

課題番号 : 27指3  
研究課題名 : ミャンマーの医療施設で分離される多剤耐性菌の分子疫学解析  
主任研究者名 : 切替照雄  
分担研究者名 : 秋山徹  
仲佐保

キーワード : 薬剤耐性グラム陰性菌、カルバペネム耐性腸内細菌、カルバペネマーゼ、16S rRNA  
メチラーゼ

研究成果 :

本研究の目的は、ミャンマーの医療施設における薬剤耐性因子を同定し、多剤耐性グラム陰性菌の実態を明らかにし、さらに全ゲノム解析による分子疫学の有効性を実証することである。ミャンマーの医療施設で分離されたグラム陰性細菌の分離・収集を目的として、ミャンマーの17医療機関（ヤンゴン500床病院、バゴー総合病院、マンダレー中央婦人病院、マグウェイ総合病院、マンダレー総合病院、ミッチナ総合病院、ネピドー1000床病院、新ヤンゴン総合病院、マンダレー公衆衛生研究所、ピエイ合病院、サンピャ総合病院、タウンゲー総合病院、西ヤンゴン総合病院、ヤンキン小児病院、ヤンゴン小児病院、ヤンゴン総合病院およびヒンタダ総合病院）から合計403株の薬剤耐性菌を分離した。薬剤耐性菌の薬剤感受性試験および薬剤耐性因子の同定を行った。

その結果、大腸菌121株、肺炎桿菌54株、*Achromobacter* spp. 3株、*Acinetobacter* spp. 48株、*Burkholderia cepacia* 2株、*Citrobacter freundii* 4株、*Enterobacter* spp. 27株、*Morganella morganii* 1株、*Pantoea* spp. 2株、*Proteus mirabilis* 3株、*Providencia* spp. 3株、*Pseudomonas* spp. 129株、*Raoultella ornithinolytica* 1株、*Serratia marcescens* 1株および*Sphingomonas paucimobilis* 4株が同定された。これらの菌株の遺伝子解析によりカルバペネマーゼをコードする遺伝子 *bla*<sub>IMP-1</sub>、*bla*<sub>NDM-1</sub>、*bla*<sub>NDM-4</sub>、*bla*<sub>NDM-7</sub>、*bla*<sub>OXA-232</sub>(*bla*<sub>OXA-48-like</sub>)および *bla*<sub>VIM-1</sub> *bla*<sub>VIM-2</sub> が同定された。さらにこれらの菌株はアミノグリコシド高度耐性に関与する16S rRNAメチラーゼをコードする遺伝子 *armA*、*rmtB*、*rmtC* および *rmtD3* を保有していた。

*RmtD3* は *RmtD* の新規バリエーションであり、多剤耐性緑膿菌より同定された。*RmtD3* と *RmtD* のアミノ酸配列を比較すると9つのアミノ酸変異（Trp26Cys, Val39Ala, Met66Leu, Ser102Ile, Thr130Ala, Asn165Asp, Leu169Met, Ala181Thr and Gly236Ser）が認められた。

ミャンマーの医療施設から分離された多剤耐性アシネトバクターバウマニー株から新規基質拡張型β-ラクタマーゼバリエーション *PER-9* を同定した。*PER-9* は *PER-1* と比較すると、129番アミノ酸がグルタミンからロイシンに変異していた。

以上の結果から、ミャンマーの医療現場から分離される多剤耐性菌はカルバペネム高度耐性に寄与するカルバペネマーゼやアミノグリコシド高度耐性に寄与する16S rRNAメチラーゼを産生する菌が蔓延していることが示唆された。

Subject No. : 27-A-3

Title : Molecular epidemiology of multidrug-resistant pathogens isolates in medical settings in Myanmar.

Researchers : Teruo Kirkae, Tohru Miyoshi-Akiyama, Tamotsu Nakasa

Key word : multidrug-resistant Gram-negative pathogens, carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, carbapenemase, 16S rRNA methylase

Abstract :

Purposes of this study are to determine drug-resistant factors of multidrug-resistant pathogens and clarify the actual situation of nosocomial infections in medical setting in Myanmar. We started a study project of drug resistant pathogens isolated from inpatients in 17 medical settings, including Yangon 500 Bedded Hospital, Bago General Hospital, Central Women's Hospital in Mandalay, Magway General Hospital, Mandalay General Hospital, Myitkyina General Hospital, Nay Pyi Taw 1000 Bedded Hospital, New Yangon General Hospital, Public Health Laboratory in Mandalay, Pyay General Hospital, Sanpya General Hospital, Taungu General Hospital, West Yangon General Hospital, Yankin Children Hospital, Yangon Children Hospital, Yangon General Hospital and Hinthada General Hospital), in Myanmar. We performed drug susceptibility tests and determined drug-resistance genes by using a next-generation sequencer.

