

〔資料〕

石川県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症の発生状況（2021年度）

石川県保健環境センター 健康・食品安全科学部 城座 美夏・児玉 洋江
石川県南加賀保健福祉センター 谷村 睦美

〔和文要旨〕

2021年度において、石川県に届出されたカルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）感染症の発生状況及び患者から分離された菌株のカルバペネマーゼ産生性を調べた。22株のうちカルバペネマーゼ産生株は1株で、*bla*_{IMP-6}を保有する*Escherichia coli*であった。CREとして報告の多い*Klebsiella aerogenes*からIMP型遺伝子は検出されなかったことから、菌種によるカルバペネマーゼ遺伝子の保有率の違いが示唆され、今後もカルバペネマーゼ遺伝子保有状況やその推移を注視する必要がある。

キーワード：感染症，薬剤耐性菌，カルバペネム耐性腸内細菌科細菌，カルバペネマーゼ

1 はじめに

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（以下、CRE）感染症は、2014年9月19日より「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）において5類全数把握対象感染症となり、診断した医師は届出の義務がある。本感染症は、メロペネム（以下、MEPM）等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。2017年3月28日には、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、CRE感染症の届出があった際は地方衛生研究所等において耐性遺伝子等の試験検査を実施する旨、厚生労働省健康局結核感染症課長より通知（以下、通知）が発出された¹⁾。

腸内細菌科細菌におけるカルバペネム耐性機序は、カルバペネマーゼ産生性の有無により2つに大別され²⁾、カルバペネマーゼを産生している場合は、カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌（以下、CPE）と呼ぶ。CPEはほとんどのβ-ラクタム剤を加水分解するカルバペネマー

ゼを産生することから、β-ラクタム剤に汎耐性となることが多い²⁾。また、カルバペネマーゼ産生に寄与するカルバペネマーゼ遺伝子はプラスミド上に存在することが多く、菌種を越えて水平伝播しうる²⁾。このことより、院内感染のリスクになると考えられるため、CREがCPEであるか否かを確認することが重要である。

本報では、2021年度の石川県（以下、本県）におけるCRE感染症患者発生状況と、患者由来株を対象に実施したカルバペネマーゼ産生性等の検査結果について報告する。

なお、2016年に、腸内細菌科細菌に分類されていた菌種の一部が他の科に変更されたことから³⁾、これまでの腸内細菌科細菌（*Enterobacteriaceae*）と同義の用語として、より上位レベルである腸内細菌目細菌（*Enterobacterales*）を使用することが提唱されたが、本報では混乱を避けるためにこれまで使用されてきた腸内細菌科細菌（*Enterobacteriaceae*）の表記を使用する。

Prevalence of Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* Infections in Ishikawa Prefecture from April 2021 to March 2022. by SHIROZA Mika, KODAMA Hiroe (Health and Food Safety Department, Ishikawa Prefectural Institute of Public Health and Environmental Science), TANIMURA Mutsumi (Minami Kaga Health and Welfare Center of Ishikawa Prefecture)

Key words : Infectious Disease, Antimicrobial Resistant Bacteria, Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*, Carbapenemase

2 材料と方法

2・1 CRE感染症の発生状況

2021年4月～2022年3月の1年間に、感染症法に基づき本県に届出されたCRE感染症22事例に対し、菌種名、患者の症状、分離された検体について集計した。菌種名に関し、*Enterobacter aerogenes*で届出されていた事例については、2017年に国際原核生物分類命名委員会において菌名が変更されたことに伴い、*Klebsiella aerogenes*（以下、*K. aerogenes*）として集計した。

2・2 CREの検査

2・1で届出された事例から分離され、通知に基づき搬入されたCRE21株を供試菌株とした。

(1) βラクタマーゼ産生性の確認（以下、阻害試験）

下記ア、イ、ウについて国立感染症研究所病原体検出マニュアル⁴⁾（以下、マニュアル）に従い実施した。

ア KPC型カルバペネマーゼ産生性のスクリーニング
MEPMディスクに3-アミノフェニルボロン酸（以下、APB）を添加し、阻止円の拡張（原則5mm以上）が見られたものを陽性とした。

