

原著

福岡県で分離されたホスホマイシン耐性腸管出血性大腸菌O26（2007-2016年）

片宗千春・中山志幸・重村洋明・カール由起・江藤良樹・濱崎光宏・堀場千尋*・芦塚由紀

日本では腸管出血性大腸菌（EHEC）感染症の治療にホスホマイシン（FOM）が使用されることがあり、EHEC O26のFOM耐性化は公衆衛生上の懸念事項である。そこで、本研究では2007-2016年に福岡県で分離された221株のEHEC O26のFOM耐性化の状況及びその機序について調査した。12薬剤について薬剤感受性試験を実施したところ、FOMに耐性を示したものは221株中7株（3.2%、4事例）であり、これらの株では他の薬剤への耐性は確認されなかった。また、FOM耐性株に関連する事例でのFOM処方率は20.0-100%であった。全ゲノム解析により薬剤耐性遺伝子の探索をしたところ、プラスミド由来遺伝子*fos*の獲得は確認されず、FOMトランスポーターGlpTにアミノ酸変異が生じる染色体変異が確認された。以上から、2016年までに福岡県で確認されたFOM耐性EHEC O26は、主に散発的に発生する染色体変異による可能性が示唆された。

[キーワード：腸管出血性大腸菌、ホスホマイシン、薬剤耐性、全ゲノム解析]

1 はじめに

食中毒などの原因菌として知られる腸管出血性大腸菌（EHEC）は、ベロ毒素を産生する大腸菌であり溶血性尿毒症症候群（HUS）など重篤な症状を引き起こすことが知られている。そのため、感染症法においてEHEC感染症は、三類感染症に位置付けられており、症状や臨床所見及び菌の分離同定とベロ毒素の確認等によりEHEC感染症と診断した場合、診断した医師の届出が義務付けられている。感染した場合、基本的には支持療法で対応することが多いが、日本ではEHEC感染症の治療薬の一つとしてホスホマイシン（FOM）が使用されることがある¹⁾。そのためEHECのFOM耐性化は公衆衛生上の懸念事項である。

大腸菌におけるFOM耐性のメカニズムとして、主に染色体変異とプラスミド由来の遺伝子獲得が挙げられる²³⁾。FOM耐性に関する染色体上の遺伝子変異として、FOMの標的であるN-acetylglucosamine enolpyruvyl transferase（*murA*）や、FOMトランスポーターのsn-glycerol-3-phosphate transporter（*glpT*）とhexose phosphate transporter（*uhpT*）、GlpT輸送系の制御に関わるcAMPの量に関与するphosphoenolpyruvate-protein phosphotransferase（*ptsI*）とadenylate cyclase（*cyaA*）、C-reactive protein（*crp*）、UhpTの発現制御因子DNA-binding transcriptional activator UhpA（*uhpA*）などが報告されている⁴⁻⁵⁾。プラスミド由来

の遺伝子獲得としてはFOM耐性に関連するグルタチオン転移酵素（FR-GST）をコードする遺伝子*fos*が知られている⁶⁾。日本では、ヒト由来のEHEC O26のFOM耐性として、*murA*の転写亢進とFOMの取り込み障害が報告されている⁵⁾。また、ヒト由来大腸菌からは*fosA3*と*fosC2*が⁷⁾、牛由来大腸菌から*fosA3*が検出されている⁸⁾。*bla*_{CTX-M-15}を保有する大腸菌O25:H4の報告⁹⁾などから、特定の抗菌薬耐性遺伝子が存在するプラスミドを持つ大腸菌による、世界的かつ急速な薬剤耐性獲得が懸念されている。EHECにおいても、*fos*を保有するプラスミド伝播によるFOM耐性の急速な拡大が懸念されている。EHEC O26は、O157に次ぎ福岡県内で2番目に多い血清型であるが、EHEC O26のFOM耐性状況は不明である。

