

茨城県におけるカルバペネム耐性腸内細菌目細菌の検査状況（2021年～2023年）

○織戸 優、伊師 拓哉¹、石川 加奈子、金崎 雅子²

¹現：ひたちなか保健所、²現：退職

要旨

茨城県衛生研究所では、2017年7月からカルバペネム耐性腸内細菌目細菌（CRE）の検査を実施している。直近の3年間（2021年1月から2023年12月）で当所に搬入されたCRE菌株について、ディスク拡散法によるβ-ラクタマーゼ産生性のスクリーニング検査、カルバペネマーゼ産生性のスクリーニング検査、PCR法による薬剤耐性遺伝子検査を実施した結果、154株中6株がカルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌（CPE）と判定された。検出されたカルバペネマーゼ遺伝子は、IMP-1が5株、NDM-5が1株であった。

キーワード：カルバペネム耐性腸内細菌目細菌（CRE）、カルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌（CPE）、カルバペネマーゼ遺伝子

1. はじめに

CRE感染症はグラム陰性菌による感染症の治療薬として重要な位置付けであるカルバペネム系抗菌薬及び広域β-ラクタム剤に対して、耐性を示す腸内細菌目細菌による感染症の総称である。CREがカルバペネム系抗菌薬に耐性を示すメカニズムは、β-ラクタマーゼの産生量増加及び外膜蛋白（ポーリン）の変化によるものと、カルバペネム分解酵素であるカルバペネマーゼの産生によるものの2つに大別される¹⁾。特に後者のメカニズムによるものはCPEと呼ばれ、カルバペネマーゼ遺伝子がプラスミド上に存在することから、薬剤耐性が菌種を越えて伝播する可能性があり、特に警戒が必要である²⁾。

近年、CREの増加は世界的な問題となっている。日本においてもCRE感染症は感染症法上2014年9月19日より5類全数把握疾患に追加された。また、2017年3月に発出された厚生労働省通知³⁾により、CRE感染症の届出があった際は、地方衛生研究所等で当該病原体の検査を実施し、結果を感染症サーベイランスシステム（NESID）に報告することとされた。

当所では2017年7月からCRE検査を実施している。本報では当所における直近の3年間の検査状況について報告する。

2. 材料と方法

2-1 供試菌株

2021年1月から2023年12月までの間にCRE感染症の患者から分離され、当所に搬入された菌株154株を検査材料とした。

2-2 菌種の同定

搬入された全菌株に対し、アピ20E（バイオメリュー）、2023年2月以降はMALDI Biotayper sirius（ブルカー）による菌種確認を行った。

2-3 ディスク拡散法によるβ-ラクタマーゼ産生性のスクリーニング検査

メタロβ-ラクタマーゼ（MBL）産生性のスクリーニング検査では、薬剤ディスクとしてセフトジジム（CAZ）及びメロペネム（MEPM）を用い、阻害剤としてメルカプト酢酸ナトリウム（SMA）ディスクを使用した。KPC型カルバペネマーゼ産生性のスクリーニング検査では、薬剤ディスクとしてMEPMを用い、阻害剤として3-アミノフェニルボロン酸（APB）を使用

した。検査及び結果判定の方法は病原体検出マニュアル⁴⁾に従った。

基質拡張型β-ラクタマーゼ (ESBL) 産生性のスクリーニング検査では、薬剤ディスクとして CAZ 及びセフトキシム (CTX) を用い、阻害剤としてクラブラン酸及びスルバクタムを使用した。結果判定は薬剤ディスクと阻害剤の間で阻止円の拡張が認められた株を陽性とした。

AmpC β-ラクタマーゼ産生性のスクリーニング検査では、薬剤ディスクとしてセフメタゾール (CMZ) を用い、阻害剤として APB 及びクロキサシリン (MCIPC) を使用した。検査及び結果判定の方法は病原体検出マニュアル⁴⁾に従った。

2-4 カルバペネマーゼ産生性のスクリーニング検査

CLSI M100 に記載された modified Carbapenem Inactivation Method (mCIM)^{5,6)}に従って、カルバペネマーゼ産生性を確認した。

2-5 PCR 法による薬剤耐性遺伝子検査

検査対象遺伝子は、カルバペネマーゼ遺伝子 (IMP 型、NDM 型、KPC 型、OXA-48 型、VIM 型、GES 型)、ESBL 遺伝子 (TEM 型、SHV 型、CTX-M-1 group、CTX-M-2 group、CTX-M-9 group)、AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子 (MOX 型、CIT 型、DHA 型、ACC 型、EBC 型、FOX 型) とし、マルチプレックス PCR 法⁷⁾ 及び病原体検出マニュアル⁴⁾に記載された方法を用いた。

2-6 シークエンスによるカルバペネマーゼ遺伝子の解析

カルバペネマーゼ遺伝子の保有が確認された株については、シークエンスを実施し塩基配列を決定した。IMP 型については病原体検出マニュアル⁴⁾の方法に従い、NDM 型については Kaase らの方法⁸⁾に従った。

