

堺市におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）感染症の 発生動向とカルバペネマーゼ遺伝子検出状況

—平成 30（2018）年度—

岩崎 直昭、東野 和直、下迫 純子、福田 弘美

要旨

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）は、グラム陰性菌による感染症の治療において最も重要な抗菌薬であるメロペネムなどのカルバペネム系抗菌薬に耐性を示す。このなかでもカルバペネム分解酵素であるカルバペネマーゼを産生する腸内細菌科細菌（CPE）は、腸内細菌科細菌の別の菌種へカルバペネマーゼ遺伝子を伝播し、新たな耐性菌を出現させるため、CPEの検出状況を把握することは臨床的・疫学的にも重要である。

堺市における平成 30 年度の CRE 感染症は 51 例の届出があり、市内医療機関等より提供された 51 株のうち 4 株が IMP 型のカルバペネマーゼ遺伝子を保有する CPE であった。

CPE の確認は、PCR 法により耐性遺伝子の検出が必要であるため医療機関等で判定することが難しい。このため地方衛生研究所において、PCR 法による耐性遺伝子を検出し、ディスク法等の表現型検査との整合性を確認した上で判定することが求められている。

CRE 感染症の拡大防止と予防対策を実施するためには、今後も継続して CRE 感染症の検査を行い、保健所、医療機関等と情報を共有し、流行状況を把握することが重要である。

1. はじめに

堺市における平成 30 年度の CRE 感染症の発生動向と「CRE 感染症等に係る試験検査の実施について（健感発 0328 第 4 号平成 29 年 3 月 28 日）」の通知¹⁾に基づき、市内医療機関等から提供された CRE 感染症患者由来株について実施したカルバペネマーゼ遺伝子検出状況について以下のとおり報告する。

2. 材料と方法

1) CRE 感染症発生動向調査

平成 30 年度に CRE 感染症として市内で届出のあった 51 例について患者の年齢、性別、菌種及び分離検体の情報を集計した。

2) CRE 感染症患者由来株

平成 30 年度に CRE 感染症として市内で届出のあった 51 例の患者由来株について通知¹⁾に基づき以下 3)カルバペネマーゼ遺伝子の確認、4)カルバペネマーゼ産生性

の確認²⁾を実施した。

3) カルバペネマーゼ遺伝子の確認

PCR 法によりカルバペネマーゼ遺伝子（IMP 型、NDM 型、KPC 型、OXA-48 型、VIM 型、GES 型）を確認した。

4) カルバペネマーゼ産生性の確認

(1) 阻害剤を用いた β -ラクタマーゼ産生性の確認

メタロ- β -ラクタマーゼ産生性確認試験として、ミューラーヒントン寒天培地上にメロペネム（MEPM）とセフトジジム（CAZ）の薬剤ディスクとメタロ- β -ラクタマーゼ活性阻害剤であるメルカプト酢酸ナトリウム（SMA）ディスクを配置し、ディスク拡散法により阻止円径の拡張を確認した。

また、KPC 型カルバペネマーゼ産生性確認試験としてミューラーヒントン寒天培地上に MEPM とイミペネム（IPM）の薬剤ディスクを配置し、KPC 型カルバペネマ

ーゼの阻害剤である 3-アミノフェニルポロン酸 (APB) を添加し、いずれかの薬剤ディスクにおいて、阻止円径の拡張が 5mm 以上あるかを確認した。

(2) Carbapenem Inactivation Method (CIM)

MEPM を各被検菌懸濁液と反応させたのち、メロペネム感性菌 (*E. coli* ATCC 25922) を塗布したミューラーヒントン寒天培地に置き、形成される阻止円径を確認した。

3. 結果

堺市における平成 30 年度の CRE 感染症の年齢群別届出数を表 1、菌種別届出数

および分離検体を表 2、市内医療機関等より提供された患者由来株の CPE 検出状況を表 3 に示した。

表 1 年齢群別届出数 (平成 30 年度)

