

## 資料

## 薬剤耐性菌検索に関する研究

## Study about Antimicrobial Resistant Bacteria Search

山本 真実	上村 晃秀 <sup>1</sup>	眞鍋 佳月
石谷 完二	濱田 結花	清武 貴子
本田 俊郎 <sup>2</sup>	新川 奈緒美	

## 1 はじめに

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（以下「CRE」という。）感染症は、メロペネムなどのカルバペネム系抗菌薬及び広域β-ラクタム剤に対して耐性を示す腸内細菌科細菌による感染症の総称である。

2014年9月19日からCRE感染症が「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」（以下「感染症法」という。）に基づく五類全数把握対象疾患となり、CRE感染症発症患者が報告されるようになった。

また、2017年3月28日付け厚生労働省通知「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」により、CREをはじめとした薬剤耐性菌について地方衛生研究所での詳細な解析が求められることとなった。

当センターでは、2017～2019年度において、感染症法における届出による提出菌株と協力医療機関で検出された薬剤耐性菌の菌株について薬剤耐性検査及び遺伝子型別検査を実施し、薬剤耐性菌検査体制を確立した。

今回、鹿児島県におけるCRE感染症の発生動向及び2020年に当センターで実施した薬剤耐性検査結果について報告する。

## 2 調査対象

CRE感染症が届出対象となった2014年9月から2020年12月までに届出のあった115件について解析を行った。

また、2020年に届出のあった24件のうち感染症発生动向調査事業として当センターに検査依頼のあった菌株21件について薬剤耐性検査を実施した。

## 3 検査方法

## 3.1 阻害剤を用いたβ-ラクタマーゼ産生性試験

国立感染症研究所の病原体検出マニュアル「薬剤耐性菌」<sup>1)</sup>（以下「病原体検出マニュアル」という。）に準じて実施した。β-ラクタマーゼの阻害剤であるクラブラン酸、スルバクタム/アンピシリン、メルカプト酢酸ナトリウム、ボロン酸、クロキサシリン含有ディスクを用い、菌株のβ-ラクタマーゼ産生性を確認した。

## 3.2 PCR法によるβ-ラクタマーゼ遺伝子の検出

## 3.2.1 カルバペネマーゼ遺伝子と基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ遺伝子の検出

カルバペネマーゼ遺伝子型7種（IMP-1型、VIM型、GES型、KPC型、NDM型、OXA-48型、IMP-6型）、基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ（以下「ESBL」という。）遺伝子型9種（CTX-M-1group, CTX-M-2group, CTX-M-8group, CTX-M-9group, CTX-M-25group, CTX-M chimera, GES型, TEM型, SHV型）について、病原体検出マニュアルに準じた関東化学株式会社製のシカジーニクスESBL遺伝子型検出キット2及びシカジーニクスカルバペネマーゼ遺伝子型検出キット2を用いてPCR検査を実施した。

## 3.2.2 AmpC型β-ラクタマーゼ遺伝子の検出

AmpC型β-ラクタマーゼ（以下「AmpC」という。）遺伝子型6種（MOX型、CIT型、DHA型、ACC型、EBC型、FOX型）については、2019年薬剤耐性菌研修会資料<sup>2)</sup>に基づき、12種のプライマーを用いてマルチプレックスPCR検査を実施した。

1 始良・伊佐地域振興局保健福祉環境部

〒899-5112 霧島市隼人町松永3320-16

2 退職（2021年3月）

### 3. 3 カルバペネマーゼ産生試験

病原体検出マニュアルに準じ、Carba NP testにより、カルバペネマーゼ産生の有無を調べた。

## 4 結果

### 4. 1 CRE感染症届出状況

CRE感染症が届出対象になった2014年9月から2020年12月までの本件及び全国の届出報告数を図1に示す。

鹿児島県のCRE感染症の届出は2018年以降20件以上の報告がある。

男性は77例(67.0%)、女性は38例(33.0%)であった(図2)。年齢中央値は81歳で、60歳以上が97例で全体の84.3%を占めていた。

診断名は、尿路感染症、肺炎、胆嚢炎・胆管炎、菌血症・敗血症(図3)の順に多く、分離菌種は、*Klebsiella aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*(表1)の順に多く報告された。