イ クロキサシリン（以下、MCIPC）を用いた

AmpCβ-ラクタマーゼ産生性の確認

APBはKPC型カルバペネマーゼの他にAmpCβ-ラクタマーゼも阻害することから⁴⁾、阻害試験アにおいて、APBで阻害が認められた株を対象とし、マニュアルに従い実施した。セフメタゾールディスクにMCIPCを添加し、阻止円の拡張（原則5mm以上）が見られたものを陽性とした。

ウ メタロ-β-ラクタマーゼ（以下、MBL）産生性のスクリーニング

MEPM及びセフタジジムディスクとメルカプト酢酸ナトリウム（以下、SMA）ディスクを使用し、いずれかの抗菌薬ディスクとSMAディスクの中心を結ぶ線に対して垂直方向の阻止円径拡張が見られたものを陽性とした。

(2) modified Carbapenem Inactivation Method（以下、mCIM）

カルバペネマーゼによるMEPM分解に伴ったMEPMディスクの抗菌作用低下を利用したカルバペネマーゼ産生性の確認をマニュアルに従い実施した。判定基準を図1に示す。阻止円径及び阻止円内部コロニーの有無から判定した。

(3) Carba NPテスト

mCIM陽性となった株を対象とした。カルバペネマーゼによるイミペネム分解に伴った溶液のpH変化による色調変化を利用したカルバペネマーゼ産生性の確認をマニュアルに従い実施した。反応開始後120分以内に黄変

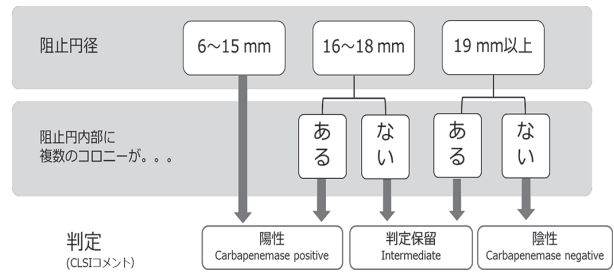


図1 mCIM判定基準

引用元：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月改訂版 Ver2.0）

したものを陽性、弱い黄変がみられたものを判定保留とした。

(4) PCR法によるカルバペネマーゼ遺伝子の検出

マニュアルに従い、カルバペネマーゼ遺伝子（IMP-1型、IMP-2型、NDM型、KPC型、OXA-48型、VIM型、GES型）の検出を試みた。

(5) シークエンス解析によるカルバペネマーゼ遺伝子の型別

(4)にてIMP-1型MBL遺伝子を検出した株について、マニュアルに従い実施したシークエンス解析により遺伝子配列を確認し、*bla*_{IMP-1}と*bla*_{IMP-6}の鑑別を行った。

3 結果

3・1 CRE感染症の発生状況

2021年4月～2022年3月の期間に届出があった22事例について表1に示す。

症状別では、肺炎のみが11例、尿路感染症のみが5例、菌血症、尿路感染症・菌血症、尿路感染症・肺炎がそれぞれ1例、その他が3例だった。分離検体別では、喀痰が10例、血液が4例、尿が4例、膿が2例、耳漏、血液・喀痰がそれぞれ1例だった。菌種別では、*K. aerogenes*が17例（77.3%）、*Enterobacter cloacae*（以下、*E. cloacae*）が3例（13.6%）、*Citrobacter braakii*、*Escherichia coli*（以下、*E. coli*）がそれぞれ1例（4.5%）であった。

3・2 CREの検査

検査の結果について表1に示す。事例番号9については、菌株の搬入がなかったため、検査が実施できず、供試菌株数は21株であった。

(1) 阻害試験

事例番号10において、SMAのみで阻害が認められた。残りの20株については、APBとSMAいずれにおいても阻害は認められなかった。

なお、APBで阻害が認められた株がなかったことから、阻害試験イは実施しなかった。

(2) mCIM

陽性は1株（事例番号10）であり、カルバペネマーゼ産生が示唆された。

表1 CRE感染症発生状況及び検査結果(2021年度)

