

# 埼玉県衛生研究所におけるカルバペネム耐性腸内細菌目細菌の検査状況 (令和4年度)

吉澤和希 倉園貴至 佐藤孝志 近真理奈 福島浩一

Study of carbapenem-resistant Enterobacterales in Saitama (2022.4-2023.3)

Kazuki Yoshizawa, Takayuki Kurazono, Takashi Sato, Marina Kon, and Hirokazu Fukushima

## はじめに

平成26年9月の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施行規則の改正により、カルバペネム耐性腸内細菌目細菌\*（以下、CRE）感染症が全数把握届出対象5類感染症に追加された。さらに平成26年11月の同法の改正では、感染症に関する情報の収集に関する規定が整備され、埼玉県では独自の埼玉県病原体サーベイランス実施要領を制定した。埼玉県衛生研究所では同要領に基づき平成28年4月より、県内における薬剤耐性化傾向の把握を目的として、届出患者からの分離菌株の積極的収集、検査、結果の還元を行っている<sup>1,2)</sup>。本報では令和4年度の検査状況を報告する。

\*「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第12条第1項及び第14条第2項に基づく届出の基準等について（一部改正）」（令和5年5月26日付け健感発0526第17号厚生労働省健康局結核感染症課長通知）に基づき、本報では新名称で記載する。

## 対象および方法

### 1 対象

令和4年4月から令和5年3月までにCRE感染症として届出のあった70件のうち、埼玉県衛生研究所に搬入された分離株48株を対象とした。

### 2 検査方法

#### (1) 届出状況調査

『感染症発生動向調査事業の感染症サーベイランスシステム（NESID）』の届出情報をもとに、届出患者の性別、年齢、分離検体種別を調査した。

#### (2) 菌種同定

搬入された菌株については生化学的性状確認及びIDテスト・EB-20（日水製薬）により菌種を同定した。

#### (3) 薬剤耐性遺伝子の検査

国立感染症研究所薬剤耐性研究センター資料のPCR法<sup>3,4)</sup>により、KPC型、NDM型、IMP型、VIM型、OXA-48型、GES型のカルバペネマーゼ遺伝子、TEM型、SHV型、CTX-M-1 group、CTX-M-2 group、CTX-M-9 groupの基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ遺伝子、MOX型、CIT型、DHA型、EBC

型、FOX型、ACC型のAmpC β-ラクタマーゼ遺伝子、合計17種のβ-ラクタマーゼ遺伝子について検査を実施した。

#### (4) IMP型の調査

薬剤耐性遺伝子のうちIMP型が検出された菌株に関しては、Amplification Refractory Mutation System PCR<sup>5)</sup>によりIMP-1とIMP-6に分類した。さらに、薬剤感受性試験用Etest（バイオメリュー）を用いて、イミペネム及びメロペネムの最小発育阻止濃度（MIC）を測定した。

## 結果および考察

### 1 患者の内訳

CRE感染症の年齢分布を表1に示した。60歳以上が39例で全体の81.3%を占めた。性別は男性が30例（62.5%）、女性が18例（37.5%）であり、男性が多かった。

表1 CRE感染症の年齢分布（R4年度）

	男性	女性	計（人）
10歳未満	0	1	1
20代	0	1	1
40代	1	1	2
50代	4	1	5
60代	8	1	9
70代	10	7	17
80代	7	5	12
90代	0	1	1
計	30	18	48

### 2 検体別検出状況

検体別検出状況を表2に示した。血液、尿からの検出が多く、血液が15株（31.2%）、尿が10株（20.8%）であった。通常無菌的であるべき検体（血液、腹水、胸水、髄液等）からの検出は血液と腹水のみであり、割合は4割に満たなかった。

表2 検体別検出状況（R4年度）

	株数	割合（%）
血液	15	31.2
尿	10	20.8
膿	4	8.3
胆汁	4	8.3
腹水	3	6.3
喀痰	3	6.3
ドレーン排液	3	6.3
その他	6	12.5
計	48	