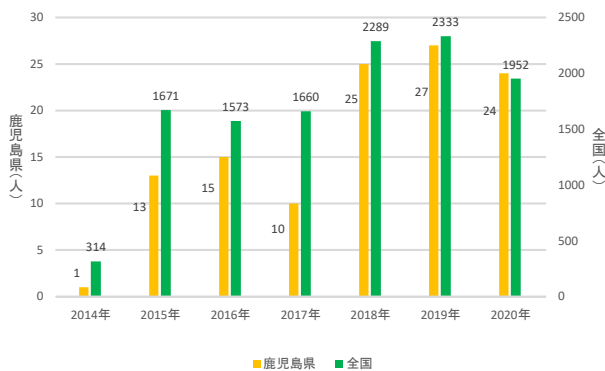


図1 CRE感染症の年別届出報告数

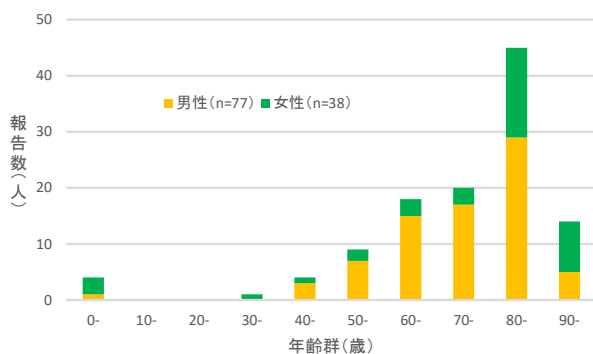


図2 CRE感染症の届出年齢・性別分布

### 4. 2 薬剤耐性検査

検査を実施した菌種は*Klebsiella aerogenes*が9株、*Enterobacter cloacae*が7株、*Klebsiella pneumoniae*が2株、その他3株で尿由来検体が7件、血液由来検体が6件、喀痰由来検体、胆汁由来検体がそれぞれ3件、腹水由来検

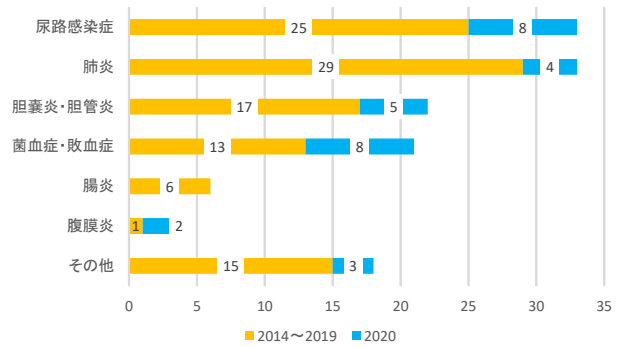


図3 CRE感染症の届出分離検体内訳(重複あり)

表1 CRE感染症の分離菌種(n=115)

報告された菌種名	報告数	割合
<i>Klebsiella aerogenes</i>	37	32.2%
<i>Enterobacter cloacae</i>	31	27.0%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	14	12.2%
<i>Serratia marcescens</i>	7	6.1%
<i>Escherichia coli</i>	3	2.6%
<i>Citrobacter koseri</i>	3	2.6%
<i>Enterobacter hormaechei</i>	2	1.7%
<i>Citrobacter freundii</i>	2	1.7%
<i>Citrobacter braakii</i>	1	0.9%
<i>Citrobacter youngae</i>	1	0.9%
<i>Enterococcus faecium</i>	1	0.9%
<i>Morganella morganii</i>	1	0.9%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0.9%
ND/UD	11	9.4%

