

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 5 年度)

榎本雄太 吉澤和希^{*1} 倉園貴至 中川佳子 伊藤由加里 佐藤孝志 近真理奈 福島浩一

Study of carbapenem-resistant Enterobacterales in Saitama (2023.4-2024.3)

Yuta Enomoto, Kazuki Yoshizawa, Takayuki Kurazono, Keiko Nakagawa, Yukari Ito, 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。当所では同要領に基づき平成 28 年 4 月から、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^{1, 2)}。本報では令和 5 年度の検査状況を報告する。

対象および方法

1 対象

令和 5 年 4 月から令和 6 年 3 月までに CRE 感染症として届出のあった 56 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^{3, 4)}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 PCR⁵⁾

により IMP-1 と IMP-6 に分類した。さらに、ディスク拡散法 (BD センシディスク) により薬剤感受性試験を行い、イミペネム及びメロペネムの阻止円径を測定した。

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 41 例で全体の 85.4% を占めた。性別は男性が 31 例 (64.6%)、女性が 17 例 (35.4%) であり、男性が多かった。

表 1 CRE 感染症の年齢分布 (R5 年度)

	男性	女性	計 (人)
20歳未満	0	0	0
20代	2	0	2
40代	0	1	1
50代	3	1	4
60代	5	0	5
70代	10	4	14
80代	8	10	18
90代	3	1	4
計	31	17	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 19 株 (39.6%)、尿が 14 株 (29.1%) であった。通常無菌的であるべき検体 (血液、腹水、胆汁等) の割合は 5 割となった。

表 2 検体の内訳 (R5 年度)

	株数	割合 (%)
血液	19	39.6
尿	14	29.1
喀痰	6	12.5
腹水	3	6.2
膿	2	4.2
胆汁	2	4.2
気管吸引物	1	2.1
皮膚	1	2.1
計	48	

*1 現 熊谷保健所

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、8菌種が同定され、*Klebsiella aerogenes* が17株(35.4%)と最も多く、次いで *Enterobacter cloacae* complex が14株(29.2%)、*Serratia marcescens* が5株(10.4%)、*Escherichia coli* が4株(8.3%)、*Klebsiella pneumoniae* が4株(8.3%)であった。図1で示した年度別検出菌種状況のとおり、上位2菌種の *Klebsiella aerogenes*、*Enterobacter cloacae* complex が例年通り大半を占めていた。それ以外には *Serratia marcescens* や *Escherichia coli*、*Klebsiella pneumoniae*、*Klebsiella oxytoca* 等の菌種が認められた。

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19株(39.6%)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9株(18.8%)で、NDM型が3株、IMP型が6株であった。NDM型が複数株で確認されたのは平成29年以来となる。基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ(ESBL)遺伝子が検出された株は9株(18.8%)で、SHV型が4株、TEM型が1株、CTX-M-1 groupが8株、CTX-M-9 groupが1株で検出された。複数のESBL遺伝子を保有する株が5株認められた。AmpC β-ラクタマーゼ遺伝子が検出された株は5株(10.4%)で、CIT型が1株、DHA型が1株、EBC型が3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~R4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3 菌種別検出状況 (R5年度)

菌種	株数	割合 (%)
<i>Klebsiella aerogenes</i>	17	35.4
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	14	29.2
<i>Serratia marcescens</i>	5	10.4
<i>Escherichia coli</i>	4	8.3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	4	8.3
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2	4.2
<i>Citrobacter freundii</i> complex	1	2.1
<i>Morganella morganii</i>	1	2.1
計	48	

表4 菌種別・β-ラクタマーゼ遺伝子検出状況 (R5年度)

菌種	薬剤耐性遺伝子	株数
<i>Klebsiella aerogenes</i>		17
	17種陰性	17
<i>Enterobacter cloacae</i> complex		14
	17種陰性	6
	EBC型	3
	IMP型	4
	IMP型、SHV型、CTX-M-9group	1
<i>Serratia marcescens</i>		5
	17種陰性	5
<i>Escherichia coli</i>		4
	CTX-M-1group	2
	NDM型、CTX-M-1group	1
	NDM型、TEM型、CTX-M-1group	1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>		4
	CTX-M-1group	1
	SHV型、CTX-M-1group	3
<i>Klebsiella oxytoca</i>		2
	17種陰性	1
	IMP型	1
<i>Citrobacter freundii</i> complex		1
	NDM型、CIT型	1
<i>Morganella morganii</i>		1
	DHA型	1
総計		48

