

〔資料〕

石川県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症の発生状況について

- 2017年度 -

石川県保健環境センター 健康・食品安全科学部 木村 恵梨子・小坂 恵・塩本 高之
谷村 睦美

〔和文要旨〕

2017年度に石川県に届出されたカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) 感染症の発生状況および患者から分離された菌株の β -ラクタマーゼ産生性を調べた。14株について検査を実施したところ、カルバペネマーゼ産生株は3株であり、シーケンス解析の結果、いずれもIMP-1 β -ラクタマーゼ遺伝子を保有していた。クラスA β -ラクタマーゼ産生株は3株で、うち1株は基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ (ESBL) 遺伝子のみを保有する株であったが、クラブラン酸およびスルバクタムによる阻害が確認されなかった。阻害剤が無効のESBLが報告されていることから、耐性遺伝子検出と阻害剤を用いた β -ラクタマーゼ産生性確認の併用による試験検査の重要性が示唆された。

キーワード：薬剤耐性菌, カルバペネム耐性腸内細菌科細菌, β -ラクタマーゼ産生菌, カルバペネマーゼ

1 はじめに

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (以下, CRE) 感染症は, 2014年9月19日より「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」(以下, 感染症法) において5類全数把握対象疾患となり, 診断した医師は届出の義務がある。本感染症は, メロペネム等のカルバペネム系抗菌薬および広域 β -ラクタム剤に対して耐性を示す腸内細菌科細菌による感染症の総称である。腸内細菌科細菌におけるカルバペネム耐性は, カルバペネム系分解酵素であるカルバペネマーゼを産生する場合と, クラスC型や基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ産生と細胞膜透過性低下変異の組み合わせにより獲得される場合があり, なかでもカルバペネマーゼ産生菌は広域 β -ラクタム剤に汎耐性を示し, 同時に他の複数の系統の薬剤にも耐性を有することが多いため, 臨床的に問題となっている¹⁾。

2017年3月28日には, 地域における薬剤耐性菌のまん延などの流行状況を把握するためCREの届出のあった際の地方衛生研究所等において耐性遺伝子等の試験検査を実施する旨, 厚生労働省健康局結核感染症課長より通知 (以下, 通知) されたところである²⁾。

本報では, 2017年度の石川県 (以下, 本県) におけるCRE感染症患者発生状況と, 患者由来株を対象に実施したカルバペネマーゼ遺伝子等の試験検査結果について報告する。

2 材料と方法

2.1 CRE感染症の発生状況

2017年4月~2018年3月に感染症法に基づき本県に届出されたCRE感染症15事例に対し, 患者の症状, 分離された検体, 菌種名について集計した。

2.2 CRE検査

2.1で届出された事例から, 分離されたCREのうち

Prevalence of Carbapenem resistant Enterobacteriaceae from April, 2017 to March, 2018 in Ishikawa Prefecture. by KIMURA Eriko, KOSAKA Megumi, SHIOMOTO Takayuki and TANIMURA Mutsumi (Health and Food Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science)

Key words : Antimicrobial Resistant Bacteria, Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae, β -lactamase Producing Bacteria, Carbapenemase

通知に基づき搬入された14株を用いた。

(1) 阻害剤を用いた β -ラクタマーゼ産生性の確認

14株全てについて、下記ア～エについて国立感染症研究所による薬剤耐性菌研修会資料³⁾および国立感染症研究所病原体検出マニュアル⁴⁾に従い実施した。

ア KPC型カルバペネマーゼの検出

イミペネム（以下、IPM）およびメロペネム（以下、MEPM）ディスクに3-アミノフェニルボロン酸（以下、APB）を添加し、いずれかの薬剤ディスクにおいて、阻止円の拡張が見られたものを陽性とした。

イ メタロ- β -ラクタマーゼの検出

MEPM, セフトジジム（CAZ）のディスクとメルカプト酢酸ナトリウム含有ディスク（以下、SMA）を使用し、阻止円の拡張が見られたものを陽性とした。

ウ 基質特異性拡張型 β -ラクタマーゼ（以下、ESBL）の検出

CAZ, セフォタキシム（以下、CTX）のディスクとクラブラン酸含有ディスク、スルバクタム含有ディスクを使用し、阻止円の拡張が見られたものを陽性とした。

エ AmpC β -ラクタマーゼ（以下、AmpC）の検出
セフェム系のセフメタゾール（以下、CMZ）、セフミノクス（以下、CMNX）にAPBを添加し、いずれかの薬剤ディスクにおいて、阻止円の拡張が見られたものを陽性とした。

(2) カルバペネマーゼ産生性の確認

(1)のアおよびイにより、陽性と判定した株について、CLSI (Clonical and Laboratory Standard Institute) 2017 (M100-S27)⁵⁾に従い modified Carbapenem-inactivation method（以下、mCIM）でカルバペネマーゼ産生性の確認を行った。

