

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）感染症の発生動向と耐性遺伝子の保有状況

川原康彦¹⁾ 保田和里 福留智子 内山浩子²⁾ 吉野修司 杉本貴之

Surveillance of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae Infectious diseases and the Detection of Resistance gene in Miyazaki Prefecture.

Kawahara Yasuhiko, Yasuda Asato, Fukudome Tomoko, Uchiyama Hiroko, Yoshino Shuji, Sugimoto Takayuki

要旨

CRE 感染症は感染症法に基づく 5 類全数把握対象疾患である。今回、2017 年 3 月から 2020 年 3 月までに 5 類感染症として届出された菌株 42 株、及び届出基準に満たないカルバペネム耐性の菌株 7 株、計 49 株を対象に、プラスミド性 β ラクタマーゼの検出を行った。その結果、*Citrobacter koseri* 2 株からカルバペネマーゼ(IMP-1)を検出した。IMP-1 は国内で検出頻度が最も高いカルバペネマーゼ遺伝子であり、県内でも存在することが確認された。IMP-1 は院内でのアウトブレイク事例が多数報告されているため、今後も CRE の β ラクタマーゼの検出を継続し発生動向を把握しておく必要があると考える。

キーワード：カルバペネマーゼ，CRE，薬剤耐性

はじめに

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(carbapenem-resistant Enterobacteriaceae : CRE)は「最後の切り札」と呼ばれるカルバペネム系抗菌薬に耐性を示す腸内細菌で、世界各地で急激に増加している薬剤耐性菌である。このため、国内では 2016 年に薬剤耐性(AMR)アクションプランが作成され、サーベイランスの強化、抗菌薬使用量の減少や啓発活動等の取り組みがされている。CRE の中でも特に感染対策として重要となるのは、 β ラクタマーゼの 1 つであるカルバペネマーゼを産生する腸内細菌科細菌で、carbapenemase-producing Enterobacteriaceae(CPE)とよばれ、世界中で増加傾向にある。今回、医療機関や検査センターから依頼のあった CRE について、プラスミド性 β ラクタマーゼの検出を行ったので報告する。

対象

2017 年 3 月から 2020 年 3 月までに 5 類感染症として届けられた菌株 42 株、及びカルバペネム耐性ではあるものの届出基準を満たさなかった CRE 菌株 7 株の計 49 株を対象とした。

方法

1 遺伝子型の検出及び塩基配列の確認

病原体検出マニュアル¹⁾に従い、①カルバペネマーゼ(6 種)、②ESBL(5 種)及び③AmpC 型 β ラクタマーゼ(6 種)の計 17 種の β ラクタマーゼについて PCR 法での検索を行った(表 1)。また、カルバペネマーゼが検出された場合には塩基配列の解析を行い、得られた配列を blast で相同性検索を行い遺伝子の同定を行った。

微生物部 ¹⁾県立延岡病院 ²⁾日向食肉衛生検査所

表1 目的とする遺伝子型

カルバペネマーゼ	ESBL	AmpC
NDM型	TEM型	MOX型
KPC型	SHV型	CIT型
IMP-1型	CTX-M-1型	DHA型
IMP-2型	CTX-M-2型	ACC型
VIM型	CTX-M-9型	EBC型
OXA48型		FOX型

2 ディスクを用いた表現型の確認

各種βラクタマーゼの表現型を確認するため、①クラブラン酸(CA)による阻害試験、②メルカプト酢酸 Na(SMA)による阻害試験、③ボロン酸(BA)による阻害試験、④クロキサシリン(MCIPC)による阻害試験及び⑤mCIM(modified Carba-penem Inactivation Method)²⁾を行った。

結果

1 菌株の由来

対象となった49株の由来は喀痰が42.9%で最も多く、次いで尿16.3%、胆汁10.2%、その他血液、糞便等であった。また年齢別では70歳代が33.3%で最も多く、次いで80歳代23.1%、60歳代20.8%と60歳以上で87.5%を占めた。性別は男性65.3%、女性34.7%と男性に多い傾向がみられた。

