

原 著

## 小児の感染性胃腸炎患者から分離された基質特異性拡張型 $\beta$ -ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌

永井佑樹, 楠原 一, 小林章人, 赤地重宏

### Prevalence of Extended-Spectrum $\beta$ -Lactamase (ESBL)-Producing Isolates from Pediatric Patients with Gastroenteritis

Yuhki NAGAI, Hajime KUSUHARA, Akihito KOBAYASHI and Shigehiro AKACHI

小児の感染性胃腸炎患者を対象に基質特異性拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼ (ESBL) 産生菌の保菌状況ならびにその遺伝子型についての調査を実施した。その結果, 小児の保菌率は12.5% (32/256) であり, 分離された ESBL 産生菌の遺伝子型は CTX-M-14 が 14 株と最も多く, 次いで CTX-M-27 が 7 株, CTX-M-55 が 4 株, CTX-M-15 と CTX-M-79 が各 3 株, CTX-M-65 が 1 株であった。また分離された ESBL 産生菌 32 株のうち B2-ST131 クロームは 10 株 (31.3%) を占め, そのうち 7 株 (21.9%) がサブクローム *H30R* であった。POT 法による分子疫学解析では, 同一 POT 型を示す株が 2 種類確認され, 最も多く検出された POT 型は (49-58-83) の 4 株であった。プラスミドのレプリコンタイプでは, ESBL 産生菌 32 株のうち 22 株が *IncF* プラスミドを保有し, *IncI* プラスミドを保持する株も 8 株確認された。本研究の結果から, 小児においても B2-ST131-*H30R* クロームによる ESBL 産生菌がすでに市中で広がっていることが明らかとなり, 今後はこれら耐性菌がすでに地域で広がっていることを前提にしたうえで感染対策を行っていく必要があると考えられた。

キーワード : ESBL, 小児, 感染性胃腸炎, ST131 クローム, *H30R*

#### はじめに

近年, 抗菌薬が効かなくなる薬剤耐性 (AMR) 感染症が世界的に拡大しており, 社会的にも非常に大きな問題となっている。AMR の一つである基質特異性拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼ (ESBL) は, 主にペニシリン系薬を分解するクラス A の  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子に変異が起こることにより, 第三世代セファロスポリンのセフォタキシム (CTX) やモノバクタム系のアズトレオナム (AZT) 等を分解する能力を獲得した  $\beta$ -ラクタマーゼである。第三世代セファロスポリン系薬は, 医療現場で広く使用されているため, ESBL を産生する菌は感染症治療に影響を及ぼすだけでなく, 院内感染原因菌としても問題となる<sup>1,2)</sup>。また近年この ESBL 産生菌が院内のみならず市中感染症の起原因菌としても増加し深刻な問題となっているが<sup>3,4)</sup>, 小児における保菌状況や遺伝子型に

についてはこれまであまり報告されていない。さらに ESBL 産生菌の拡散の要因の一つとして, ST131 クロームの世界規模での拡がり指摘されているが, 小児を対象にした調査はほとんど行われていない。そこで今回我々は, 県内の小児感染性胃腸炎患者における ESBL 産生菌の保菌状況ならびにその遺伝子型について調査を実施するとともに, 小児における ST131 クロームの拡がりについても調査を行ったのでその結果について報告する。

#### 方 法

##### 1. 被検材料

2016 年 3 月から 8 月にかけて感染症発生動向調査および平成 28 年度 AMED 感染症実用化研究事業 砂川分担研究班「NESID を中心とした下痢症ウイルスの疾病負荷や疫学に関する研究」の研究事業に基

づいて県内の医療機関から提供された 256 検体を使用した。検体は小児科を有する県内 11 の医療機関（北勢 6，中勢 2，南勢 1，伊賀 2）を受診し，感染性胃腸炎と診断された小児患者（平均年齢 3.0 歳；0～19 歳，SD=2.95）の糞便あるいは直腸ぬぐい液を対象とした。