表4、表5の二重下線はカルバペネマーゼ遺伝子を示す。

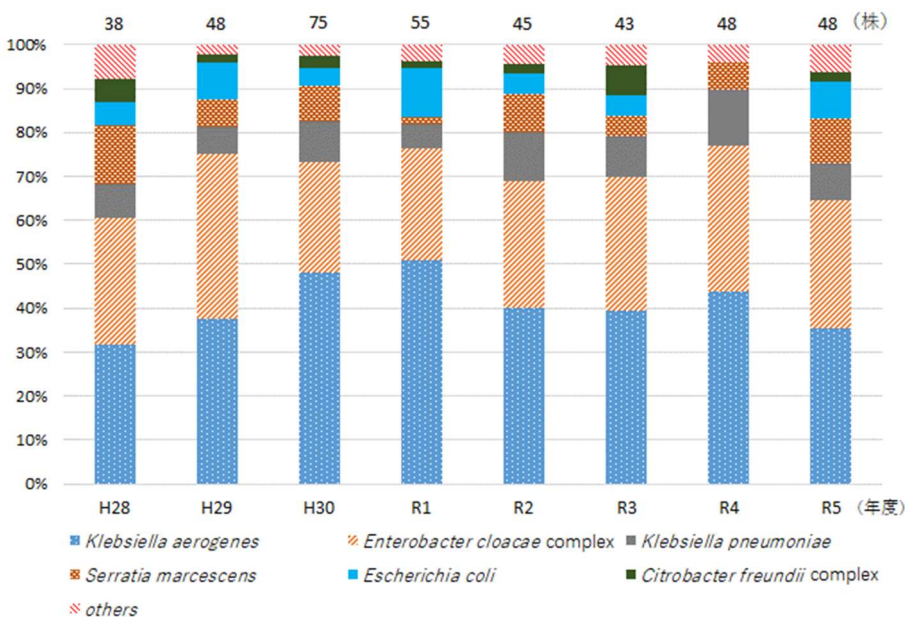


図1 年度別検出菌種状況

表5 菌種別β-ラクタマーゼ遺伝子検出状況 (H28-R4年度)

菌種	薬剤耐性	株数	割合 (%)	菌種	薬剤耐性	株数	割合 (%)	菌種	薬剤耐性	株数	割合 (%)
<i>Klebsiella aerogenes</i>	IMP型	150	43.0	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	SHV型,DHA型	31	8.9	<i>Escherichia coli</i>	DHA型	19	5.4
	CIT型	3			SHV型	5			CTX-M-1group	3	
	CTX-M-1group	1			IMP型	3			CTX-M-9group	3	
	CTX-M-1group,EBC型	1			SHV型,CTX-M-1group	2			CIT型	2	
	EBC型	1			SHV型,TEM型,CTX-M-1group	2			NDM型,TEM型,CTX-M-1group	1	
	TEM型	1			TEM型,SHV型,CTX-M-1group	2			NDM型,TEM型,CIT型	1	
	17種陰性	142			IMP型,SHV型	2			TEM型,CTX-M-1group	1	
	Enterobacter cloacae complex	103	29.5		DHA型	1			TEM型,CTX-M-1group	1	
	EBC型	31			CTX-M-1group	1			TEM型,CTX-M-9group	1	
	IMP型	22			IMP型,SHV型,CTX-M-1group	1			IMP型,CTX-M-9group	1	
IMP型,EBC型	6		IMP型,SHV型,CTX-M-2group	1		IMP型,CTX-M-1group,CTX-M-2group	1				
IMP型,SHV型,CTX-M-9group	2		IMP型,TEM型,SHV型,CTX-M-1group	1		NDM型,IMP型,SHV型,CTX-M-1group,DHA型	1				
IMP型,EBC型	2		SHV型,CTX-M-2group	1		17種陰性	2				
CTX-M-1group	1		IMP型,SHV型,CTX-M-2group	1		Citrobacter freundii complex	10	2.9			
CTX-M-1group,EBC型	1		TEM型,SHV型	1		DHA型	1				
CTX-M-2group,EBC型	1		TEM型,CTX-M-9group	1		CIT型	1				
CTX-M-9group,EBC型	1		TEM型,SHV型,DHA型	1		IMP型,CIT型	1				
GES型	1		IMP型,TEM型,SHV型	1		NDM型,CIT型,DHA型	1				
TEM型,CTX-M-1group,KPC型	1		IMP型,OXA-48型,TEM型,SHV型,CTX-M-1group	1		17種陰性	6				
IMP型,CTX-M-9group	1		17種陰性	1		Klebsiella oxytoca	1	0.3			
IMP型,SHV型,CTX-M-9group,EBC型	1		Serratia marcescens	24	6.9	IMP型	1				
IMP型,CTX-M-1group,EBC型	1		IMP型	3		Hafnia alvei	1	0.3			
IMP型,CTX-M-9group,EBC型	1		17種陰性	21		ACC型	1				
17種陰性	30		Serratia sp.	1	0.3	Proteus mirabilis	1	0.3			
Enterobacter sp.	5	1.4	17種陰性	1		17種陰性	1				
EBC型	1					Providencia stuartii	2	0.6			
IMP型	1					17種陰性	2				
IMP型,SHV型,CTX-M-9group	1										
17種陰性	2										
Enterobacter asburie	1	0.3									
EBC型	1										