2 βラクタマーゼの検出

カルバペネマーゼは*Citrobacter koseri* 2株からIMP-1型が検出された(表2)。塩基配列の相同性検索ではともにIMP-1と100%一致した。AmpC型βラクタマーゼは*Enterobacter*属からのみEBC型が検出されており、その他の菌種では検出されなかった。また、ESBLはTEM型が5株と最も多く、その他CTX-M-1型4株、CTX-M-9型3株、SHV型2株及びCTX-M-2型1株が検出された。また、PCR法とディスク法で結果が矛盾するようなものはなかった。

考察

腸内細菌科細菌のカルバペネム系抗菌薬の耐性

表2 βラクタマーゼの検出状況

菌種	件数	カルバペネマーゼ	ESBL	AmpC
<i>Enterobacter aerogenes</i>	18	0	1	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	17	0	2	10
<i>Enterobacter asburiae</i>	1	0	0	1
<i>Enterobacter cancergenous</i>	1	0	0	0
<i>Escherichia coli</i>	5	0	5	0
<i>Citrobacter koseri</i>	3	2	2	0
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	0	1	0
<i>Proteus mirabilis</i>	2	0	0	0
<i>Serratia marcescens</i>	1	0	1	0

*カルバペネマーゼ、ESBL、AmpC型βラクタマーゼそれぞれで1種類以上のβラクタマーゼが検出された株を計上

機序としてはカルバペネマーゼを産生するCPEと、ESBLやAmpC型βラクタマーゼを産生し外膜ポーリンの変化により抗菌薬の透過性が低下するものがある。特にCPEはプラスミド上にカルバペネマーゼ産生遺伝子を保有し、他の系統の耐性遺伝子も保有していることも多いため、院内感染対策上重要となる。今回の調査では高齢者にCREの検出が多い傾向がみられたが、これまでの入院や抗生物質の使用で耐性菌を獲得し、免疫の低下によって感染症を引き起こした症例が多かったと思われる。

Citrobacter koseri 2株からカルバペネマーゼが検出されており、ともにIMP-1であった。これらの患者は海外渡航歴等なく、感染源は不明であった。IMP-1は日本国内で検出頻度が最も高いカルバペネマーゼ遺伝子であり、県内においても存在することが確認された。IMP-1は院内でのアウトブレイク事例が多数ある⁴⁾ことから今後もCREのβラクタマーゼの検出を継続し発生動向を把握しておく必要があると考える。

全国の地方衛生研究所が行った耐性遺伝子検査ではCREのカルバペネマーゼ陽性率は2018年に17.6%であり³⁾、当研究所で行った調査においては陽性率4.1%と低い傾向が見られた。また、海外型と呼ばれるNDM型やKPC型等も確認されなかったため、全国と比較し県内においては市中でCPEがあまり拡散していないと考えられる。この要因としては都市部と比較し、人の往来が少なく、外国人も少ないことが考えられた。しかし、今回の調査では当研究所に搬入された株のみを対象としているため保菌と判定され、届出がされな

かった CPE があるのではないかとされる。

今後は医療機関で保菌と判定された患者から分離された株についても積極的に株の収集を行い、県内での CRE の調査を行っていききたい。

文献

- 1) 国立感染症研究所. 病原体検出マニュアル 薬剤耐性菌(2016年12月改訂版 ver1.1).
- 2) 平成30年度薬剤耐性菌の検査に関する研修

資料

- 3) 国立感染症研究所. カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, CRE) 病原体サーベイランス. IASR vol40 2019 ; 40 : 157-158.
- 4) 国立感染症研究所. 大阪市内大規模病院におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の長期間にわたる院内伝播. IASR vol35 2014 ; 35 : 290-291.