

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

微生物部 ○川原 康彦、保田 和里、福留 智子
内山 浩子、吉野 修司、杉本 貴之

1 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。

2 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。

3 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。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で同源性検索を行い遺伝子の同定を行った。

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 Carbapenem Inactivation Method)²⁾を行った。

4 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。性別においては男性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)。塩基配列の同源性検索ではともに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、

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した。

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。

5 考察

腸内細菌科細菌のカルバペネム系抗菌薬の耐性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。この患者ら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 型等も確認されたなかったため、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 があるのではないと思われる。

今後は医療機関で保菌と判定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たい。

参考文献

- 1) 病原体検出マニュアル 薬剤耐性菌(2016 年 12 月改訂版 ver1.1)<https://www.niid.go.jp/niid/images/lab-manual/ResistantBacteria201612V1.1.pdf>. (2021 年 2 月 18 日アクセス可能)
- 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病原体サーベイランス 2018 年. IASR 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の長期間にわたる院内伝播. IASR 2014 ; 33 : 290-291.