We obtained a total of 403 isolates, including *Achromobacter spp.* (3 isolates), *Acinetobacter spp.* (48 isolates), *Burkholderia cepacia* (2 isolates), *Citrobacter freundii* (4 isolates), *Enterobacter spp.* (27 isolates), *Escherichia coli* (121 isolates), *Klebsiella pneumoniae* (54 isolates), *Morganella morganii* (1 isolate), *Pantoea spp.* (2 isolates), *Proteus mirabilis* (3 isolates), *Providencia spp.* (3 isolates), *Pseudomonas spp.* (129 isolates), *Raoultella ornithinolytica* (1 isolate), *Serratia marcescens* (1 isolate) and *Sphingomonas paucimobilis* (4 isolates). The carbapenem-resistant isolates harbored carbapenemase encoding genes, including *bla*<sub>IMP-1</sub>, *bla*<sub>NDM-1</sub>, *bla*<sub>NDM-4</sub>, *bla*<sub>NDM-7</sub>, *bla*<sub>OXA-232</sub> (*bla*<sub>OXA-48-like</sub>), *bla*<sub>VIM-1</sub> and *bla*<sub>VIM-2</sub>. The extremely highly aminoglycoside-resistant isolates harbored 16S rRNA methylase encoding genes, including *armA*, *rmtB*, *rmtC* and *rmtD3*.

A novel variant of a 16S rRNA methylase, RmtD3, was detected from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in Myanmar. RmtD3 had 9 amino acid substitutions, such as Trp26Cys, Val39Ala, Met66Leu, Ser102Ile, Thr130Ala, Asn165Asp, Leu169Met, Ala181Thr and Gly236Ser, compared with RmtD. RmtD3 conferred highly resistance to aminoglycosides tested.

Moreover, a novel extended-spectrum  $\beta$ -lactamase PER variant, PER-9, was detected in a multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolate in Myanmar. The amino acid sequence of PER-9 has a substitution at position 129 (Gln to Leu) compared with PER-1. The enzymatic activities of PER- for various  $\beta$ -lactamas were similar to those of PER-1.

These data indicates that carbapenemases and 16S rRNA methylases producing Gram-negative nosocomial pathogens are prevalent in medical settings in Myanmar.

# 2015年12月以降、ミャンマーの医療施設で分離された グラム陰性菌

ミャンマーの医療施設で院内感染起因菌として分離されたグラム陰性菌株403株  
大腸菌121株、肺炎桿菌54株、*Achromobacter* spp. 3株、*Acinetobacter* spp. 48株、*Burkholderia cepacia* 2株、*Citrobacter freundii* 4株、*Enterobacter* spp. 27株、*Morganella morganii* 1株、*Pantoea* spp. 2株、*Proteus mirabilis* 3株、*Providencia* spp. 3株、*Pseudomonas* spp. 129株、*Raoultella ornithinolytica* 1株、*Serratia marcescens* 1株および *Sphingomonas paucimobilis* 4株

## 菌株収集を行った医療施設

ヤンゴン500床病院、バゴー総合病院、マンダレー中央婦人病院、マグウェイ総合病院、マンダレー総合病院、ミッチナ総合病院、ネピドー1000床病院、新ヤンゴン総合病院、マンダレー公衆衛生研究所、ピエイ合病院、サンピャ総合病院、タウンゲー総合病院、西ヤンゴン総合病院、ヤンキン小児病院、ヤンゴン小児病院、ヤンゴン総合病院およびヒンタダ総合病院

カルバペネマーゼをコードする遺伝子 *bla*NDM-1, *bla*NDM-4, *bla*NDM-7 および *bla*OXA-232 (*bla*OXA-48-like) が同定された。また、これらのCREはアミノグリコシド高度耐性に関与する16S rRNAメチラーゼをコードする遺伝子 *armA*, *rmtB* および *rmtC* を保有していた。