体が2件であった。

β-ラクタマーゼ産生性試験(ディスク検査)及び遺伝子検査結果を表2に示す。

阻害剤含有ディスクによるスクリーニング検査では、クラブラン酸による阻害効果が認められた菌株が1件、ボロン酸による阻害効果が認められた菌株が8件、クロキサシリンによる阻害効果が認められた菌株が8件、このうちボロン酸及びクロキサシリンのいずれも阻害効果が認められた菌株が7件であった。

届出のあった菌株21件からカルバペネマーゼ遺伝子は検出されなかった。また、Carba NP testにおいても全ての菌株でカルバペネマーゼ産生性は確認されなかった。

ESBL遺伝子は、TEM型(3件)、SHV型(2件)、CTX-M-1group(1件)、CTX-M-2group(1件)が検出された。

AmpC遺伝子は、EBC型(6件)が検出された。

表2 2020年に届出のあった菌株のディスク検査及び遺伝子検査結果 (n=21)

菌種	β-ラクタマーゼの産生性試験				β-ラクタマーゼ遺伝子のPCR検査		
	A	B	C1	C2	カルバペネマーゼ遺伝子	ESBL遺伝子	AmpC型遺伝子
<i>Klebsiella aerogenes</i>	陰性	陰性	陰性	陰性	検出せず	検出せず	検出せず
<i>Klebsiella aerogenes</i>	陰性	陰性	陽性	陽性	検出せず	検出せず	検出せず
<i>Klebsiella aerogenes</i>	陰性	陰性	陽性	陰性	検出せず	検出せず	検出せず
<i>Klebsiella aerogenes</i>	陰性	陰性	陰性	陰性	検出せず	検出せず	検出せず
<i>Klebsiella aerogenes</i>	陰性	陰性	陰性	陰性	検出せず	検出せず	検出せず
<i>Klebsiella aerogenes</i>	陰性	陰性	陽性	陽性	検出せず	検出せず	検出せず
<i>Klebsiella aerogenes</i>	陰性	陰性	陰性	陰性	検出せず	検出せず	検出せず
<i>Klebsiella aerogenes</i>	陰性	陰性	陽性	陽性	検出せず	検出せず	検出せず
<i>Klebsiella aerogenes</i>	陰性	陰性	陽性	陽性	検出せず	検出せず	検出せず
<i>Enterobacter cloacae</i>	陰性	陰性	陽性	陽性	検出せず	<b>CTX-M-1group</b>	<b>EBC型</b>
<i>Enterobacter cloacae</i>	陰性	陰性	陰性	陽性	検出せず	検出せず	<b>EBC型</b>
<i>Enterobacter cloacae</i>	陰性	陰性	陰性	陰性	検出せず	検出せず	<b>EBC型</b>
<i>Enterobacter cloacae</i>	陰性	陰性	陰性	陰性	検出せず	検出せず	検出せず
<i>Enterobacter cloacae</i>	陰性	陰性	陽性	陽性	検出せず	検出せず	<b>EBC型</b>
<i>Enterobacter cloacae</i>	陰性	陰性	陰性	陰性	検出せず	検出せず	<b>EBC型</b>
<i>Enterobacter cloacae</i>	陰性	陰性	陽性	陽性	検出せず	検出せず	<b>EBC型</b>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	陽性	陰性	陰性	陰性	検出せず	<b>TEM型, SHV型</b>	検出せず
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	陰性	陰性	陰性	陰性	検出せず	<b>SHV型</b>	検出せず
<i>Klebsiella oxytoca</i>	陰性	陰性	陰性	陰性	検出せず	<b>TEM型</b>	検出せず
<i>Citrobacter koseri</i>	陰性	陰性	陰性	陰性	検出せず	<b>TEM型, CTX-M-2group</b>	検出せず
<i>Morganella morganii</i>	陰性	陰性	陰性	陰性	検出せず	検出せず	検出せず