そこで本研究では、EHEC O26のFOMの薬剤耐性状況およびFOM耐性機序を明らかにすることを目的とし検討を実施した。

2 方法

2・1 菌株

2007-2016年に当所及び福岡県内の医療機関や保健所等で分離されたEHEC O26分離株221株（43事例）を対象とした。菌株の疫学情報は、福岡県管内の保健所が感染症法第15条に基づく積極的疫学調査で収集したものを利用した。また、薬剤感受性試験の対照としてATCC 25922株を用いた。

福岡県保健環境研究所（〒818-0135 太宰府市大字向佐野 39）

*国立感染症研究所 病原体ゲノム解析研究センター

（〒162-8640 東京都新宿区戸山 1-23-1）

2・2 薬剤感受性試験

対象菌株に対しNational Committee for Clinical Laboratory Standards (CLSI) の基準¹⁰⁾に準じて12薬剤についてディスク法による感受性試験を実施した。FOMは50 µgグルコース-6-リン酸 (G6P ; Sigma-Aldrich) と200 µg FOM (富士フィルム和光純薬) を添加した自作のディスクを試験に使用した。また、アンピシリン (ABPC)、セフトロキム (CPDX)、メロペネム (MEPM)、カナマイシン (KM)、ストレプトマイシン (SM)、ゲンタマイシン (GM)、クロラムフェニコール (CP)、テトラサイクリン (TC)、シプロフロキサシン (CPFX)、ナジリクス酸 (NA)、スルフィソキサゾール・トリメトプリム合剤 (ST) は市販の薬剤ディスク (Becton Dickinson) を使用した。

FOM耐性株に関しては、25 µg/mL G6P添加Mueller Hinton II 寒天培地 (G6P-MH培地 ; Becton Dickinson) で培養し、Etest法を用いてFOMのon-scaleの最小発育阻止濃度 (MICs) を算出した。また、Nakamura ら⁹⁾の方法にて、菌を塗抹したG6P-MH培地及び50 µg FOMと5 µg G6Pを含有したディスクに阻害剤として1 mg ホスホノギ酸ナトリウム (PPF ; Sigma Aldrich) を使用し、FR-GST産生能を評価した。陽性はPPFの有無で阻止円が5 mm以上異なるものとした⁹⁾。

2・3 全ゲノム解析

FOM耐性分離株全株と各薬剤耐性パターンを示す菌株から任意に1株以上を選択し、全ゲノム解析を実施した。なお、ABPC-KM-NA-TCの菌株は培養中に薬剤耐性遺伝子が脱落していたため全ゲノム解析対象から除外した。DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN) により抽出したDNA

表1 腸管出血性大腸菌 (EHEC) O26 の薬剤耐性状況¹⁾

薬剤耐性パターン ²⁾	年度ごとのEHEC O26分離株数											合計	割合 (%)
	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	2014	2015	2016			
FOM	5				1		1					7	3.2
ABPC		3					2					5	2.3
ABPC-SM											55	55	24.9
ABPC-SM-TC					2							2	0.9
ABPC-KM-NA-TC							1					1	0.5
CP									1			1	0.5
CP-CPDX								1				1	0.5
CP-NA-SM								1				1	0.5
KM-TC					5							5	2.3
NA-SM								1				1	0.5
SM-ST-TC			1									1	0.5
No resistance	4	63	5	2	6	11	41	3	4	2	141	141	63.8
合計	9	66	6	2	14	14	45	4	4	57	221		

- 1) 福岡県内の病院や保健所などで報告された患者 221 名から分離された 221 株。
- 2) National Committee for Clinical Laboratory Standards の方法を用いて耐性を示した薬剤パターン。

