

堺市におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症及び

バンコマイシン耐性腸球菌感染症の遺伝子検出状況 令和 3(2021)年

福井 陽子、岩崎 直昭、田野 貴仁、福田 弘美

要旨

堺市における令和 3 年のカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: CRE) 感染症は 22 例の届出があった。市内医療機関等の協力により提供された CRE 20 株のうち IMP 型、NDM 型のカルバペネマーゼ遺伝子をそれぞれ 1 株ずつ検出した。また、令和 3 年よりバンコマイシン耐性腸球菌 (Vancomycin-resistant *Enterococci*: VRE) 感染症についての検査も開始し、市内医療機関等の協力により提供された VRE 2 株から VanA 型のバンコマイシン耐性遺伝子を検出した。これらの地域における流行状況を把握するため、継続してカルバペネマーゼ遺伝子、バンコマイシン耐性遺伝子の検査を実施していく必要がある。

キーワード: CRE、IMP 型、NDM 型、VRE、VanA 型

1. はじめに

CRE 感染症、VRE 感染症等の薬剤耐性を有する細菌による感染症の一部については、「感染症の予防及び感染症の患者に対する医療に関する法律」に基づき、医師による届出が行われており、地域における薬剤耐性菌のまん延などの流行状況を把握するために当該耐性菌に係る詳細な解析が必要である。¹⁾

CRE 感染症は、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の総称である。CRE は主に感染防御機能の低下した患者や抗菌薬を長期にわたって使用している患者などに感染症を起こす。

VRE 感染症は、セフェム系薬やカルバペネム系薬、アミノグリコシド系薬に対して自然耐性を示す腸球菌属による感染症において、極めて重要な抗菌薬であるバンコマイシンに対して耐性を示す腸球菌による感染症である。

腸球菌属は日和見病原体のグラム陽性球菌であり、感染防御能の低下した易感染宿主に感染症を起こす。ヒト感染症に関与する菌種としては *Enterococcus faecalis*、*E. faecium*、*E. gallinarum*、*E. casseliflavus* が挙げられる。

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) のカルバペネマーゼ遺伝子や、VRE のバンコマイシン耐性遺伝子にはプラスミド等の可動因子上に保有するものがあるため、菌種を越えて伝播させることが知られている。²⁾³⁾

これら薬剤耐性遺伝子の拡散は、地域的な感染拡大につながるため、地方衛生研究所において分離株を確保し、試験検査を確実に実施する必要がある。

ここでは、堺市における令和 3 年の CRE 及び VRE 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 CR

E 及び VRE 感染症患者由来株について実施した遺伝子検出状況について以下のとおり報告する。

2. 材料および方法

1) CRE 感染症発生動向調査

市内で届出のあった 22 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。

(1) 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 20 株について通知¹⁾に基づき以下 (2) カルバペネマーゼ遺伝子の確認、(3) カルバペネマーゼ産生性の確認を実施した。

(2) 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。

(3) 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 とセフメタゾール (CMZ) 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 5 mm 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* ATCC25922) 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。

2) VRE 感染症発生動向調査

市内で届出のあった 1 例と保菌者 1 例の 2 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。

(1) 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 2 株について「病原体検出マニュアル」⁴⁾の方法に基づき以下 (2) 菌種の同定、(3) バンコマイシン耐性遺伝子の確認、(4) バンコマイシン耐性型の推定を実施した。

(2) 菌種の同定

① EF 培地を用いた確認

EF 培地に被験菌を接種培養後、コロニーの色調を確認した。

② *ddl* 遺伝子の確認

PCR 法により、*E.faecalis*、*E.faecium* の *ddl* 遺伝子を確認した。

(3) バンコマイシン耐性遺伝子の確認

PCR 法によりバンコマイシン耐性遺伝子 (*vanA*、*vanB*、*vanC1*、*vanC2/3*) を確認した。

(4) バンコマイシン耐性型の推定

VanA、VanB、及び VanC 型はそれぞれバンコマイシンとテイコプラニンに対する耐性パターンが異なるため、ディスク拡散法により推定することが可能である。被験菌を塗布したミューラーヒントン寒天培地にバンコマイシン (VCM) とテイコプラニン (TEIC) のディスクを置き、ディスク拡散法により、阻止円径を確認した。

3. 結果及び考察

堺市における令和 3 年の CRE 感染症の年齢群別届出数を表 1、CRE 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、市内医療機関等より提供された患者由来株の VRE 検出状況を表 4 に示した。

表1 CRE 年齢群別届出数 (令和3年)

年齢 (歳)	0～14	15～64	65～74	75～	計
男 (人)	0	2	4	6	12
女 (人)	0	1	3	6	10
届出数	0	3	7	12	22

表2 CRE 菌種別届出数および分離検体 (令和3年)

菌種	届出数	分離検体
<i>Klebsiella aerogenes</i>	9	尿(1)、血液(1)、喀痰(3)、胆汁(3)、その他(1)
<i>Enterobacter cloacae</i>	5	尿(1)、膿(1)、血液(1)、胆汁(2)
<i>Escherichia coli</i>	2	膿(1)、胆汁(1)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	喀痰(2)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	血液(1)
<i>Citrobacter freundii</i>	1	胆汁(1)
<i>Citrobacter braakii</i>	1	尿(1)
<i>Serratia fonticola</i>	1	膿(1)

