicine, Kyoto University Graduate School of Medicine

Infections due to fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* is increasing. Clonal expansion of fluoroquinolone-resistant ST 131 is responsible for the increase in extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing *E. coli*, whereas data on non-ESBL-producing fluoroquinolone-resistant *E. coli* are limited. To analyze the molecular epidemiology and fluoroquinolone resistance mechanisms of non-ESBL-producing fluoroquinolone-resistant *E. coli*, we performed whole-genome sequencing of 124 clinical isolates between 2018 and 2021 at an acute-care hospital in Osaka, Japan. The study isolates were classified into 12 sequence types (STs), with ST131 (59%) and ST1193 (30%) accounting for the majority. The most common ST131 clade was C1-non-M 27. All ST131 isolates had four mutations (LNIV pattern) and all ST1193 strains had three mutations (LNIE pattern) in the quinolone resistance determinant regions. Whole-genome analysis of non-ESBL-producing fluoroquinolone-resistant *E. coli* revealed a molecular epidemiology similar to that of ESBL-producing strains, with the growth of two pandemic clones, ST131 and ST1193, carrying characteristic QRDR mutations. These results suggest a need to strengthen the molecular epidemiological analysis of fluoroquinolone-resistant *E. coli* in Japan to contribute to the fight against drug-resistant bacteria.