について、QIAseq FX DNA Library Kit (QIAGEN) でライブラリ調製を実施し、AMPure XP (BECKMAN COULTER)、QIAquick Gel Extraction Kit (QIAGEN) にてライブラリDNAの精製を行った。このライブラリDNAをIllumina社のMiSeq Reagent Kit v3 (300 bp×2) を用いてペアエンドにて配列を測定した。得られたデータは、fastp¹¹⁾にてクオリティトリミングを行い、A5-miseq¹²⁾もしくはSKESA¹³⁾にて配列組み立てを行った。Multi-Locus Sequence Typing (MLST) はmlst^{14,15)}、遺伝子のアノテーションはProkka¹⁶⁾、薬剤耐性遺伝子の探索はABRicate^{17,18)}で実施した。アミノ酸変異の参照塩基配列として*E. coli* K-12株 (MG1655) を用いた。また、一塩基変異 (SNV) 解析はSNPCaster¹⁹⁾にて行い、参照配列として血清型O26:H11の11368株 (NC_013361.1) を用いた。

表2 ホスホマイシン (FOM) 耐性腸管出血性大腸菌 O26 分離株の特徴

事例番号	菌株番号	on-scale MICs ¹⁾ (µg/ml)	FR-GST産生能 ²⁾			分離年	患者数	処方された抗菌薬				疫学情報
			PPF(-) (mm)	PPF(+) (mm)	判定			FOM	その他 ³⁾	なし不明	FOM処方率	
FI01 ⁴⁾	07E061	256	9.4	6.8	産生なし	2007	1	1	0	0	100.0%	動物飼育施設に訪問
FI02 ⁴⁾	07E063	256	7.5	6.8	産生なし	2007	4	1 ⁵⁾	1	2	25.0%	家庭内感染、動物飼育施設に訪問
	07E064	256	8.3	6.8	産生なし							
	07E065	384	7.3	6.8	産生なし							
	07E066	384	7.3	6.8	産生なし							
FI07	11E035	256	9.4	6.8	産生なし	2011	5	1	4	0	20.0%	家庭内感染
FI11	13E054	384	7.3	6.8	産生なし	2013	33	18	2	13	54.5%	保育所関連感染

- 1) 25 µg/mL グルコース 6 リン酸 (G6P) を含有した Muller Hinton II 寒天培地 (G6P-MH 培地) を用いて FOM に対する Etest を実施した。FOM 耐性基準は最小発育濃度 (MICs) 256 µg/mL 以上であり、対照の ATCC 25922 株の MIC は 0.75 µg/mL、K-12 株の MIC は 0.5 µg/mL であった。
- 2) G6P-MH 培地及び 50 µg FOM と 5 µg G6P を含有したディスクで FOM 感受性試験を実施する際、阻害剤として 1 mg ホスホノギ酸ナトリウム (PPF) を使用した。PPF の有無で阻止円が 5 mm 以上異なるものを FR-GST 産生陽性とした。
- 3) その他で処方された抗菌薬は、FI02 ; クラリスロマイシン、FI07 ; オフロキサシン、FI11 ; セフトロレンピボキシル、アモキシシリン・クラブラン酸。
- 4) MLVA 型が完全一致し、同時期に同一施設への訪問履歴あり。
- 5) FOM 服用後にセフトロレンピボキシルを服用。

3 結果

3・1 FOM感受性に関する検討の結果

福岡県内においてEHEC O26患者は毎年発生していた（表1）。これらの分離株について薬剤感受性試験を実施したところ、221株中80株（36.2%、13事例）が1種類以上の薬剤に耐性を示し、このうち7株（3.2%、4事例）がFOMに耐性を示した（表1）。また、その他の菌株が示す薬剤耐性パターンはABPC、ABPC-SM、ABPC-SM-TC、ABPC-KM-NA-TC、CP、CP-CPDX、CP-NA-SM、KM-TC、NA-SM、SM-ST-TCであり、FOM耐性株で複数の薬剤に耐性を示すものは確認されなかった。

FOM耐性を示した7株のFOMのon-scale MICsを測定し

たところ256 µg/mL以上であった（表2）。また、PPFを用いてFR-GSTの阻害実験を行ったところ、すべての株でFR-GST産生能は確認されなかった（表2）。