年齢 (歳)	0～14	15～64	65～74	75～	計
男 (人)	1	4	9	21	35
女 (人)	0	2	5	9	16
届出数	1	6	14	30	51

表 2 菌種別届出数および分離検体 (平成 30 年度)

菌種	届出数	分離検体
<i>Klebsiella aerogenes</i>	28	尿(9)、血液(8)、喀痰(6)、腹水(2) その他(5)
<i>Enterobacter cloacae</i>	14	尿(4)、血液(6)、喀痰(3) その他(3)
<i>Escherichia coli</i>	5	尿(3)、血液(2)、喀痰(1) その他(1)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	尿(3)、その他(1)

表 3 CPE 検出状況 (平成 30 年度)

菌種	株数合計	カルバペネマーゼ遺伝子型	
		IMP型	検出されず
<i>Klebsiella aerogenes</i>	28	0	28
<i>Enterobacter cloacae</i>	14	0	14
<i>Escherichia coli</i>	5	2	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	2	2
合計	51	4	47

1) CRE 感染症発生状況

51 例の届出のうち、男性が 35 例、女性が 16 例で約 86% が 65 歳以上の高齢者であった。菌種は、*Klebsiella aerogenes* が 28 例、*Enterobacter cloacae* が 14 例、*Escherichia coli* が 5 例、*Klebsiella pneumoniae* が 4 例であった。主な分離検体は、尿が 19 例、血液が 16 例、喀痰が 10 例であった。

2) CPE 検出状況

(1) カルバペネマーゼ遺伝子の確認

カルバペネマーゼ遺伝子は、51 株のうち 4 株で IMP 型が検出され、菌種は *Escherichia coli* が 2 株、*Klebsiella pneumoniae* が 2 株であった。NDM 型、KPC 型、OXA-48 型、VIM 型、GES 型は検出されなかった。

(2) カルバペネマーゼ産生性の確認

カルバペネマーゼの産生性は、51 株のうち 5 株で確認された。

IMP 型のカルバペネマーゼ遺伝子が検出された 4 株は、IMP 型を含むメタロ-β-ラクタマーゼの阻害剤である SMA ディスクにより MEPM および CAZ の阻止円径の拡張が認められ、CIM によるカルバペネマーゼ産生性も確認された。

残りの 1 株は KPC 型カルバペネマーゼの阻害剤である APB を用いた試験で、MEPM および IPM における APB による阻止円径の拡張が確認されたが、CIM によるカルバペネマーゼ産生性は確認されず、KPC 型カルバペネマーゼ遺伝子の検出もなかった。

4. 考察

堺市における平成 30 年度の CRE 感染症発生動向調査において、届出数は 51 例で平成 26 年 9 月に CRE 感染症が 5 類全数把握疾患として報告されるようになった。

て一番多かった。性別では、女性よりも男性が多く、そのほとんどは 65 歳以上の高齢者であった。菌種では、*Klebsiella aerogenes* と *Enterobacter cloacae* が多く、以下、*Escherichia coli*、*Klebsiella pneumoniae* であった。性別、年齢および菌種とも国内での CRE 感染症発生状況と同様な傾向を示した³⁾。

今回、51 株のうち 4 株 (*Klebsiella pneumoniae* 2 株、*Escherichia coli* 2 株) から IMP 型のカルバペネマーゼ遺伝子を検出し、カルバペネマーゼ産生性 (SMA ディスクによる阻止円径の拡張と CIM による確認) も確認できた。

IMP 型カルバペネマーゼ遺伝子を保有する CPE は、国内で報告される CPE の 90% 以上を占めており、菌種では *Enterobacter cloacae*、*Klebsiella pneumoniae*、*Escherichia coli* の順に検出が多く、CRE 感染症として最も報告の多い *Klebsiella aerogenes* からの IMP 型の検出はない。また地域による差も認められ、近畿では *Klebsiella pneumoniae*、中国・四国では *Escherichia coli* が多く検出されている⁴⁾。