表3 CPE 検出状況 (令和3年)

菌種	株数合計	カルバペネマーゼ遺伝子型		
		IMP型	NDM型	検出されず
<i>Klebsiella aerogenes</i>	8	0	0	8
<i>Enterobacter cloacae</i>	5	0	0	5
<i>Escherichia coli</i>	2	0	1	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	1	0	1
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0	0	1
<i>Citrobacter freundii</i>	1	0	0	1
<i>Citrobacter braakii</i>	1	0	0	1
合計	20	1	1	18

表4 VRE 検出状況 (令和3年)

菌種	株数合計	遺伝子型	
		VanA型	検出されず
<i>Enterococcus faecium</i>	2	2	0

1) CRE 感染症発生動向調査

(1) 感染症発生状況

22 例の届出のうち、男性が 12 例、女性が 10 例で約 86%が 65 歳以上の高齢者であった。(表 1) 菌種は、*K.aerogenes* が 9 例、*E.cloacae* が 5 例、*E.coli* が 2 例、*K.pneumoniae* が 2 例、*K.oxytoca*、*C.freundii*、*S.fonticola*、*C.braakii* がそれぞれ 1 例であった。主な分離検体は、胆汁が 7 例、喀痰が 5 例、尿が 3 例、血液が 3 例、膿が 3 例、その他 1 例であった。(表 2)

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⁴⁾。

(2) CPE 検出状況

菌株 20 株のうち *K.pneumonia* の 1 株から IMP 型、*E.coli* の 1 株から NDM 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 型の CPE は国内で多くみられる遺伝子型で国内型 CPE である。IMP 型の CPE の検出割合は全国では *E.cloacae* complex (35.7%)、*K.pneumoniae* (27.4%)、*E.coli* (16.3%) の順に多いが、地域差があり近畿では *K.pneumoniae* (41.9%) が最も多い。⁴⁾

NDM 型の CPE は、海外型 CPE で NDM 型以外に、KPC 型、OXA-48 型が知られている。海外型は多くの場合カルバペネムのみならず他の抗菌薬にも耐性を示す多剤耐性型が多く、感染対策上、特に注意を要する。これらの型は海外で入院し外科治療等を受けた後、帰国後に見つかるケースが多かったが、近年、渡航歴のない患者からの散発例が増えている。

²⁾ 当所で分離された NDM 型 1 株の患者も渡航歴不明であり、海外型 CPE が地域で拡散している可能性もあり、今後の発生状況を注視する必要がある。

2) VRE 感染症発生動向調査

(1) 感染症発生状況

2 例 (届出 1 例、保菌者 1 例) とともに、90 歳

以上の女性であった。菌種は 2 例とも *E.faecium* であり、分離検体は尿であった。

(2) VRE 検出状況

E.faecium の 2 株から *vanA* のバンコマイシン耐性遺伝子を検出した。一方、ディスク法によるバンコマイシン耐性型の推定 (VCM、TEIC による阻止円径の確認) では、VanB 型の表現型であった。近年 *vanA* のバンコマイシン耐性遺伝子を保有しているが、表現型が VCM ディスクでは阻止円拡張がなく、TEIC ディスクでは阻止円拡張が少しある VanB 型となる株 (VanB phenotype-*vanA* genotype) が報告されている。⁴⁾ VRE の届出のうち、*E.faecium* がその大半を占め、近年では 80%を超えており、VanA 型、VanB 型が多く分離されている。

また、国内での VRE 感染症届出数は増加傾向にあり、特に大阪は全国最多であるため (21/135 2020 年³⁾) 引き続き菌株の確保と検査の実施が必要である。

3. まとめ

堺市における令和 3 年の CRE 感染症は 22 例の届出があり、市内医療機関等の協力により提供された CRE 20 株のうち 1 株から IMP 型、1 株から NDM 型のカルバペネマーゼ遺伝子を検出した。平成 29 年 4 月に検査を始めてから、本年は当所初めての NDM 型を検出した。近年、海外型 CPE には渡航歴のない患者からの散発例が増えており、当所分離株の患者も渡航歴不明であり、地域で拡散している可能性も示唆された。

VRE 感染症 (保菌者を含む) は、市内医療機関等の協力により提供された VRE 2 株から VanA 型を検出した。我が国における VRE 感染症の届出数は諸外国と比較すると極めて少ないが、海外の複数の地域において VRE の増加が報告されている。国内においても届出数は増加傾向にあり、近年大規模な院内感染事例が複数発生している。³⁾

CRE及びVREについて耐性遺伝子保有状況やその推移を正確に把握するため、また地域的な感染拡大の可能性を念頭に置き、試験検査を確実に実施していく必要がある。

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に深く御礼申し上げます。

参考文献

1) 厚生労働省健康局結核感染症課長通知:

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日付、健感発0328第4号。

- 2) 病原微生物検出情報: Vol.40 No.2, 1-14, (2019.2).
- 3) 病原微生物検出情報: Vol.42 No.8, 1-13, (2021.8).国立感染症研究所: 病原体検出マニュアル 薬剤耐性菌, 令和2年6月改訂.
- 4) 病原微生物検出情報: Vol.42 No.6, 15-16, (2021.6).