FOM耐性株が検出された事例の疫学情報を確認したところ、FI01は散発事例、FI02とFI07は家族内感染、FI11は保育所関連の感染であった。また、FI01とFI02は、牛やヤギと接触可能な動物飼育施設に数日違いで訪問歴があった。これら事例でFOMを処方された患者の割合は、FI01が100%（1/1）、FI02が25.0%（1/4）、FI07が20.0%（1/5）、FI11が54.5%（18/33）であった（表2）。また、患者の菌株は主に診断目的で分離されているため、菌株分離時に抗菌薬を服用していない株や服薬状況が不明な株もあった。

表3 全ゲノム解析の解析結果

事例番号	菌株番号	FOM耐性	ベロ毒素型	薬剤耐性パターン	全ゲノム解析結果					
					リード数	Coverage	Contigs	N50	MLST	薬剤耐性遺伝子
FI01	07E061	○	Stx1	FOM	1,902,396	80	241	105,773	ST: 21	<i>bla</i> _{EC-18}
FI02	07E063	○	Stx1	FOM	2,428,410	99	250	105,668	ST: 21	<i>bla</i> _{EC-18}
"	07E064	○	Stx1	FOM	2,200,714	91	245	105,677	ST: 21	<i>bla</i> _{EC-18}
"	07E065	○	Stx1	FOM	2,030,110	82	223	103,655	ST: 21	<i>bla</i> _{EC-18}
"	07E066	○	Stx1	FOM	2,149,040	84	234	111,618	ST: 21	<i>bla</i> _{EC-18}
FI03	08E004		Stx1	ABPC	2,193,906	81	275	104,568	ST: 21	<i>bla</i> _{EC-18} , <i>bla</i> _{TEM-1} , <i>mcr-5</i>
FI04	08E102		Stx1	No resistance	2,226,716	88	252	104,583	ST: 21	<i>bla</i> _{EC-18}
"	08E103		Stx1	No resistance	2,432,518	96	264	104,583	ST: 21	<i>bla</i> _{EC-18}
FI05	09E107		Stx1	SM-ST-TC	2,022,470	84	256	107,563	ST: 21	<i>bla</i> _{EC-18} , <i>dfrA1</i> , <i>sat2</i> , <i>sul2</i> , <i>tet(B)</i>
FI06	11E030		Stx1	ABPC-SM-TC	2,437,964	88	321	92,516	ST: 21	<i>bla</i> _{EC-18} , <i>aph(3'')-Ib</i> , <i>aph(6)-Id</i> , <i>bla</i> _{TEM-1} , <i>sul2</i> , <i>tet(B)</i>
FI07	11E034		Stx1	No resistance	2,840,412	121	251	114,316	ST: 21	<i>bla</i> _{EC-18}
"	11E035	○	Stx1	FOM	2,779,548	117	245	104,568	ST: 21	<i>bla</i> _{EC-18}
FI08	11E059		Stx1	KM-TC	2,427,422	102	284	99,831	ST: 21	<i>bla</i> _{EC-18} , <i>aph(3')-Ia</i> , <i>tet(A)</i>
FI09	11E061		Stx1	KM-TC	2,962,338	125	300	104,568	ST: 21	<i>bla</i> _{EC-18} , <i>aph(3')-Ia</i> , <i>tet(A)</i>
FI10	12E097		Stx1	No resistance	3,002,766	125	284	106,399	ST: 21	<i>bla</i> _{EC-18}
FI11	13E032		Stx1	No resistance	1,292,764	51	268	99,047	ST: 21	<i>bla</i> _{EC-18}
"	13E047		Stx1	CP-CPDX	1,108,884	44	272	96,980	ST: 21	<i>bla</i> _{EC-18}
"	13E048		Stx1	CP-NA-SM	925,032	36	294	92,673	ST: 21	<i>bla</i> _{EC-18}
"	13E049		Stx1	NA-SM	1,437,098	56	263	104,521	ST: 21	<i>bla</i> _{EC-18}
"	13E054	○	Stx1	FOM	1,388,016	55	252	101,404	ST: 21	<i>bla</i> _{EC-18}
FI12	14E032		Stx1+2	CP	1,406,050	55	266	118,360	ST: 21	<i>bla</i> _{EC-18} , <i>aph(6)-Id</i> , <i>floR</i>
FI13	16E028		Stx1	ABPC-SM	891,344	34	295	104,578	ST: 21	<i>bla</i> _{EC-18} , <i>aph(3'')-Ib</i> , <i>bla</i> _{TEM-1} , <i>sul2</i>