## 16S rRNAメチラーゼRmtD3の同定

RmtD3 producing RmtD3 *Pseudomonas aeruginosa* MyNCGM481 in a medical setting in Myanmar

RmtD3はRmtDの新規バリエーションであり、多剤耐性緑膿菌より同定された。RmtD3とRmtDのアミノ酸配列を比較すると9つのアミノ酸変異(Trp26Cys, Val39Ala, Met66Leu, Ser102Ile, Thr130Ala, Asn165Asp, Leu169Met, Ala181Thr and Gly236Ser)

## 基質拡張型- $\beta$ -ラクタマーゼ (ESBL) PER-9の同定

PER-9 producing *Acinetobacter baumannii* MyNCGM123 in a medical setting in Myanmar

ミャンマーの医療施設から分離されたアシネトバクターバウマニー MyNCGM123から新規PER型ESBL PER-9を同定した。PER-9はPER-1と比較すると129番目アミノ酸がグルタミンからロイシンに変異していた

課題番号 : 27指3

研究課題名 : ミャンマーの医療施設で分離される多剤耐性菌の分子疫学解析

分担研究者名 : 切替照雄

キーワード : 薬剤耐性グラム陰性菌、カルバペネム耐性腸内細菌、カルバペネマーゼ、16S rRNA  
メチラーゼ

研究成果 :

本研究の目的は、ミャンマーの医療施設における薬剤耐性因子を同定し、多剤耐性グラム陰性菌の実態を明らかにし、さらに全ゲノム解析による分子疫学の有効性を実証することである。ミャンマーの医療施設で分離されたグラム陰性細菌の分離・収集を目的として、ミャンマーの17医療機関（ヤンゴン500床病院、バゴー総合病院、マンダレー中央婦人病院、マグウェイ総合病院、マンダレー総合病院、ミッチナ総合病院、ネピドー1000床病院、新ヤンゴン総合病院、マンダレー公衆衛生研究所、ピエイ合病院、サンピャ総合病院、タウンゲー総合病院、西ヤンゴン総合病院、ヤンキン小児病院、ヤンゴン小児病院、ヤンゴン総合病院およびヒンタダ総合病院）から合計403株の薬剤耐性菌を分離した。薬剤耐性菌の薬剤感受性試験および薬剤耐性因子の同定を行った。その結果、カルバペネム耐性菌においてカルバペネマーゼをコードする遺伝子 *bla*<sub>IMP-1</sub>, *bla*<sub>NDM-1</sub>, *bla*<sub>NDM-4</sub>, *bla*<sub>NDM-7</sub>, *bla*<sub>OXA-232</sub>(*bla*<sub>OXA-48-like</sub>)および *bla*<sub>VIM-1</sub> *bla*<sub>VIM-2</sub>が同定された。アミノグリコシド高度耐性菌からはアミノグリコシド高度耐性に関与する16S rRNAメチラーゼをコードする遺伝子 *armA*, *rmtB*, *rmtC* および *rmtD3* を保有していた。

*RmtD3* は *RmtD* の新規バリエーションであり、多剤耐性緑膿菌より同定された。*RmtD3* と *RmtD* のアミノ酸配列を比較すると9つのアミノ酸変異 (Trp26Cys, Val39Ala, Met66Leu, Ser102Ile, Thr130Ala, Asn165Asp, Leu169Met, Ala181Thr and Gly236Ser) が認められた。

ミャンマーの医療施設から分離された多剤耐性アシネトバクターバウマニー株から新規基質拡張型β-ラクタマーゼバリエーション *PER-9* を同定し、*PER-1* とアミノ酸比較したところ、*PER-9* は129番アミノ酸がグルタミンからロイシンに変異していた。リコンビナント酵素を作製し、β-ラクタム剤の分解活性を比較したところ、有意な違いは認められなかった。

課題番号 : 27指3  
研究課題名 : ミャンマーの医療施設で分離される多剤耐性菌の分子疫学解析  
主任研究者名 : 切替照雄  
分担研究者名 : 仲佐 保

キーワード : 薬剤耐性グラム陰性菌, ミャンマー, 医療機関, AMR

研究成果 :