3 菌種別検出状況

菌種別検出状況を表3に示した。48株からは、6菌種が同定され、*Klebsiella aerogenes* が21株(43.8%)と最も多く、次いで *Enterobacter cloacae* complex が16株(33.3%)、*Klebsiella pneumoniae* が6株(12.5%)、*Serratia marcescens* が3株(6.2%)であった。図1で示した年度別検出菌種状況のとおりに、上位3菌種の *Klebsiella aerogenes*、*Enterobacter cloacae* complex、*Klebsiella pneumoniae* が全体に占める割合が年々増加し、令和4年度はほぼ9割を占めていた。一方で、例年分離されている *Escherichia coli* や *Citrobacter freundii* complex が令和4年度は分離されなかった。

表3 菌種別検出状況 (R4年度)

菌種	株数	割合 (%)
<i>Klebsiella aerogenes</i>	21	43.8
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	16	33.3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	12.5
<i>Serratia marcescens</i>	3	6.2
<i>Enterobacter</i> sp.	1	2.1
<i>Proteus mirabilis</i>	1	2.1
計	48	

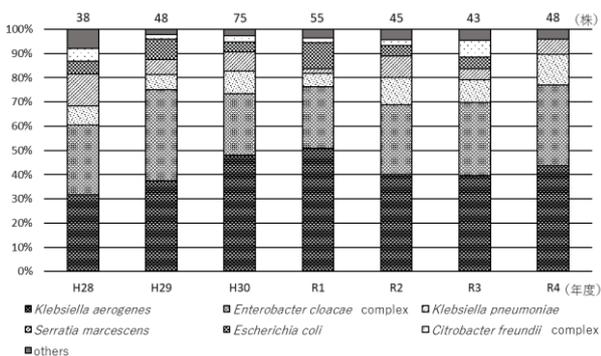


図1 年度別検出菌種状況

4 β-ラクタマーゼ遺伝子検出状況

β-ラクタマーゼ遺伝子検出状況を表4に示した。いずれかの耐性遺伝子が確認できた株は48株中14株(29.2%)であった。このうち、カルバペネマーゼ遺伝子が確認できた株は4株(8.3%)で、全てIMP型であった。基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ遺伝子が検出された株は6株(12.5%)で、TEM型が2株、SHV型が5株、CTX-M-1 groupが4株から検出された。これらは全て *K. pneumoniae* から検出された。AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子が検出された株は6株(12.5%)で、EBC型が5株、DHA型が1株から検出された。

表5で示した菌種別β-ラクタマーゼ遺伝子検出状況(H28~R3年度)と比較すると、*K. aerogenes* は、分離菌株数は多いものの薬剤耐性遺伝子が検出されない例が多いこと、*E. cloacae* complex はAmpC β-ラクタマーゼのひとつであるEBC型が検出される株が多いこと、*K. pneumoniae* は、ほぼ全ての株で薬剤耐性遺伝子が検出されることなど、例年の薬剤耐性遺伝子の検出傾向と同様であった。

表4 菌種別・β-ラクタマーゼ遺伝子検出状況 (R4年度)

菌種	薬剤耐性遺伝子	株数
<i>Klebsiella aerogenes</i>		21
	17種陰性	21
<i>Enterobacter cloacae</i> complex		16
	IMP型	3
	EBC型	5
	17種陰性	8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		6
	IMP型、SHV型、CTX-M-1group	1
	TEM型、SHV型、CTX-M-1group	1
	TEM型、SHV型、DHA型	1
	SHV型、CTX-M-1group	1
	SHV型	1
<i>Serratia marcescens</i>		3
	17種陰性	3
<i>Enterobacter</i> sp.		1
<i>Proteus mirabilis</i>		1
	17種陰性	1
計		48

\*カルバペネマーゼ遺伝子を「□」で示す。

表5 菌種別β-ラクタマーゼ遺伝子検出状況 (H28~R3年度)