アンピシリン（ABPC）、セフトロキシム（CPDX）、カナマイシン（KM）、ストレプトマイシン（SM）、クロラムフェニコール（CP）、テトラサイクリン（TC）、ナジリスク酸（NA）、グルコース 6 リン酸含有ホスホマイシン（FOM）

表4 アミノ酸変異の解析結果

事例番号	菌株番号	FOM耐性	アミノ酸変異 ¹⁾						
			MurA	GlpT	UhpT	UhpA	PtsI	CyaA	Crp
FI01	07E061	○	-	A98E, G99V, L100*	-	L138R	R367K	N142S, H838N	-
FI02	07E063	○	-	A98E, G99V, L100*	-	L138R	R367K	N142S, H838N	-
"	07E064	○	-	A98E, G99V, L100*	-	L138R	R367K	N142S, H838N	-
"	07E065	○	-	A98E, G99V, L100*	-	L138R	R367K	N142S, H838N	-
"	07E066	○	-	A98E, G99V, L100*	-	L138R	R367K	N142S, H838N	-
FI07	11E034		-	E448K	-	L20_G42del	R367K	N142S, F573I, H838N	-
"	11E035	○	-	Y257_I258insIA, E448K	-	L20_G42del	R367K	N142S, F573I, H838N	-
FI11	13E032		-	E448K	-	L20_G42del	R367K	N142S, F573I, H838N	-
"	13E054	○	-	D88E, E448K	-	L20_G42del	R367K	N142S, F573I, H838N	-

1) 全ゲノム解析で得られた DNA 配列からアミノ酸配列に置換したものを K-12 株のアミノ酸配列と比較した。

3・2 全ゲノム解析によるFOM耐性獲得機序検討

今回供試した菌株のうち代表の22株について全ゲノム解析を実施し、保有する薬剤耐性遺伝子について探索した。FOM耐性株からはFOM感受性株でも検出された bla_{EC-18} のみが確認された(表3)。

FOM耐性株のゲノム情報を用いてK-12株と比較しアミノ酸変異を検索したところ、FOM感受性株とは異なる変異がGlpTに確認された(表4)。FI01とFI02のすべての株でA98E, G99V, L100*の終止コドンが入るナンセンス変異が確認された。FI07の11E035ではY257_I258insIAが、FI11の13E054ではD88Eが確認された。また、UhpAにおいてFI01とFI02のすべての株でL138Rが確認された。MurA、UhpT、PtlI、CyaA及びCrpではFOM感受性株とは異なる変異は認められなかった。

3・3 SNV解析

全ゲノム解析を実施した22株についてSNV解析を実施した(図1)。その結果、FOM感受性の有無に関わらず、同じ事例の株間のSNVは4塩基以内であった。異なる事例ではあるが同一動物飼育施設に訪問歴のあるFI01とFI02はSNVが3塩基以内であった。また、FI08とFI09はSNVが2

塩基以内であったため疫学情報を確認したところ、いずれも食肉の喫食による感染であるが、購入店舗や使用店舗に直接の関連は確認されなかった。

4 考察

Leeらの報告で、大腸菌において5塩基以内のSNVは分離株が非常に密接に関連し同じ供給源に由来する可能性が高いこと、6-10塩基のSNVは、分離株が同じ感染源に由来する可能性があることが示唆されている²⁰⁾。