## 2. 分離と同定

検体を 2 μg/mL の CTX 加 DHL 寒天培地（栄研化学）に画線塗抹し，35°C，24 時間培養後，赤色を呈するコロニーが形成されたものを ESBL 産生疑い株と判定した。DNA 抽出は加熱抽出法により実施し，PCR およびシーケンス用のテンプレートとして使用した。菌種の同定は，Api20E（シスメックスバイオメリュー）により実施し，判定ができなかったものに関しては 16SrRNA 解析により菌種同定を行った。

## 3. ESBL 遺伝子の検出

ESBL 産生疑い株は Shibata ら<sup>5)</sup>の方法に従い TEM，SHV，CTX-M-1，CTX-M-2，CTX-M-9group の ESBL 遺伝子検出を行った。さらに Perez ら<sup>6)</sup>の方法により plasmid AmpC の遺伝子（MOX，CMY-2，DHA，ACC，EBC，FOX）についても同時に PCR を実施した。PCR により ESBL 陽性となった検体については，ダイレクトシーケンスにより塩基配列を決定し variant 型別を実施した。シーケンスは BigDye Terminators v3.1 Cycle Sequencing Kit（Applied Biosystems）を使用し，3130 Genetic Analyzer（Applied Biosystems）により塩基配列を決定した。

## 4. 薬剤感受性試験

薬剤感受性試験は CLSI の抗菌薬ディスク感受性試験実施基準に基づき，市販の感受性試験用ディスク（センシディスク，BD）を用いて実施した。供試薬剤はクロラムフェニコール（CP），テトラサイクリン（TC），ストレプトマイシン（SM），カナマイシン（KM），スルファメトキサゾールトリメトプリム（ST），ナリジクス酸（NA），ノルフロキサシン（NFLX），ゲンタマイシン（GM），ホスホマイシン（FOM），シプロフロキサシン

（CPFX），イミペネム（IPM）の 11 薬剤とした。

## 5. 系統発生群(phylogenetic groups)解析

分離株（大腸菌）における系統発生群分類は Clermont ら<sup>7)</sup>の方法により実施し，4 つのグループ（A 群，B1 群，B2 群，D 群）に分類した。

## 6. POT 法による分子疫学解析

菌株の分子疫学解析として PCR-based Open Reading Frame Typing（POT）法を実施した。解析はシカジーニクス分子疫学解析 POT キット（大腸菌用）（関東化学）を用いて行った。2 組の multiplex PCR を実施した後，PCR 産物を 4% Nusieve 3:1 agarose（Lonza）を用いて電気泳動を行った。電気泳動像から，各 POT ナンバーのバンドの有無を確認し，各菌株の POT 型（POT 1-2-3）を決定した。また電気泳動には分子量マーカーとして 50bp DNA ladder（日本ジェネティクス）を使用した。

## 7. ST131 およびサブクローン H30の検出

Johnson ら<sup>8)</sup>の報告に従い，パンデミッククローン ST131 株を検出するための PCR（ST131-specific PCR）を実施した。また ST131 と同定された株については，Colpan ら<sup>9)</sup>の方法に従い ST131 のサブクローンである H30 (allele 30 of *fimH*) を検出した。さらに H30 サブクローンのうちキノロン耐性株については H30R と定義した。

## 8. replicon typing

既報に従い，プラスミドのレプリコンタイプを解析した<sup>10,11)</sup>。

## 結果

### 1. ESBL 産生菌の検出

検査対象となった 256 名のうち，37 名の検体で ESBL 産生疑い株が検出され，PCR の結果 32 名（12.5%）から ESBL 産生菌が分離された。性別による保菌率は男性が 12.6%，女性が 12.4%と男女間で差はなく，保菌者の年齢分布は 0～4 歳が 28 名と最も多く，0 歳児でも 3 名の保菌が確認された。菌種の内訳としては *E.coli* が 30 株と最も多く，*Citrobacter freundii* と *C.koseri* が 1 株ずつ検出された