※ A: クラブラン酸, スルバクタム/アンピシリン B: メルカプト酢酸ナトリウム C1: ボロン酸 C2: クロキサシリン

5 考察とまとめ

1) 鹿児島県のCRE感染症の届出報告数は全国と同様に2018年に増加が見られ、その後2020年までは同程度の報告があった。

性別、年齢の分布、分離菌種も全国と同様の傾向であった<sup>3)</sup>。

診断名は例年、尿路感染症に次いで肺炎の順であったが、2020年は尿路感染症と菌血症・敗血症は同数であった。

2) CREには、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（以下「CPE」という。）と非産生菌（以下「non-CPE」という。）がある。

2020年の薬剤耐性検査において、CPEは検出されなかった。分離菌種では*Klebsiella aerogenes*が9株と最も多かったが、全ての菌株でカルバペネマーゼ遺伝子及びCarba NP testが陰性で、その他の遺伝子も検出されなかったことから、non-CPEのCREと判定した。

*Klebsiella aerogenes*は多くの場合カルバペネマーゼを産生していないことが確認されている<sup>2)</sup>。

non-CPEのカルバペネム耐性は、膜の透過性低下に加え、カルバペネム分解活性が弱いため、カルバペネマーゼには分類されないAmpCやESBLなどのβ-ラクタマーゼの産生によるものが多く<sup>1)</sup>、全国のCREの約80%がAmpCやESBLによるカルバペネム耐性を示すと考えられており<sup>4)</sup>、当センターでも、2020年は10菌株からAmpC遺伝子、ESBL遺伝子が検出されている（47.6%）。

また、2017～2020年において、薬剤耐性検査を実施した総CRE菌株83件のうち、CPEは3件（3.6%）であり<sup>5)</sup>、2018年以降は検出されていない。

なお、全国的にもCREにおけるCPEの割合が減少している<sup>2)</sup>。

CPEは多くの場合、カルバペネマーゼ遺伝子をプラスミド等の可動遺伝子因子上に保有するため、薬剤耐性を菌種を越えて伝播させることが知られている<sup>6)</sup>。また、AmpC及びESBL産生を支配する遺伝情報のほとんどは、CPEと同じく、プラスミド上に認められている<sup>7)</sup>。

CPEはβ-ラクタム剤以外の抗菌薬にも耐性を示す場合も多く、CPEによる菌血症はnon-CPEによるものと比較

して治療予後が悪いと報告されている<sup>6)</sup>。

そのため、CREのうちCPEは院内感染対策上も治療上も区別が必要と考えられており<sup>6)</sup>、カルバペネマーゼ遺伝子検査の実施は重要である。

今後も県内における薬剤耐性遺伝子の動向を把握するため菌株の遺伝子解析を行うとともに、得られた情報を医療機関等に提供し、院内の感染対策及び抗微生物剤の適正使用の推進の一助となるように努める。

## 参考文献

- 1) 国立感染症研究所；病原体検出マニュアル「薬剤耐性菌」（2016年12月改訂版）
- 2) 国立感染症研究所細菌第二部；令和元年薬剤耐性菌研修会資料
- 3) 国立感染症研究所感染症情報センター；感染症発生動向調査（IDWR）  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/cre-m/cre-idwrs/10319-cre-210423.html>（2021/9/9アクセス）
- 4) 国立感染症研究所感染症情報センター；感染症発生動向調査（IASR）  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/cre-m/cre-iasrd/10462-496d01.html>（2021/9/9アクセス）
- 5) 上村晃秀，眞鍋佳月，他；薬剤耐性菌検索体制の整備に関する研究（第Ⅲ報），本誌，21，65～68（2020）
- 6) 国立感染症研究所感染症情報センター；感染症発生動向調査（IASR）  
<https://www.niid.go.jp/niid/ja/cre-m/cre-iasrtpc/8614-468t.html>（2021/9/9アクセス）
- 7) 中村文子，近藤成美；臨床検査ひとくちメモ，モダンメディア，56（10），250～256（2010）