FI01およびFI02は、疫学情報及びSNP解析の結果から感染源は同じだと考えられる。また、これらのFOM耐性株はナンセンス変異によりGlpTが機能せずFOM耐性を獲得した可能性が示唆された。これらの事例は同じ動物飼育施設への訪問歴があり、すべての分離株が同じアミノ酸変異を示したため、FOM耐性を獲得したEHEC O26に動物飼育施設にて感染したと考えられる。

FI07とFI11のFOM耐性株は、SNV解析により遺伝的にFOM感受性株と近いことが示唆されたため(図1)、患者間で感染が広がる過程で染色体変異によりFOM耐性を獲得した可能性が示唆された。*In vitro*条件下でFOMを大腸菌に暴露すると、*murA*、*glpT*、*uhpT*に染色体変異が誘導され

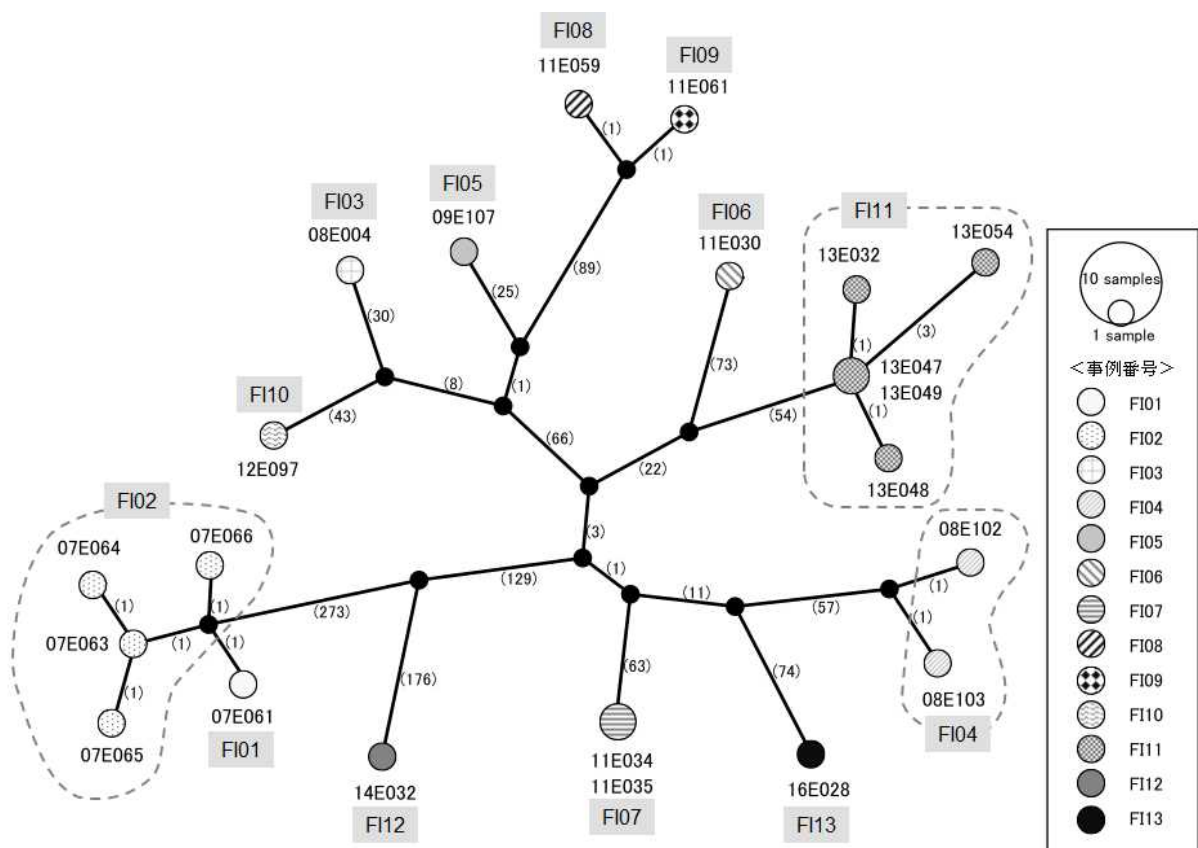


図1 一塩基変異(SNV)解析(ハプロタイプネットワーク図: Median-joining法)
図中の括弧内の数字は点(ハプロタイプ)同士を比較した時のSNVの数を示している。
小さい黒点は、実データはないが理論上存在するハプロタイプを示している。