Table 1. Distribution of ESBL and other β-lactamases isolated from pediatric patients with gastroenteritis

Species	ESBL						Other β-lactamases		
	CTX-M-9 group			CTX-M-1 group			TEM	p-AmpC	
	CTX-M-14	CTX-M-27	CTX-M-65	CTX-M-55	CTX-M-15	CTX-M-79	TEM-1	CMY-2	DHA
<i>Escherichia coli</i>	14	7		3	3	3	9	2	1
<i>Citrobacter freundii</i>			1						
<i>Citrobacter koseri</i>				1					
<i>Serratia liquefaciens</i>								1	

(Table 1) . また, ESBL ではなかった疑い株 (5株) では plasmid 性 AmpC である CMY-2 産生株が 3 株 (*E.coli* ; 2 株, *Serratia liquefaciens* ; 1 株) , DHA 産生株 1 株 (*E.coli*) が確認された. 残りの 1 株は, プロトタイプの TEM-1 のみを保持しておりそれ以外の耐性遺伝子は確認されなかった (TEM-1 の 9 株のうち 8 株は CTX-M 型と重複) .

## 2. ESBL 遺伝子の遺伝子型別

保菌者 32 名から分離された 32 株の ESBL 遺伝子型は, 22 株が CTX-M-9-group で, 残りの 10 株は CTX-M-1-group であった. シークエンスにより ESBL 遺伝子の variant 型別を実施した結果, CTX-M-9-group の 22 株のうち, CTX-M-14 が 14 株, CTX-M-27 が 7 株, CTX-M-65 が 1 株であった. 一方, CTX-M-1-group の 10 株は, 型別の結果 CTX-M-55 が 4 株, CTX-M-15 が 3 株, CTX-M-79 株が 3 株であった.

## 3. 薬剤感受性試験

感受性試験の結果, 各薬剤における耐性率は CP ; 3.1%(1/32), Tc ; 34.4%(11/32), SM ; 37.5%(12/32), KM ; 6.3%(2/32), GM ; 21.9%(7/32), ST ; 31.3%(10/32), FOM ; 0%(0/32), N/A ; 75%(24/32), NFLX ; 50%(16/32), CPFX ; 50%(16/32), IPM ; 0%(0/32)となった. ESBL の variant 別における耐性薬剤数は, CTX-M-14 が平均 2.57 薬剤, CTX-M-15 が平均 2.33 薬剤, CTX-M-27 が平均 3.57 薬剤, CTX-M-55 が平均 1.5 薬剤, CTX-M-65 が平均 7 薬剤, CTX-M-79 が平均 6 薬剤となった. また ST131 株では平均で 3.7 薬剤に耐性を示し, N/A; 100% (10/10) , NFLX; 80% (8/10) , CPFX; 80% (8/10) とキノロン系に高い耐性率を示した.

## 4. 系統発生群

解析した大腸菌 30 株のうち, B2 群が最も多く 15 株 (50%) , 次いで D 群 13 株 (43.3%) , A 群 2 株 (6.7%) であった. また系統群別における ESBL

の variant 型は, B2 群では CTX-M-27 が 7 株 (46.7%) , D 群では CTX-M-14 が 9 株 (69.2%) と最も多くみられ, A 群では CTX-M-14 と CTX-M-55 が 1 株ずつであった.

## 5. POT 法による分子疫学解析

POT 法を実施した大腸菌 30 株のうち, POT 型は全部で 26 種類確認された. 同一 POT 型が複数検出されたものは 2 種類あり, 最も多く検出された POT 型は (49-58-83) が 4 株, 次いで (16-6-7) が 2 株であった.