IMP 型には、国内で多い IMP-1 や IMP-6 のほかアミノ酸配列の異なる 40 種以上の亜型の報告があり、その型別にはシーケンス解析が必要である。IMP-6 などにはカルバペネム系抗菌薬の薬剤感受性結果が必ずしも耐性を示さないステルス型と呼ばれる株も存在する³⁾。また、地域により検出されている型別も違い、IMP-1 は全国的に報告されている株であるが、IMP-6 は東海・北陸、近畿、中国・四国から報告されている株である。今回 IMP 型が検出された 4 株もディスク法による感受性試験では MEPM、CMZ は耐性だが、IPM に感性を示しており、ステルス型の CPE が推察された。このことから地域での詳細な流行状況を把握するために、検出された CPE についてシーケンス解析による遺伝子型別の実施を検討していく必要がある。

次に、KPC 型カルバペネマーゼの阻害剤

である APB を用いたディスク法の検査で MEPM 及び IPM で阻止円径の拡張が確認されたのが 1 株あった。菌種は、*Enterobacter cloacae* で PCR 法による KPC 型遺伝子の検出はなく、CIM でのカルバペネマーゼ産生性も確認されなかったため、AmpC β-ラクタマーゼの阻害剤であるクロキサシリンを用いたディスク法の検査⁵⁾を実施したところ阻止円の拡張が確認されたため、AmpC β-ラクタマーゼの産生量の増加と薬剤の膜透過性低下によるカルバペネム系抗菌薬の耐性が推察された⁶⁾。

KPC 型を含めた NDM 型、OXA-48 型は、これまで海外渡航者から散発的に分離されてきたため、海外型カルバペネマーゼと呼ばれる。しかし近年、渡航歴なし・不明の患者由来株からの検出が増加しており³⁾、これらのカルバペネマーゼ遺伝子に対しても継続して検査を実施し、その動向に注意が必要である。

5. まとめ

- 1) 平成 30 年度の堺市における CRE 感染症は 51 例であった。約 86% が 65 歳以上の高齢者で、分離された菌種は、*Klebsiella aerogenes*、*Enterobacter cloacae*、*Escherichia coli*、*Klebsiella pneumoniae* であった。
- 2) 市内医療機関等より提供された 51 株のうち 4 株が IMP 型の CPE であった。菌種は、*Escherichia coli* と *Klebsiella pneumoniae* から 2 株ずつ検出された。
- 3) IMP 型が検出された 4 株は、ディスク法による感受性試験では IPM に感性を示しており、ステルス型の CPE が推察された。
- 4) IMP 型の CPE は、菌種や遺伝子型で地域差があるため、シーケンス解析等による遺伝子型別の実施を検討する必要がある。

5) 国内で NDM 型、KPC 型および OXA-48 型などの海外型カルバペネマーゼの検出が増加しており、今後も継続して検査を実施し、動向に注意しなければならない。

6. おわりに

CPE は薬剤感受性試験等の表現型検査だけでは判断できない場合もあるので、最終的にはカルバペネマーゼ遺伝子の確認が必要である。また、カルバペネマーゼ遺伝子保有株の分離は地域特性がみられることから、今後も継続して調査を行い、得られた結果を適切に保健所、医療機関等へ情報還元できるようにすることが重要である。

謝辞

今回の調査を実施するにあたり、これらの菌株を分与して頂きました市内各医療機関の関係各位並びに菌株の入手に携わって頂いた感染症対策課の皆様へ深く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) 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(健感発 0328 第 4 号平成 29 年 3 月 28 日)
- 2) 国立感染症研究所: 病原体検出マニュアル 薬剤耐性菌(平成 28 年 12 月改訂)
- 3) 病原微生物検出情報 Vol.40 No.2(2019.2):17-30
- 4) 病原微生物検出情報 Vol.39 No.9(2018.9):162-163
- 5) 平成 28 年度院内感染に関連する薬剤耐性菌の検査に関する研修資料(国立感染症研究所細菌第二部)
- 6) 病原微生物検出情報 Vol.35 No.12(2014.12):281-29