る²¹⁾。FI07では11E035のみFOM耐性を示したが、この11E035はFOMを服用したEHEC患者の接触者検便検査で患者家族から分離された。したがって、家族の治療中にEHEC O26がFOM耐性を獲得し、11E035の患者に感染した可能性がある。FI11は33名の患者由来株全てが保育所で一斉に実施された検便検査で分離されており、このうち13E054のみがFOM耐性を示した。今回、13E054の分離前にFOMを服用した患者は疫学調査からは確認されなかった。一方で、収集した服薬情報は、一斉検便検査日以降に処方された抗菌薬についてがほとんどで、それ以前の服薬情報については不明な患者が多かった。33名中15名が一斉検便検査日より1週間以上前に体調不良を訴えており、事前に抗菌薬を投薬されていた可能性もある。FOM以外にも薬剤耐性CP-CPDXやCP-NA-SM、NA-SMを示す株もあり、感染が広がる過程でFOMをはじめとする薬剤耐性を獲得した株が発生したと考えられた。

今回検出されたGlpTのアミノ酸変異Y257_I258insIA (FI07)とD88E (FI11)は過去に報告がない^{3,4,5,21)}。11E035のY257_I258insIAはGlpTの膜貫通ヘリックス構造を構成する7番目のヘリックス (H7) のIAIA²²⁾がIAIAIAに変異するものである。GlpTはH1、H4、H7、H10の4つのヘリックスが中心となり機能するため²²⁾、H7構造の変化によりGlpTによるFOM膜透過を低下させた可能性が考えられた。また、13E054では2番目のヘリックス (H2) の細胞質側末端アミノ酸である88番目のアスパラギン酸²²⁾がグルタミン酸に変異していた。これらの変異が主な原因であるかについては現状では不明であり、これまでに知られていない遺伝子の染色体変異が関与している可能性も考えられた。

以上のことから、本研究により、2007年から2016年までに分離されたEHEC O26は221株中7株がFOM耐性を示し、そのFOM耐性はプラスミド由来の遺伝子獲得ではなく、主に染色体変異に起因していることが示唆された。

5 まとめ

EHEC O26分離株221株のうち、薬剤感受性試験でFOM耐性を示したのは7株 (4事例) あり、これらの株で他の薬剤に対する耐性は確認されなかった。また、FOMのon-scale MICsは256 µg/mL以上であった。FOM耐性の原因のひとつとして知られるプラスミド由来の遺伝子*fos*は、すべてのFOM耐性株で検出されず、GlpTなどのアミノ酸変異が確認された。

以上より、2016年までの福岡県におけるEHEC O26は、主に散発的に発生する染色体変異によってFOM耐性を獲得している可能性が示唆された。

研究倫理・利益相反

本研究は福岡県保健環境研究所 研究倫理審査委員会の承認を得て実施している (承認番号：第R5-7号)。また、本研究に関する利益相反はない。

謝辞

菌株の収集及び疫学情報を提供いただいた福岡県管内の医療機関及び保健所の方々に感謝します。本研究の一部は、AMED (課題番号JP24fk0108636) の支援を受けました。