## 6. ST131 およびサブクローン H30

POT 法の POT ナンバー1 のスコアならびに, ST131-specific PCR の結果から, 大腸菌 30 株のうち 10 株が ST131 クローンと判定された (Table 2) . また今回検出された ST131 クローン 10 株の ESBL 型は, CTX-M-27 が 6 株と最も多く, 次いで CTX-M-14 が 2 株, CTX-M-15 と CTX-M-79 がそれぞれ 1 株ずつであった. また ST131 クローン 10 株の系統群は全て B2 群であった. さらに ST131 のサブクローンを同定したところ, 10 株のうち 7 株が H30R であった.

## 7. replicon typing

耐性遺伝子を担うプラスミドのレプリコンタイプを解析したところ, ESBL 産生菌 32 株のうち 22 株が IncF グループ (FIA, FIB) のプラスミドを保有していた. その他には 8 株が IncI を保持しており, 5 株はどのタイプにも分類されなかった. また ST131 クローンの 10 株は全て IncF プラスミドを保有し, H30R サブクローンの 7 株については全て FIA を保有していた (Table 2) .

## 考 察

AMR は近年かつてないほど注目されており, 我が国においても 2016 年に One Health Approach に基づいた「薬剤耐性対策アクション・プラン (2016-2020)」が策定されている. AMR の一つで

Table 2. Characterization of *Escherichia coli* ST131 clone isolated from pediatric patients with gastroenteritis

Strain No	age	sex	type	isolates	POT Number	Phylogenetic Group	Replicon typing	ST131 subclone	Drug resistance
2016002	0	M	CTX-M-27	<i>E. coli</i>	49-56-81	B2	FIA, FIB, I1	H30R	N/A, NFLX, CPFX
2016011	2	F	CTX-M-14	<i>E. coli</i>	49-62-43	B2	FIA, FIB, Frep	H30R	N/A, NFLX, CPFX
2016028	2	F	CTX-M-27	<i>E. coli</i>	49-58-23	B2	FIA, FIB, Frep	H30R	N/A, NFLX, CPFX, Tc, SM
2016068	6	F	CTX-M-27	<i>E. coli</i>	49-58-83	B2	FIA	H30R	N/A, NFLX, CPFX
2016093	1	F	CTX-M-14	<i>E. coli</i>	49-56-73	B2	FIA, FIB	non-H30	N/A, Tc, SM, ST
2016117	4	M	CTX-M-27	<i>E. coli</i>	49-58-83	B2	FIA, FIB	H30R	N/A, NFLX, CPFX
2016120	2	M	CTX-M-27	<i>E. coli</i>	49-58-83	B2	FIA, FIB	H30R	N/A, NFLX, CPFX, Tc, SM, ST
2016132	4	F	CTX-M-27	<i>E. coli</i>	49-58-83	B2	FIA	H30R	N/A, NFLX, CPFX, SM, ST
2016138	1	M	CTX-M-15	<i>E. coli</i>	49-21-56	B2	FIB, I1	non-H30	N/A
2016148	1	M	CTX-M-79	<i>E. coli</i>	49-57-8	B2	FIA, FIB, I1	non-H30	N/A, NFLX, CPFX, GM

ある ESBL 産生菌は、1983 年にドイツで初めてセラチア菌と肺炎桿菌で報告され<sup>12)</sup>、国内では 1995 年に大腸菌で初めて報告された<sup>13)</sup>。ESBL 産生菌は、現在国内で感染症治療のために広く使われている第三世代セファロスポリン系薬に耐性を示し、特に重篤な基礎疾患や、術後などで免疫力の低下した患者に敗血症、肺炎、尿路感染症などを惹起する場合があります。院内感染原因菌として問題視されている。これまでも ESBL 産生菌については様々な調査研究がなされているが、小児における保菌状況や遺伝子型についてはあまり報告されていない。そこで本研究では、県内の小児感染性胃腸炎患者における ESBL 産生菌の保菌状況ならびにその遺伝子型について調査を実施した。その結果、小児の ESBL 産生菌の保菌率は 12.5% (32/256) となり、分離された ESBL 産生菌は、*Escherichia coli* が 30 株、*Citrobacter freundii* と *C.koseri* がそれぞれ 1 株ずつ検出された。山本ら<sup>14)</sup>の報告では市中・外来患者における ESBL 産生菌の陽性率は 8.3% となっており、小児を対象に行った本研究ではこれよりやや高い傾向がみられた。また今回確認された保菌者のなかには 0 歳児も 3 名含まれており、そのうち 1 名から分離された株は 7 剤に耐性を示していた。ESBL 産生菌による感染症の場合、小児では副作用や剤形から利用できる抗菌薬が限られているため、成人以上に影響を受けやすく大きな問題になると考えられる。このようなことから免疫力の弱い乳児などでは、今まで以上に標準予防策等の感染対策を徹底していくことが重要であると考えられた。