本研究の目的は、ミャンマーの医療施設における薬剤耐性因子を同定し、多剤耐性グラム陰性菌の実態を明らかにし、さらに全ゲノム解析による分子疫学の有効性を実証することである。ミャンマーの医療施設で分離されたグラム陰性細菌の分離・収集を目的として、ミャンマーの17医療機関（ヤンゴン500床病院、バゴ総合病院、マンダレー中央婦人病院、マグウェイ総合病院、マンダレー総合病院、ミッチナ総合病院、ネピドー1000床病院、新ヤンゴン総合病院、マンダレー公衆衛生研究所、ピエイ合病院、サンピャ総合病院、タウンゲー総合病院、西ヤンゴン総合病院、ヤンキン小児病院、ヤンゴン小児病院、ヤンゴン総合病院およびヒンタダ総合病院）から合計403株の薬剤耐性菌を分離した。

2017年2月13日にヤンゴンのNational Health Laboratory (NHL)においてNHLとNCGMとの共同研究「Review meeting of molecular epidemiology of multidrug-resistant Gram-negative pathogens based on their whole genome sequencing」における年次報告会が開催され、19の医療施設（ヤンゴン500床病院、バゴ総合病院、マンダレー中央婦人病院、マグウェイ総合病院、マンダレー総合病院、ミッチナ総合病院、ネピドー1000床病院、新ヤンゴン総合病院、マンダレー公衆衛生研究所、ピエイ合病院、サンピャ総合病院、タウンゲー総合病院、西ヤンゴン総合病院、ヤンキン小児病院、ヤンゴン小児病院、ヤンゴン総合病院、北オッカラッパ教育総合病院、パテイン総合病院およびヒンタダ総合病院）の検査室責任者がNHLにてAMR分離状況を報告した。

課題番号 : 27指3  
研究課題名 : ミャンマーの医療施設で分離される多剤耐性菌の分子疫学解析  
主任研究者名 : 切替照雄  
分担研究者名 : 秋山徹

キーワード : 薬剤耐性グラム陰性菌、カルバペネム耐性腸内細菌、カルバペネマーゼ、16S rRNA  
メチラーゼ

研究成果 :

ミャンマーの医療施設で分離されたグラム陰性細菌の分離・収集を目的として、ミャンマーの17医療機関から合計403株のグラム陰性菌を分離し、それらのゲノムを抽出した。抽出したゲノムは次世代シーケンサにより解析し、16S rRNAによる菌種同定および薬剤耐性因子を同定した。その結果、腸菌121株、肺炎桿菌54株、*Achromobacter* spp. 3株、*Acinetobacter* spp. 48株、*Burkholderia cepacia* 2株、*Citrobacter freundii* 4株、*Enterobacter* spp. 27株、*Morganella morganii* 1株、*Pantoea* spp. 2株、*Proteus mirabilis* 3株、*Providencia* spp. 3株、*Pseudomonas* spp. 129株、*Raoultella ornithinolytica* 1株、*Serratia marcescens* 1株および *Sphingomonas paucimobilis* 4株が同定された。これらの菌株の遺伝子解析によりカルバペネマーゼをコードする遺伝子 *bla*<sub>IMP-1</sub>、*bla*<sub>NDM-1</sub>、*bla*<sub>NDM-4</sub>、*bla*<sub>NDM-7</sub>、*bla*<sub>OXA-232</sub>(*bla*<sub>OXA-48-like</sub>)および *bla*<sub>VIM-1</sub> *bla*<sub>VIM-2</sub>が同定された。また、これらのCREはアミノグリコシド高度耐性に関与する16S rRNAメチラーゼをコードする遺伝子 *armA*、*rmtB*、*rmtC* および *rmtD3*を保有していた。

## 研究発表及び特許取得報告について

課題番号：27指3

研究課題名：ミャンマーの医療施設で分離される多剤耐性菌の分子疫学解析

主任研究者名：切替 照雄

### 論文発表

論文タイトル	著者	掲載誌	掲載号	年
該当なし				

### 学会発表

タイトル	発表者	学会名	場所	年月
該当なし				

### その他発表(雑誌、テレビ、ラジオ等)

タイトル	発表者	発表先	場所	年月日
該当なし				

特許取得状況について ※出願申請中のものは( )記載のこと。

発明名称	登録番号	特許権者(申請者) (共願は全記載)	登録日(申請日)	出願国
該当なし				

※該当がない項目の欄には「該当なし」と記載のこと。

※主任研究者が班全員分の内容を記載のこ