文献

- 1) 溶血性尿毒症症候群の診断・治療ガイドライン, 平成26年4月
- 2) 小原康治, 橋本一: 臨床分離株を中心としたホスホマイシンの耐性機構, *Jpn. J. Antibiotics*, 49, 533-543, 1996.
- 3) Y. Li *et al.*: *PLoS One.*, 10, e0135269, 2015.
- 4) Y. Ohkoshi, *et al.*: *Biomed Res Int.*, 2017, 5470241, 2017.
- 5) S. Takahata *et al.*: *Int. J. Antimicrob. Agents*, 35, 333-337, 2010.
- 6) G. Nakamura *et al.*: *J. Clin. Microbiol.*, 52, 3175-3179, 2014.
- 7) J. Wachino *et al.*: *Antimicrob. Agents Chemother.*, 54, 3061-3064, 2010.
- 8) Y. Hosoi *et al.*: *Int. J. Mol. Sci.*, 25, 13723, 2024.
- 9) M. H. Nicolas-Chanoine *et al.*: *J. Antimicrob. Chemother.*, 61, 273-281, 2008.
- 10) Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) : Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 30th Edition M100, 2020, (Wayne PA, USA).
- 11) S. Chen : *Imeta*. 2023 May 8;2(2):e107.
- 12) D. Coil *et al.*: *Bioinformatics.*, 31, 587-589, 2015.
- 13) A. Souvorov, R. Agarwala and D. J. Lipman: *Genome Biol.*, 19, 153, 2018.
- 14) T. Seemann, mlst, <https://github.com/tseemann/mlst>
- 15) K. A. Jolley, M. C. Maiden., *BMC Bioinformatics.*, 11, 595, 2010.
- 16) T. Seemann: *Bioinformatics.*, 30, 2068-2069, 2014.
- 17) T. Seemann, Abricate, <https://github.com/tseemann/abicate>
- 18) E. Zankari *et al.*: *J. Antimicrob. Chemother.*, 67, 2640-2644, 2012.
- 19) K. Lee *et al.*: *Emerg. Infect. Dis.*, 27, 1509-1512, 2021.
- 20) K. Lee *et al.*: *Appl. Environ. Microbiol.*, 85, e00728-00719, 2019.
- 21) A. I. Nilsson *et al.*: *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 47, 2850-2858, 2003.
- 22) Y. Huang *et al.*: *Science*, 301, 616-20, 2003.

(英文要旨)

The emergence of fosfomycin-resistant enterohemorrhagic *Escherichia coli* O26 in Fukuoka Prefecture, Japan, 2007–2016

Chiharu KATAMUNE¹, Shiko NAKAYAMA¹, Hiroaki SHIGEMURA¹, Yuki CARLE¹, Yoshiki ETO¹, Mitsuhiro HAMASAKI¹, Kazuhiro HORIBA² and Yuki ASHIZUKA¹

¹*Fukuoka Institute of Health and Environmental Sciences,*

Mukaizano 39, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan

²*Pathogen Genomics Center, National Institute of Infectious Diseases,*

Toyama 1-23-1, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8640, Japan

Fosfomycin (FOM)-resistant enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC) O26 is a public health concern because FOM is occasionally used to treat EHEC infection in Japan. However, the incidence and mechanism of FOM resistance in EHEC O26 have not been investigated in detail in the Japanese population. In this study, we investigated the prevalence and mechanism of FOM resistance among 221 EHEC O26 isolates from patients (43 incidents) in Fukuoka Prefecture from 2007 to 2016. Antimicrobial-susceptibility testing against 12 drugs revealed that seven isolates (3.2%, 4 incidents) showed resistance to FOM, with no resistance to other tested drugs. FOM had been prescribed to 20.0%–100% of the patients in the four FOM-resistant incidents. Whole genome analysis showed that FOM-resistant isolates did not possess a plasmid-borne *fos* gene; however, mutations in the gene encoding GlpT, a transporter responsible for FOM uptake, were detected. These findings suggest that FOM resistance in EHEC O26 has sporadically emerged in Fukuoka Prefecture, primarily through chromosomal mutations.

[Keywords; Enterohemorrhagic *Escherichia coli*, fosfomycin, antimicrobial resistance, whole genome analysis]