(3) PCR法による β -ラクタマーゼ遺伝子検出

14株全てについて国立感染症研究所による薬剤耐性菌研修会資料³⁾および国立感染症研究所病原体検出マニュアル⁴⁾に従い、PCR法により β -ラクタマーゼ遺伝子の検出を試みた。その内訳は①カルバペネマーゼ遺伝子（IMP-1型、IMP-2型、NDM型、KPC型、OXA-48型、VIM型、GES型）、②ESBL遺伝子（TEM型、SHV型、CTX-M-1group、CTX-M-2group、CTX-M-9group）、③AmpC遺伝子（MOX型、CIT型、DHA型、ACC型、EBC型、FOX型）である。

(4) β ラクタマーゼ遺伝子シーケンス

(3)によりIMP-1型 β -ラクタマーゼ遺伝子を検出した株については、シーケンス解析⁴⁾により遺伝子配列を確認し、*bla*_{IMP-1}と*bla*_{IMP-6}の鑑別を行った。

3 結果

3・1 CRE感染症の届出状況

2017年4月～2018年3月までに届出があった15事例について表1に示す。症状は尿路感染症のみが5例、肺炎のみが3例、胆嚢炎・胆管炎、尿路感染症・肺炎、敗血症、腹膜炎、肺炎・菌血症、敗血症・胆管炎、その他（手術部位の感染症）がそれぞれ1例であった。分離検体は尿が5件、喀痰が4件、胆汁、血液がそれぞれ2件、腹水、膿がそれぞれ1件であった。菌種については、*Enterobacter aerogenes*（以下、*E.aerogenes*）が4件、*Enterobacter cloacae*（以下、*E.cloacae*）が4件、*Escherichia coli*（以下、*E.coli*）が2件、*Klebsiella pneumoniae*（以下、*K.pneumoniae*）が2件、*Enterobacter cloacae complex*（以下、*E.cloacae complex*）が1件、*Citrobacter braakii*（以下、*C.braakii*）が1件、*Serratia marcescens*が1件であった。

3・2 CRE検査

(1) 阻害剤を用いた β -ラクタマーゼ産生性の確認

事例番号5, 12, 13の3株についてはSMAによる阻害がみられた。事例番号3, 4, 5, 12以外の10株には、セフェム系薬剤のAPBによる阻害がみられた。14株全てにおいて、クラブラン酸およびスルバクタムによる阻害はみられなかった（表1）。

(2) カルバペネマーゼ産生性の確認

阻害剤を用いた β -ラクタマーゼ産生性確認において、SMAに阻止帯の形成が確認できた3株はいずれもmCIM陽性であり、カルバペネマーゼ産生であった。

(3) PCR法による β -ラクタマーゼ遺伝子検出

事例番号5, 12, 13の3株からカルバペネマーゼ遺伝子を検出し、いずれもIMP-1型であった。そのうち事例番号12と13はそれぞれ、ESBL遺伝子であるSHV型遺伝子またはAmpC遺伝子であるEBC型遺伝子を併せて保有していた。その他、事例番号4からESBL遺伝子であるCTX-M-9 group 遺伝子、事例番号6と9からEBC型遺伝子、事例番号14からESBL遺伝子であるTEM型遺伝子とAmpC遺伝子であるCIT型遺伝子を検出した（表1）。

(4) β ラクタマーゼ遺伝子シーケンス

IMP-1型 β -ラクタマーゼ遺伝子陽性3株についてシーケンス解析を行ったところ、いずれも*bla*_{IMP-1}であった。

4 考察

複数の β -ラクタマーゼを産生する株は、阻害効果が確認できないことがあるとされ³⁾⁶⁾、ESBLとAmpC同時産生菌についてはクラブラン酸がAmpCの過剰産生を誘発し、ESBLの阻害効果をマスキングするという報

表 1 CRE 感染症発生状況及び薬剤耐性遺伝子検査結果 (2017年度)