また近年この ESBL 産生菌が院内のみならず市中感染症の起原菌としても増加し深刻な問題となっているが、その急激な増加要因の一つとして、ST131 クロンの世界規模での拡散が指摘されている。この ST131 クロンは、宿主細胞に接着する際に重要な 1 型線毛を有しており、その遺伝子 (*fimH*) 配列をもとにさらに詳細に分類される。この *fimH* 遺伝子による分類でサブクローン H30 に属する株は、他のサブクローンと違ってキノロン系に耐性を示す株が多く、2000 年を境に急激に拡大しているクローンである<sup>15)</sup>。今回検出された 32 株の ESBL 産生菌のうち ST131 クロンは 10 株 (31.3%) を占め、そのうち 7 株 (21.9%) がサブクローン H30R であった。以上の結果から、成人と同様小児においても、ST131-H30R がすでに市中で拡散していることが明らかとなった。またこの ST131-H30R の一部のクローンは敗血症を起こしやすいなど病原性が高いことも指摘されており<sup>15,16)</sup>、今後も動向を注視していくことが必要であると思われた。さらに今回確認された ST131 ク

ローンにおける ESBL の variant 型は CTX-M-27 (6/10) が最も多かった。現在世界的に拡散している ST131 クロンは、CTX-M-15 が主流であるが、最近の全ゲノムでの研究で日本においては、ST131-H30R の C1-M27 と呼ばれるクレード (CTX-M-27) が 2000 年代後半から出現し拡散していることが明らかとなった<sup>17)</sup>。これらの背景から、本研究でも CTX-M-27 が ST131 において最も多く確認された要因であると考えられた。

一方、ESBL 産生菌が拡散しているもう一つの要因にプラスミドを介した薬剤耐性遺伝子の伝播が考えられる。プラスミドのレプリコン解析によって薬剤耐性遺伝子の拡散状況など疫学的な知見を得ることができる。Marcadé らが 1997 年から 2002 年に検出された ESBL 産生菌についてレプリコンタイピングを行っているが、その中でも IncF group が最も多く検出されたことが報告されている<sup>18)</sup>。本研究においても ESBL 産生菌 32 株のうち 22 株が IncF プラスミドを保有しており、Marcadé らと同様の結果であった。また今回の研究では IncF 以外に IncI プラスミドを保持する株も 8 株確認され、そのうち 2 株は IncI プラスミドのみを保持していた。この IncI プラスミドはこれまでの研究から家畜、特に鶏肉から分離される ESBL 産生菌が保持していることが多いとされている<sup>19)</sup>。詳細なことは不明であるが、鶏肉等の食品を介してヒト腸管細菌へプラスミド経路で耐性遺伝子が伝達されることで、ヒトに適応した ESBL 産生菌が誕生し、拡散している可能性が示唆された。

