

堺市におけるカルバペネム耐性腸内細菌目細菌感染症及び

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4(2022)年

中野 克則、福井 陽子、田野 貴仁、岩崎 直昭

要旨

堺市における令和4年のカルバペネム耐性腸内細菌目細菌 (Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: CRE) 感染症は17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 16株のうち1株からIMP型のカルバペネマーゼ遺伝子を検出した。また、バンコマイシン耐性腸球菌 (Vancomycin-resistant *Enterococci*: VRE) 感染症は1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株からVanB型のバンコマイシン耐性遺伝子を検出した。これら感染症の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、VRE、VanB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* などの腸内細菌目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目細菌 (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4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⁴⁾に基づき、市内医療機関等から提供されたCRE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 17 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 16 株について通知²⁾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 法により主要な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。また、必要に応じて PCR 法により他のカルバペネマーゼ遺伝子 (IMI 型、KHM 型、SMB 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* ATCC259

22) 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 例について患者の年齢、性別、菌種及び分離検体の情報を確認した。

(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 1 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 4 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4年)

年齢 (歳)	0～14	15～64	65～74	75～	計
男 (人)	0	1	1	8	10
女 (人)	0	0	1	6	7
届出数	0	1	2	14	17

表2 CRE 菌種別届出数および分離検体 (令和4年)

菌種	届出数	分離検体
<i>Klebsiella aerogenes</i>	7	血液(3)、尿(2)、胆汁(1)、その他(1)
<i>Escherichia coli</i>	4	尿(2)、胆汁(1)、血液(1)、
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	尿(1)、膿(1)、胆汁(1)、喀痰(1)
<i>Serratia marcescens</i>	1	血液(1)
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	尿(1)

表3 CPE 検出状況 (令和4年)

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>	7	0	7
<i>Escherichia coli</i>	4	1	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	0	3
<i>Serratia marcescens</i>	1	0	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	0	1
合計	16	1	15

表4 VRE 検出状況 (令和4年)

菌種	株数合計	遺伝子型	
		VanB型	検出されず
<i>Enterococcus faecium</i>	1	1	0

1) CRE 感染症発生動向調査

(1) 感染症発生状況

17例の届出のうち、16例が65歳以上の高齢者であった。(表1) 菌種は、昨年と同様、*K.aerogenes*が最も多く7例であった。一方、*E.cloacae*は1例と減少していた。分離検体は、尿が6例と最も多かった。(表2)

届出数は令和3年が22例、令和4年が17例とこの2年間は例年に比べ減少していたが、全国的にも同様の傾向がみられており、今後の発生状況がどのように推移するのかをみていく必要がある。

(2) CPE 検出状況

菌株16株のうち*E.coli*の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。

*K.pneumoniae*の1株は、メタロ-β-ラクタマーゼ活性阻害剤であるSMA ディスクを用いた試験で、SMAによる阻止円径の拡張は確認されたが、CIMによるカルバペネマーゼ産生性はなく、カルバペネマーゼ遺伝子 (IMP型、NDM型、KPC型、OXA-48型、VIM型、GES型、IMI型、KHM型、SMB型) も検出されなかった。

2) VRE 感染症発生動向調査

(1) 感染症発生状況

1例の届出があり、患者は高齢者で、菌種は*E.faecium*であった。分離検体は血液、腹

水であった。

(2) VRE 検出状況

E.faecium の1株から *vanB* のバンコマイシン耐性遺伝子を検出した。

当所ではこれまで、*vanA* のバンコマイシン耐性遺伝子を2例検出し、*vanB* のバンコマイシン耐性遺伝子は初めてである。実際の臨床の現場では、VanB 型の VRE も VanA 型と同様、多く分離されており、*vanB* も *vanA* と同様に菌種間に伝播するため、地域的な拡散がみられるか今後の検出状況を注視していく必要がある。

3. まとめ

堺市における令和4年の CRE 感染症は、17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 16株のうち1株から IMP 型のカルバペネマーゼ遺伝子を検出した。

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。堺市においても例年検出しており、今後も発生状況を注視していく必要がある。

VRE 感染症は、1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株から VanB 型のバンコマイシン耐性遺伝子型を検

出した。今後、地域的な拡散がみられるか検出状況を注視する必要がある。

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へ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日付け, 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).
- 4) 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.