5 IMP型の調査

IMP型が検出された菌株をPCRによりIMP-1遺伝子とIMP-6遺伝子に分類した結果、IMP-1が5株(83.3%)、IMP-6が1株(16.7%)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・東海北陸地方に偏在すると言われている⁶⁾。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。

また、ディスク拡散法によりイミペネム、メロペネム及びセフメタゾールの阻止円径を測定した結果を表6に示した。6株中5株がイミペネムに耐性、6株全てがメロペネムに耐性で全ての株が届出基準を満たした。なお表中のIMP-6株がイミペネム感性となっているが、IMP-6遺伝子はイミペネムの分解活性が低く、イミペネムに感性となる⁷⁾。

表6 ディスク拡散法による薬剤感受性試験
阻止円径

	IMP分類	イミペネム (mm)	メロペネム (mm)	セフメタゾール (mm)
<i>E. cloacae</i> complex	IMP-1	18	17	6
<i>E. cloacae</i> complex	IMP-1	22	18	6
<i>E. cloacae</i> complex	IMP-6	25	16	6
<i>E. cloacae</i> complex	IMP-1	18	16	6
<i>E. cloacae</i> complex	IMP-1	19	17	6
<i>K. oxytoca</i>	IMP-1	16	13	6

(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 mm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 mm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1.2 mm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 mm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 mm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1.2 mm以下であること
- ウ 分離菌が感染症の起原菌と判定されること

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。分離菌種については、*K. aerogenes*, *E. cloacae* complex, *S. marcescens*, *K. pneumoniae*, *E. coli*の順に多く検出され、全国と比較して*S. marcescens*の発生比率が高かった。今年度、NDM型が3株発生しているが、保有する耐性遺伝子、薬剤耐性パターンは異なっており、発生場所・時期からも関連性は認められなかった。県内のカルバペネマーゼ産生遺伝子はIMP型が主であったが、NDM型が増加する可能性も考えられるため注視していきたい。今後もこれらのようなデータを蓄積し、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) 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
- 2) 吉澤和希, 倉園貴至, 佐藤孝志, 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4年度). 埼玉県衛生研究所報, 57, 57-59, 2023
- 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_{IMP-1} and bla_{IMP-6} 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/12223-522d03.html> (参照 2024-07-03)
- 7) Hisakazu Yano, Akio Kuga, Ryoichi Okamoto, et al: Plasmid-Encoded Metallo-β-Lactamase (IMP-6) Conferring Resistance to Carbapenems, Especially Meropenem. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 45, 1343-1348, 2001

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8割以上の菌株を収集することができた。今回の結果としては、60歳以上の高齢者が約8割を占めていたこと、IMP型のう