事例番号	菌種名	症状	検体	性別	年齢	ディスク法*	薬剤耐性遺伝子	
							カルバペネマーゼ	その他
1	<i>Enterobacter aerogenes</i>	肺炎	喀痰	男	82		菌株搬入されず	
2	<i>Enterobacter aerogenes</i>	尿路感染症	尿	女	87	APB**	—	—
3	<i>Citrobacter braakii</i>	胆嚢炎・胆管炎	胆汁	女	80	—	—	—
4	<i>Escherichia coli</i>	尿路感染症	尿	女	93	—	—	CTX-M-9 group
5	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	肺炎	喀痰	男	62	SMA	<i>bla</i> _{IMP-1}	—
6	<i>Enterobacter cloacae</i>	尿路感染症・肺炎	喀痰	女	90	APB**	—	EBC型
7	<i>Enterobacter aerogenes</i>	敗血症	血液	男	57	APB**	—	—
8	<i>Enterobacter aerogenes</i>	尿路感染症	尿	男	68	APB**	—	—
9	<i>Enterobacter cloacae</i>	肺炎	喀痰	女	80	APB**	—	EBC型
10	<i>Serratia marcescens</i>	尿路感染症	尿	女	90	APB**	—	—
11	<i>Enterobacter cloacae</i>	腹膜炎	腹水	男	72	APB**	—	—
12	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	肺炎・菌血症	血液	男	71	SMA	<i>bla</i> _{IMP-1}	SHV型
13	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	敗血症・胆管炎	胆汁	男	73	SMA, APB**	<i>bla</i> _{IMP-1}	EBC型
14	<i>Escherichia coli</i>	尿路感染症	尿	女	87	APB**	—	TEM型, CIT型
15	<i>Enterobacter cloacae</i>	その他	膿	男	87	APB**	—	—

*ディスク法により陽性と判定したものについてその阻害剤名を記載

**セフェム系薬剤にて阻止円が拡張

告もある⁷⁾。今回の事例番号12及び14はESBL遺伝子を保有しているがクラブラン酸およびスルバクタムによる阻害がみられず、その報告⁷⁾を裏付ける結果となった。一方、事例番号4は、今回実施した阻害剤を用いた確認試験や遺伝子検査ではカルバペネマーゼやAmpCの産生が確認できず、CTX-M-9group遺伝子のみを保有し、ESBLであるにもかかわらず、クラブラン酸やスルバクタムによる阻害がみられなかった。

多くのESBLは、クラブラン酸やスルバクタムによって阻害されるが、複数のβラクタマーゼの同時産生以外にも阻害剤が無効のものがあるという報告もされており⁷⁾事例番号4はその可能性が考えられる。これらのことから、阻害剤を用いた確認法のみでは見逃しがあることが示唆されるが、遺伝子検査を追加することでより正確な耐性菌の検出が可能になると思われた。

また、TEM型、SHV型についてはESBLでなくプロトタイプのβラクタマーゼ遺伝子の可能性もあることから、今後シーケンス解析による詳細な遺伝子型別が可能な検査体制の整備をしていきたいと考えている。

搬入されたCRE14株のうち、カルバペネマーゼ産生株は3株(21.4%)であり、既報⁸⁾⁹⁾とほぼ同様の検出状況であった。カルバペネマーゼ遺伝子については、日本国内であっても地域によって流行している型が異なることが知られており、今回の検査では西日本を中心として報告されている*bla*_{IMP-6}保有株⁵⁾は検出されなかった。*bla*_{IMP-6}保有株は医療機関にて実施される日常的な薬剤感受性試験でイミペネムに「R:耐性」と判定されない場合が多く、見落とされる危険性があることから¹⁰⁾、今後も引き続き耐性菌出現の動向を注視する必要があると考えられた。

5 まとめ

- (1) 2017年度に届出されたCREは15株でそのうち1株を除く14株の遺伝子検出を実施したところ、カルバペネマーゼ産生株は3株であり、いずれも*bla*_{IMP-1}遺伝子を保有していた。
- (2) CTX-M-9group遺伝子のみを保有し、クラブラン酸及びスルバクタムによる阻害試験において阻害を確認できない株が1株あった。阻害剤が無効のESBLも報告されていることから、耐性遺伝子の検出と阻害剤を用いたβラクタマーゼ産生性の確認の併用による試験検査の重要性が示唆された。

文 献

- 1) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報, **35**, 281-282 (2014)
- 2) 厚生労働省健康局結核感染症課長通知健感発0328第4号：カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)感染症等に係る試験検査の実施について, 2018年3月28日
- 3) 国立感染症研究所 薬剤耐性研究センター；平成29年度薬剤耐性菌研修会資料
- 4) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル 薬剤耐性菌, H28.12月改訂版 Ver.1.1
- 5) CLSI: Performances Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-seventh Information Susceptibility Testing; Twenty-seventh Information Supplement, M100-S27, Jan. 2017.
- 6) 一般財団法人日本臨床微生物学会 多剤耐性菌検査の手引き, <http://www.jscm.org/tazaitaisei/54.html>, 2018年8月1日
- 7) David L. Paterson and Robert A. Bonomo:

Extended-Spectrum β -Lactamases: a Clinical Update, 10. 1128/CMR. 18. 4. 657-686. 2005

- 8) 鈴木里和：我が国におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）の現状，日本臨床微生物学雑誌，**27**，128（2017）
- 9) 範本志保，内田薫，金谷潤一，木全恵子，磯部順子，綿引正則：富山県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症の患者発生動向と患者由来株のカルバペネマーゼ遺伝子保有状況について（2016年），富山県衛生研究所年報，**40**，120-121（2016）
- 10) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報，**35**，283-284（2014）