3. 結果

3-1 CRE 感染症の発生状況

当所における CRE 感染症の届出に基づく検査件数は、2021 年は 48 件、2022 年は 45 件、2023 年は 61 件であった。患者の性別は、男性 103 例 (66.9%)、女性 51 例 (33.1%) であった。年齢分布は 0~97 歳、中央値は 78 歳で、60 歳以上の患者が全体の 89.0%を占めていた。臨床診断は胆嚢炎・胆管炎 49 例、尿路感染症 45 例、菌血症・敗血症 32 例、肺炎 23 例、腹膜炎 10 例、腸炎 5 例、その他 44 例であった (複数の症状が記載されているものを含む) (表 1)。分離検体は、血液 47 例 (30.1%)、尿 39 例 (25.0%)、胆汁 27 例 (17.3%)、喀痰 18 例 (11.5%)、膿 8 例 (5.1%)、腹水 6 例 (3.8%)、便 4 例 (2.6%)、胸水 1 例 (0.6%)、その他 6 例 (3.8%) であった (表 2)。菌種は、*K. aerogenes* 83 株 (53.9%)、*E. cloacae* complex 39 株 (25.3%)、*C. braakii* 9 株 (5.8%)、*K. pneumoniae* 8 株 (5.2%)、*C. freundii* 6 株 (3.9%)、*S. marcescens* 4 株 (2.6%)、*E. coli* 2 株 (1.3%)、その他 3 株 (1.9%) であり (表 3)、*K. aerogenes* の割合が全国¹⁰⁾ (39.8%) より高かった。薬剤耐性を MEPM の基準で判定した症例は 15 例 (9.7%)、イミペネム (IPM) と CMZ の基準で判定した症例は 100 例 (64.9%)、両者で判定した症例は 39 例 (25.3%) であり、IPM/CMZ の割合が高かった。

表1. 診断別件数

診断名 (重複あり)	件数
胆嚢炎・胆管炎	49
尿路感染症	45
菌血症・敗血症	32
肺炎	23
腹膜炎	10
腸炎	5
その他	44

表2. 分離検体別件数

分離検体名	件数	割合 (%)
血液	47	30.1
尿	39	25.0
胆汁	27	17.3
喀痰	18	11.5
膿	8	5.1
腹水	6	3.8
便	4	2.6
胸水	1	0.6
その他	6	3.8

表3. 菌種別株数

菌種名	株数	割合 (%)
<i>K. aerogenes</i>	83	53.9
<i>E. cloacae</i> complex	39	25.3
<i>C. braakii</i>	9	5.8
<i>K. pneumoniae</i>	8	5.2
<i>C. freundii</i>	6	3.9
<i>S. marcescens</i>	4	2.6
<i>E. coli</i>	2	1.3
その他	3	1.9

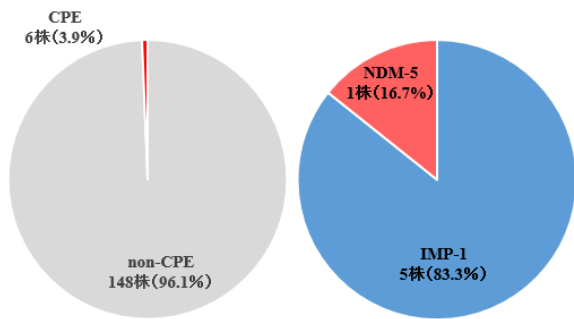


図1. CPE 検出割合及び遺伝子型別

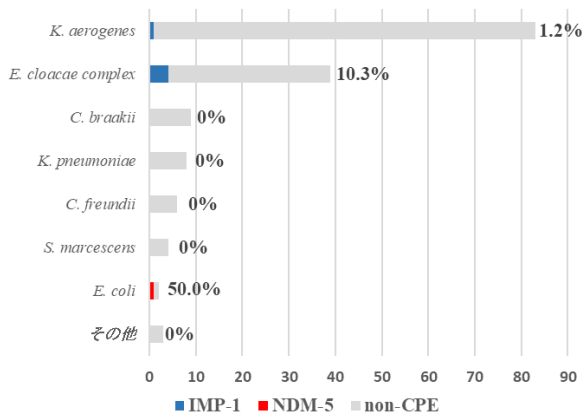


図2. 菌種別 CPE 検出割合

3-2 搬入菌株の検査結果

対象菌株 154 株に対し、ディスク拡散法による β-ラクタマーゼ産生性のスクリーニング検査、カルバペネマーゼ産生性のスクリーニング検査、PCR 法による薬剤耐性遺伝子検査を実施した結果、CPE と判定された菌株は 6 株 (3.9%) であった (図 1)。検出されたカルバペネマーゼ遺伝子は、IMP 型が 5 株 (83.3%)、NDM 型が 1 株 (16.7%) であった。これらを遺伝子型別するためにシーケンス解析した結果、IMP 型は全て IMP-1 (*E. cloacae* complex 4 株、*K. aerogenes* 1 株) であり、IMP-6 は検出されなかった。NDM 型は NDM-5 (*E. coli*) であった (図 2)。なお、ディスク拡散法による MBL 産生性のスクリーニング検査及び mCIM では、これら 6 株すべてで陽性が確認された。