菌種	薬剤耐性遺伝子	株数	割合 (%)	菌種	薬剤耐性遺伝子	株数	割合 (%)	菌種	薬剤耐性遺伝子	株数	割合 (%)
<i>Klebsiella aerogenes</i>		129	42.9	<i>Klebsiella pneumoniae</i>		25	8.3	<i>Serratia marcescens</i>		21	7.0
	IMP型	3			IMP型、OXA-48型、TEM型、SHV型、CTX-M-1group	1			IMP型	3	
	TEM型	1			IMP型、TEM型、SHV型、CTX-M-1group	1		17種陰性	18		
	CTX-M-1group、EBC型	1			IMP型、TEM型、SHV型	1		<i>Serratia</i> sp.	1	0.3	
	CTX-M-1group	1			IMP型、SHV型、CTX-M-2group	2		17種陰性	1		
	EBC型	1			IMP型、SHV型	2		<i>Citrobacter freundii</i> complex		10	3.3
	CIT型	1			IMP型	2			NDM型、CIT型、DHA型	1	
	17種陰性	121			TEM型、SHV型、CTX-M-1group	1			IMP型、CIT型	1	
					TEM型、SHV型	1			CIT型	1	
	<i>Enterobacter cloacae</i> complex		88		29.2	TEM型、SHV型、CTX-M-9group	1		DHA型	1	
IMP型、SHV型、CTX-M-9group、EBC型		1		SHV型、TEM型、CTX-M-1group	2		17種陰性	6			
IMP型、SHV型、CTX-M-9group		2		SHV型、CTX-M-1group	1		<i>Providencia stuartii</i>		2	0.7	
IMP型、CTX-M-1group、EBC型		1		SHV型、CTX-M-2group	1			17種陰性	2		
IMP型、CTX-M-9group、EBC型		1		SHV型、DHA型	5		<i>Klebsiella oxytoca</i>		1	0.3	
IMP型、CTX-M-9group		1		SHV型	2			IMP型	1		
IMP型、EBC型		8		DHA型	1		<i>Hafnia alvei</i>		1	0.3	
IMP型		19		17種陰性	1			ACC型	1		
KPC型、TEM型、CTX-M-1group		1		<i>Escherichia coli</i>		19	6.3				
GES型		1			NDM型、IMP型、SHV型、CTX-M-1group、DHA型	1					
CTX-M-1group、EBC型		1			NDM型、TEM型、CTX-M-1group	1					
CTX-M-2group、EBC型		1			NDM型、TEM型、CIT型	1					
CTX-M-9group、EBC型		1			IMP型、CTX-M-1group、CTX-M-2group	1					
CTX-M-1group		1			IMP型、CTX-M-9group	1					
EBC型		27			TEM型、CTX-M-1group	2					
17種陰性		22			TEM型、CTX-M-9group	1					
<i>Enterobacter</i> sp.		4	1.3		CTX-M-1group	3					
	IMP型、SHV型、CTX-M-9group	1			CTX-M-9group	2					
	IMP型	1				1					
	EBC型	1			1						
	17種陰性	1			3						
					2						

\*カルバペネマーゼ遺伝子を「□」で示す。

計 301

5 IMP型の調査

IMP型が検出された菌株をPCRによりIMP-1とIMP-6に分類した結果、IMP-1が3株(75.0%)、IMP-6が1株(25.0%)だった。公衆衛生上特に問題となるカルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌のうち、本邦ではIMP型が分離報告の多い遺伝子型であり、IMP-1は全国からまんべんなく分離され、IMP-6は近畿・四国・中国地方に偏在すると言われている<sup>6)</sup>。今回の結果もIMP-1の割合が高く、全国の傾向と一致していた。

さらに、Etestによりイミペネム及びメロペネムのMICを測定した結果を表6に示した。IMP-1では、3株中2株がイミペネムとメロペネム共に感受性で、届出基準を満たさない値であった。一方で、IMP-6は、イミペネムを分解できない性質を持つと言われており、今回の1株もイミペネムには感受性であり、メロペネムに耐性を示していた。Etestは寒天培地を用いて簡易的にMICを測定する試薬である。臨床の現場では微量液体希釈法を利用した薬剤感受性自動測定機器が使われることが多く、Etestやディスク拡散法などの検査とのずれが指摘されている<sup>7)</sup>。測定方法や測定機器、判定者によってばらつきがあるため、今回のIMP-1の菌株が届出基準未満の値となった直接的な原因は不明であるが、こうした情報を自動測定機器等を使用している臨床の現場に還元していくことは薬剤耐性化傾向の把握をするうえで有用であると考えられる。

表6 E testによる薬剤感受性試験

菌種	IMP分類	最小発育阻止濃度 (MIC)	
		イミペネム (μg/mL)	メロペネム (μg/mL)
<i>E. cloacae</i> complex	IMP-1	2	4
<i>E. cloacae</i> complex	IMP-1	0.38	0.25
<i>E. cloacae</i> complex	IMP-1	1	0.75
<i>K. pneumoniae</i>	IMP-6	0.25	4