今回我々は、分離された ESBL 産生大腸菌の分子疫学解析として POT 法を実施した。その結果、同一 POT 型を示す株が 2 種類確認され、最も多く検出された POT 型は (49-58-83) の 4 株であった。この 4 株は全て CTX-M-27 の B2-ST131-H30R クローンであり、4 株のうち 3 株は同じ病院由来の株であった。POT 法は Suzuki らが開発した方法であり<sup>20)</sup>、MRSA の POT 法については医療現場でも広く使用されている。一般的に菌の分子疫学解析では、PFGE 法が Gold Standard であるが、手技が煩雑であり時間を要する。その点、POT 法は PCR based の解析のため短時間で実施することができ、3 つの数字からなる POT 型で結果を表すため、菌株間の比較やデータ管理が容易となる。今回解析した株においては CTX group ならびに ST131-specific PCR の結果と POT ナンバーによる算定結果が全て一致していたことから、POT 法は ESBL 産生大腸菌の分子疫学解析に非常に有用な方法であると考えられた。

本研究は、これまであまり報告されていなかった

た小児における ESBL 産生菌の保菌状況を明らかにする論文である。しかしながら本研究では、外来を受診した小児胃腸炎患者の抗菌薬の使用状況等は不明である。そのため検体採取前に抗生剤を使用していた可能性もあり、正確な保菌率を示すことはできない。ただ小児の場合、胃腸炎としては食品由来のものを除けば、ほとんどがウイルス性のものであり<sup>2)</sup>、抗生剤を高頻度で使用している可能性は低いと考えられる。さらに本研究では、特定の地域の患者を対象にしているの、今後より広範な地域の患者を対象とした研究が必要である。

以上の結果より、本研究により小児においても B2-ST131-*H30R* クローンによる ESBL 産生菌がすでに市中で広がっていることが明らかとなった。今後はこれら耐性菌がすでに地域で広がっていることを前提にしたうえで感染対策を行っていく必要があると考えられた。

## 謝 辞

本研究の実施にあたり検体を提供頂いた国立病院機構三重病院の谷口清州先生、中村春奈先生ならびに各医療機関の先生方に深謝致します。

## 文 献

- 1) Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, et al: International prospective study of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: implications of extended-spectrum beta-lactamase production in nosocomial Infections. *Ann Intern Med.* **140**:26-32 (2004).
- 2) Winokur PL, Canton R, Casellas JM, et al: Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum beta-lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific region. *Clin Infect Dis.***32**:94-103 (2001).
- 3) Colodner R, Rock W, Chazan B, et al: Risk factors for the development of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in nonhospitalized patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.***23**:163-167 (2004).
- 4) Pitout JD, Hanson ND, Church DL, et al: Population-based laboratory surveillance for *Escherichia coli*-producing extended spectrum beta lactamases: importance of community isolates with *bla*CTX-M genes. *Clin Infect Dis.* **38**:1736-1741 (2004).
- 5) Shibata N, Kurokawa H, Doi Y, et al: PCR classification of CTX-M-type beta-lactamase genes identified in clinically isolated gram-negative bacilli in Japan. *Antimicrob Agents Chemother.* **50**:791-795 (2006).
- 6) Pérez-Pérez FJ and Hanson ND: Detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *J Clin Microbiol.* **40**:2153-2162 (2002).
- 7) Clermont O, Bonacorsi S, Bingen E: Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl Environ Microbiol.* **66**:4555-4558 (2000).
- 8) Johnson JR, Menard M, Johnston B, et al: Epidemic clonal groups of *Escherichia coli* as a cause of antimicrobial-resistant urinary tract infections in Canada, 2002 to 2004. *Antimicrob Agents Chemother.* **53**:2733-2739 (2009).
- 9) Colpan A, Johnston B, Porter S, et al: *Escherichia coli* sequence type 131 (ST131) subclone *H30* as an emergent multidrug-resistant pathogen among US veterans. *Clin Infect Dis.* **57**:1256-1265 (2013).
- 10) Carattoli A, Bertini A, Villa L, et al: Identification of plasmids by PCR-based replicon typing. *J Microbiol Methods.* **63**:219-228 (2005).
- 11) Johnson TJ, Wannemuehler YM, Johnson SJ, et al: Plasmid replicon typing of commensal and pathogenic *Escherichia coli* isolates. *Appl Environ Microbiol.* **73**:1976-1983 (2007).
- 12) Knothe H, Shah P, Krcmery V, et al: Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection.* **11**:315-317 (1983).
- 13) Ishii Y, Ohno A, Taguchi H, et al: Cloning and sequence of the gene encoding a cefotaxime-hydrolyzing class A beta-lactamase isolated from *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* **39**:2269-2275 (1995).
- 14) 山本詩織, 朝倉 宏, 五十君静信 他: 基質特異性拡張型βラクタマーゼ (ESBL) 産生菌に関わる最近の動向とその拡散に関する考察～食品汚染実態とその危害性について～. *食衛誌* **58** : 1-11(2017).
- 15) Price LB, Johnson JR, Aziz M, et al: The epidemic of extended-spectrum β-lactamase producing *Escherichia coli* ST131 is driven by a single highly pathogenic subclone, *H30-Rx*. *MBio.* **4**(6):e00377-13 (2013).
- 16) Mathers AJ, Peirano G, Pitout JD. The role of