ESBL 遺伝子については、SHV 型が 7 株 (*K. pneumoniae* 5 株、*K. variicola* 1 株、*K. aerogenes* 1 株)、CTX-M-1 group が 6 株 (*K. pneumoniae* 2 株、*K. aerogenes* 2 株、*E. coli* 1 株、*E. cloacae* complex 1 株)、TEM 型が 4 株 (*K. pneumoniae* 2 株、*K. aerogenes* 1 株、*E. coli* 1 株)、CTX-M-9 group が 2 株 (*K. pneumoniae* 1 株、*E. cloacae* complex 1 株) であった。

AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子については、EBC 型が 37 株 (*E. cloacae* complex 28 株、*K. aerogenes* 8 株、*Cronobacter* sp. 1 株)、DHA 型が 5 株 (*K. pneumoniae*)、CIT 型が 1 株 (*C. freundii*) であった。

3-3 考察

CRE 感染症の届出に基づき、2021 年 1 月から 2023 年 12 月までに当所に搬入された 154 株のうち、CPE と判定された株は 6 株 (3.9%) であり、全国¹⁰⁾ (CPE 212 株/CRE 1,426 株、14.9%) と比較して低い割合であった。一方、搬入菌株に占める *K. aerogenes* は高い割合であった。病

原体サーベイランスにおいて、菌種別のカルバペネマーゼ遺伝子陽性率は、*K. aerogenes* は非常に低い一方で、*K. pneumoniae*、*E. coli*、*K. oxytoca* は高い割合となっている¹⁰⁾。本県のCPE検出割合の低さの要因の一つとしては、搬入菌株に占める*K. aerogenes*の割合が高く、*K. pneumoniae*、*E. coli*、*K. oxytoca*の搬入が少ないことが考えられる。菌種によってカルバペネマーゼ遺伝子陽性率に違いがみられるため、今後も搬入検体の菌種とCPE検出割合の傾向を注視していく必要がある。

国内で主に検出されるカルバペネマーゼはIMP型であり、その多くはIMP-1とIMP-6である。これらの分布には地域特性があり、IMP-1は全国から分離され、IMP-6は西日本地域を中心に分離されている¹⁰⁾。今回検出されたIMP型は全てIMP-1であり、全国と同様の傾向が示された。IMP-6は検出されなかった。しかし、IMP-6は、MBL遺伝子の配列がIMP-1と一塩基異なることで、アミノ酸の変異が起り、IPM分解活性がMEPM分解活性の7分の1にまで低下する¹¹⁾。このため、IMP-6産生株に対するカルバペネム系薬の感受性試験をIPMだけで行った場合、IPMに感性となり見落とされる危険性がある¹²⁾。

NDM型は海外型カルバペネマーゼである¹⁰⁾。当所では既報⁹⁾を含め、過去5年間でNDM-5計3株検出された。分離された患者は海外渡航歴がなかったが、大都市圏に比較的に近い地域から検出された。また、隣接自治体において海外渡航歴無し・不明のNDM型が複数検出されている¹³⁾ことから、県外からの流入の可能性が推察された。

薬剤耐性菌によるアウトブレイクを未然に防ぐためには、今後も継続的にサーベイランスを行い、正確かつ迅速に検査を実施して、医療機関をはじめ広く情報提供をすることが重要

であると考えられる。

文献

- 1) 荒川宜親. 病原微生物検出情報 IASR 35: 283-284, 2014
- 2) 国立感染症研究所. 病原微生物検出情報 IASR 40: 17-18, 2019
- 3) 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」. 平成29年3月28日
- 4) 国立感染症研究所. 病原体検出マニュアル 薬剤耐性菌. 2020
- 5) CLSI 2018. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; M100-S28
- 6) CLSI 2017. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; M100-S27
- 7) Watahiki M. *et al.* 2020. Jpn J Infect Dis. 73 (2) : 166-172
- 8) Kaase M. *et al.* 2011. J Antimicrob Chemother. 66 (6) : 1260-1262
- 9) 茨城県衛生研究所年報第59号(2021年)
- 10) 国立感染症研究所. 病原微生物検出情報 IASR Vol.45:p129-130, 2024年7月号
- 11) Yano H. *et al.* 2001. Antimicrob Agents Chemother. 45 (5) : 1343-1348
- 12) 鹿山鎮男 他. 2016. THE CHEMICAL TIMES. 239: 3-9
- 13) 国立感染症研究所. 病原微生物検出情報 IASR Vol. 40 p158-159:2019年9月号