(参考) カルバペネム耐性腸内細菌目細菌の届出基準

血液、腹水、胸水、髄液その他の通常無菌的であるべき検体の場合
分離・同定による腸内細菌目細菌の検出、かつ、次のいずれかによるカルバペネム系薬剤及び広域β-ラクタム剤に対する耐性の確認
ア メロペネムのMIC値が2 μg/mL以上であること、又はメロペネムの感受性ディスク(KB)の阻止円の直径が2.2mm以下であること
イ 次のいずれにも該当することの確認
(ア) イミペネムのMIC値が2 μg/mL以上であること、又はイミペネムの感受性ディスク(KB)の阻止円の直径が2.2mm以下であること
(イ) セフメタゾールのMIC値が6.4 μg/mL以上であること、又はセフメタゾールの感受性ディスク(KB)の阻止円の直径が1.2mm以下であること
喀痰、膿、尿その他の通常無菌的ではない検体の場合
次のいずれにも該当することの確認
ア 分離・同定による腸内細菌目細菌の検出
イ 次のいずれかによるカルバペネム系薬剤及び広域β-ラクタム剤に対する耐性の確認
(ア) メロペネムのMIC値が2 μg/mL以上であること、又はメロペネムの感受性ディスク(KB)の阻止円の直径が2.2mm以下であること
(イ) 次のいずれにも該当することの確認
a イミペネムのMIC値が2 μg/mL以上であること、又はイミペネムの感受性ディスク(KB)の阻止円の直径が2.2mm以下であること
b セフメタゾールのMIC値が6.4 μg/mL以上であること、又はセフメタゾールの感受性ディスク(KB)の阻止円の直径が1.2mm以下であること
ウ 分離菌が感染症の起病菌と判定されること

まとめ

CREにおいては、β-ラクタマーゼ遺伝子がプラスミドを介して、腸内細菌目の他の菌種へ伝播・拡散するため、これらの動向把握が重要である。埼玉県では独自の埼玉県病原体サーベイランス実施要領により、届出に対して約7割の菌株を収集することができた。今回の結果は、60歳以上の高齢者が約8割を占めていたこと、分離菌種が*K. aerogenes*, *E. cloacae* complex, *K. pneumoniae*の順に多く検出されたこと、IMP型のうちIMP-1の割合が高いことなど、本邦における病原体サーベイランス報告と同様の傾向を示していた。感染症発生動向調査を基にした解析により、埼玉県内のカルバペネム耐性腸内細菌目細菌の薬剤耐性化傾向の把握が可能になった。今後もデータを蓄積し、医療機関や他行政機関の情報も合わせた詳細な解析を行い、薬剤耐性菌対策の一助としたい。

文献

- 1) 塚本展子, 倉園貴至, 小林匠, 他: 埼玉県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の検査状況(平成28~令和2年度). 埼玉県衛生研究所報, 55, 68-72, 2021
- 2) 小林匠, 塚本展子, 倉園貴至, 他: 埼玉県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の検査状況(令和3年度). 埼玉県衛生研究所報, 56, 60-62, 2022
- 3) 国立感染症研究所薬剤耐性研究センター: 薬剤耐性菌研修会資料 H29.9月改訂版 v4, 7-13, 2017
- 4) 国立感染症研究所薬剤耐性研究センター: 薬剤耐性菌センター資料 ver170906, 2017
- 5) Akiyo Nakano, Ryuichi Nakano, Yuki Suzuki, et al: Rapid Identification of bla<sub>IMP-1</sub> and bla<sub>IMP-6</sub> by Multiplex Amplification Refractory Mutation System PCR. *Ann Lab Med*, 38, 378-380, 2018
- 6) 国立感染症研究所: カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: CRE)病原体サーベイランス <https://www.niid.go.jp/niid/ja/cre-m/cre-iasrd/11520-511d01.html> (参照 2023-06-12)
- 7) 守重比路美, 眞野容子, 後藤美江子, 他: Candida属における微量液体希釈法とE-testを用いた薬剤感受性法の比較検討. *日本臨床微生物学雑誌*, 22, 112-119, 2012