- epidemic resistance plasmids and international high-risk clones in the spread of multi-drug-resistant *Enterobacteriaceae*. *Clin Microbiol Rev.***28**:565-591 (2015).
- 17) Matsumura Y, Pitout JD, Gomi R, et al. Global *Escherichia coli* Sequence Type 131 Clade with bla(CTX-M-27) Gene. *Emerg Infect Dis.* **22**: 1900-1907 (2016).
  - 18) Marcadé G, Deschamps C, Boyd A, et al. Replicon typing of plasmids in *Escherichia coli* producing extended-spectrum beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother.***63**:67-71 (2009).
  - 19) Carattoli A. Resistance plasmid families in *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob Agents Chemother.* **53**:2227-2238 (2009).
  - 20) Suzuki M, Tawada Y, Kato M, et al: Development of a rapid strain differentiation method for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated in Japan by detecting phage-derived open-reading frames. *J Appl Microbiol.* **101**:938-947 (2006).
  - 21) 大関武彦, 古川 漸, 横田俊一郎 他 : 今日の小児治療指針, 医学書院. 336-337(2013).

## Prevalence of Extended-Spectrum $\beta$ -Lactamase (ESBL)-Producing Isolates from Pediatric Patients with Gastroenteritis

Yuhki NAGAI, Hajime KUSUHARA, Akihito KOBAYASHI and Shigehiro AKACHI

**Keywords:** ESBL, Pediatric patient, Gastroenteritis, ST131, *H30R*

We investigated the prevalence of fecal carriage of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* among pediatric patients with gastroenteritis in Mie Prefecture. Among the 256 pediatric patients, 12.5% carried ESBL-producing *Enterobacteriaceae*. ESBL genotypes of the 32 isolates were *bla*CTX-M-14 (n=14), *bla*CTX-M-27 (n=7), *bla*CTX-M-55 (n=4), *bla*CTX-M-15 (n=3), *bla*CTX-M-79 (n=3) and *bla*CTX-M-65 (n=1). Among the 32 ESBL-positive isolates, 10 (31.3%) represented the B2-ST131 clone, and 7 (21.9%) of these represented the *H30R* subclone. We also analyzed the POT types of 30 ESBL-producing *E.coli* isolates. Among the 30 isolates, two same POT types were found. The most frequent POT type was 49-58-83 with four isolates. Plasmid replicon typing showed that ESBL-producing isolates were predominantly harboured IncF-type plasmid (22/32). In addition, eight strains were found to carry IncI plasmid. These results showed that B2-ST131-*H30R* subclone is considered to have spread among children in community. Therefore, infection control practices are necessary in mind that these drug resistant bacteria have already spread in community.