

# 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

岩崎 直昭、東野 和直、福田 弘美

### 要旨

堺市における令和元年度のカルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）感染症は 31 例の届出があり、その多くは 65 歳以上の高齢者であった。市内医療機関等の協力により提供された 31 株の内訳は、*Klebsiella aerogenes* が 15 株、*Enterobacter cloacae* が 13 株、*Klebsiella pneumoniae* が 2 株、*Escherichia coli* が 1 株であり、年齢、菌種ともに全国的な検出状況と同様の傾向を示した。これら 31 株のうち *Enterobacter cloacae*、*Klebsiella pneumoniae*、*Escherichia coli* の 3 株から IMP 型のカルバペネマーゼ遺伝子を検出し、亜型を解析した結果、すべて IMP-6 であった。IMP 型カルバペネマーゼは、国内で報告されているカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌（CPE）の大半を占め、IMP-6 は、東海・北陸、近畿、中国から報告されている亜型である。今後も継続してカルバペネマーゼ遺伝子の検査を実施することで IMP 型の地域での流行状況を把握し、近年増加している NDM 型、KPC 型、OXA-48 型などの海外型 CPE の発生も探知することができる。

### 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、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や広域β-ラクタム剤に対して耐性を示す *Escherichia coli* や *Klebsiella pneumoniae* などの腸内細菌科細菌の感染症である。CRE の増加が世界的に問題となり、わが国でも 2014 年に感染症法の 5 類感染症に指定されている。CRE の中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（Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* : 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、臨床的・疫学的に重要であり、迅速かつ正確な検出が求められる。

ここでは、堺市における令和元年度の 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<sup>1)</sup>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

CRE 感染症として市内で届出のあった 31 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

市内医療機関等より提供された患者由来株 31 株について通知<sup>1)</sup>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<sup>2)</sup>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。さらにカ

ルバペネマーゼ遺伝子を検出した菌株については、シーケンス解析を行い、その亜型を決定した<sup>2)</sup>。

#### 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ス寒天培地上にメロペネム (MEPM) とセフトアジジム (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ス寒天培地上に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-アミノフェニルボロン酸 (APB) を添加し、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ス寒天培地に置き、形成される阻止円径を確認した。

### 3 結果

堺市における令和元年度の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 (令和元年度)

| 年齢 (歳) | 0～14 | 15～64 | 65～74 | 75～ | 計  |
|--------|------|-------|-------|-----|----|
| 男 (人)  | 0    | 2     | 7     | 10  | 19 |
| 女 (人)  | 0    | 0     | 4     | 8   | 12 |
| 届出数    | 0    | 2     | 11    | 18  | 31 |

表2 菌種別届出数および分離検体 (令和元年度)

| 菌種                           | 届出数 | 分離検体 (重複あり)                   |
|------------------------------|-----|-------------------------------|
| <i>Klebsiella aerogenes</i>  | 15  | 尿(4)、血液(5)、喀痰(1)、胆汁(3) その他(4) |
| <i>Enterobacter cloacae</i>  | 13  | 尿(3)、血液(4)、喀痰(3)、胆汁(2) 腹水(1)  |
| <i>Escherichia coli</i>      | 1   | 尿(1)                          |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 2   | 尿(1)、喀痰(1)                    |

表3 CPE検出状況 (令和元年度)

| 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>  | 15   | 0            | 15    |
| <i>Enterobacter cloacae</i>  | 13   | 1            | 12    |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 2    | 1            | 1     |
| <i>Escherichia coli</i>      | 1    | 1            | 0     |
| 合計                           | 31   | 3            | 28    |

#### 1) CRE 感染症発生状況

31 例の届出のうち、男性が 19 例、女性が 12 例で約 94% が 65 歳以上の高齢者であった。菌種は、*Klebsiella aerogenes* が 15 例、*Enterobacter cloacae* が 13 例、*Klebsiella pneumoniae* が 2 例、*Escherichia coli* が 1 例であった。主な分離検体は、血液が 9 例、尿が 9 例、喀痰が 5 例、胆汁が 5 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、31 株のうち 3 株で IMP 型が検出され、菌種は *Enterobacter cloacae* が 1 株、*Klebsiella pneumoniae* が 1 株、*Escherichia coli* が 1 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。

また、IMP 型が検出された 3 株は、シーケンス解析により亜型を調べた結果、すべて IMP-6 であった。

##### (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、31 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 3 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 2 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

堺市における令和元年度の CRE 感染症発生動向調査において、届出数は 31 例で

あった。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* が 15 例と一番多く、*Enterobacter cloacae* が 13 例、以下、*Klebsiella pneumoniae* が 2 例、*Escherichia coli* が 1 例であった。年齢、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<sup>3)</sup>。

次に CPE には、国内で既に分布しているもの（国内型）と海外渡航者などから持ち込まれ散発的に分離されるもの（海外型）がある。IMP 型は国内型 CPE であり、国内で報告される CPE の 90% 以上を占める。一方、NDM 型、KPC 型、OXA-48 型などは海外型 CPE である。

今回、31 株のうち 3 株（*Enterobacter cloacae* 1 株、*Klebsiella pneumoniae* 1 株、*Escherichia coli* 1 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）も確認した。

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が知られている<sup>3)</sup>。

今回、検出された IMP-6 の 3 株もディスク法による感受性試験では MEPM、CMZ には耐性だが、IPM には感性を示す結果となり、ステルス型の CPE と推察された。

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、中国から報告されている株である。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も、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を実施することは重要である。

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 で阻止円径の拡張を確認

されたのが2株あった。菌種は、*Klebsiella aerogenes*と*Enterobacter cloacae*でPCR法によるKPC型遺伝子の検出はなく、CIMによるカルバペネマーゼ産生性は確認されなかった。したがって、これら2株は、カルバペネマーゼの産生ではなく、AmpCβ-ラクタマーゼの産生や薬剤の膜透過性低下などによりカルバペネム系抗菌薬へ耐性化したものと推察された<sup>3)</sup>。

国内における海外型CPEは、2017年が13株、2018年が42株と増加しており、しかも、2017年以降に報告された55株のうち41株が渡航歴なし・不明の患者由来であり、これまでとは異なる疫学を呈している<sup>5)</sup>。これら海外型CPEの発生動向にも注視する必要がある。

## 5 まとめ

- 1) 令和元年度の堺市におけるCRE感染症は31例であった。約94%が65歳以上の高齢者で、分離された菌種は、*Klebsiella aerogenes*、*Enterobacter cloacae*、*Klebsiella pneumonia*、*Escherichia coli*であった。
- 2) 市内医療機関等より提供された31株のうち3株がIMP型のCPEであった。菌種は、*Enterobacter cloacae* 1株、*Klebsiella pneumonia* 1株、*Escherichia coli* 1株であり、シーケンス解析の結果、すべてIMP-6であった。
- 3) IMP-6の3株は、ディスク法による感受性試験ではMEPM、CMZは耐性、IPMに感性を示し、ステルス型のCPEと推察された。

## 6 おわりに

CRE院内感染事例の多くがCPEによることから、CREがCPEであるかを鑑別することは重要である。また、CPEの遺伝子型を確認することで、国内および地域での流行状況を把握でき、海外型CPEが発生した場合の探知にも繋がる。今後も継続して調査を行い、得られた結果が保健所、医療機関等で活用されるように、よりよい情報共有の仕組みを構築していかなければならない。

## 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に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) 令和元年度薬剤耐性菌の検査に関する研修資料(国立感染症研究所薬剤耐性研究センター)
- 5) 病原微生物検出情報 Vol.40 No.9(2019.9):157-159