事例番号	菌種名	症状	検体	阻害試験*	mCIM	CarbaNPテスト	カルバペネマーゼ遺伝子	備考
1	<i>Citrobacter braakii</i>	尿路感染症	血液	-	-	n.t.	-	
2	<i>Enterobacter cloacae</i>	肺炎	喀痰	-	-	n.t.	-	
3	<i>Klebsiella aerogenes</i>	尿路感染症、菌血症	血液	-	-	n.t.	-	
4	<i>Klebsiella aerogenes</i>	肺炎	喀痰	-	-	n.t.	-	
5	<i>Klebsiella aerogenes</i>	その他	膿	-	-	n.t.	-	
6	<i>Klebsiella aerogenes</i>	肺炎	喀痰	-	-	n.t.	-	
7	<i>Klebsiella aerogenes</i>	肺炎	血液、喀痰	-	-	n.t.	-	
8	<i>Klebsiella aerogenes</i>	尿路感染症	尿	-	-	n.t.	-	
9	<i>Klebsiella aerogenes</i>	肺炎	喀痰	実施なし	実施なし	実施なし	実施なし	搬入なし
10	<i>Escherichia coli</i>	肺炎	喀痰	SMA	+	+	<i>bla</i> _{IMP-6}	
11	<i>Enterobacter cloacae</i>	肺炎	喀痰	-	-	n.t.	-	
12	<i>Klebsiella aerogenes</i>	尿路感染症	尿	-	-	n.t.	-	
13	<i>Klebsiella aerogenes</i>	その他	耳漏	-	-	n.t.	-	
14	<i>Klebsiella aerogenes</i>	肺炎	喀痰	-	-	n.t.	-	
15	<i>Klebsiella aerogenes</i>	菌血症	血液	-	-	n.t.	-	
16	<i>Klebsiella aerogenes</i>	尿路感染症	尿	-	-	n.t.	-	
17	<i>Klebsiella aerogenes</i>	尿路感染症、肺炎	喀痰	-	-	n.t.	-	
18	<i>Klebsiella aerogenes</i>	肺炎	喀痰	-	-	n.t.	-	
19	<i>Enterobacter cloacae</i>	その他	膿	-	-	n.t.	-	
20	<i>Klebsiella aerogenes</i>	肺炎	喀痰	-	-	n.t.	-	
21	<i>Klebsiella aerogenes</i>	尿路感染症	尿	-	-	n.t.	-	
22	<i>Klebsiella aerogenes</i>	肺炎	血液	-	-	n.t.	-	

+ : 陽性, - : 陰性, n.t. : 未実施

※ : 阻害試験にて陽性と判定したのものについてその阻害剤名を記載

残りの20株については、全て陰性であった。

(3) Carba NPテスト

mCIMが陽性であった事例番号10のCarba NPテストは陽性であった。事例番号10は、前述のとおり、SMAにて阻害が認められた株であり、MBL産生菌であると思われる。

(4) PCR法によるカルバペネマーゼ遺伝子の検出

事例番号10からカルバペネマーゼ遺伝子を検出し、遺伝子型はIMP-1型であった。残り20株からは今回検出を試みた7種のカルバペネマーゼ遺伝子は検出されなかった。

(5) シークエンス解析によるカルバペネマーゼ遺伝子の型別

IMP-1型が検出された事例番号10についてシークエンス解析を行ったところ、*bla*_{IMP-6}であった。

4 考 察

2021年度におけるCRE感染症の届出数は22事例で、2020年度(21事例)⁵⁾、2019年度(21事例)⁶⁾とほぼ同様であった。また、*K. aerogenes*を起因菌とする事例の割合は77.3%と最も多く、国内病原体サーベイランスの報告⁷⁾⁸⁾(以下、国内の報告)(2018年:37.5%, 2019年:40.7%)よりも高かった。

2021年度はCPEの検出が1事例あり、CREとして搬入された菌株中のCPEの割合は4.8%で国内の報告(2018年:17.6%, 2019年:16.5%)に比べ低かった。

また、検出したCPEは、*bla*_{IMP-6}を保有する*E. coli*であった。国内の報告において、IMP型遺伝子が多く検出される菌種は*E. cloacae*、*Klebsiella pneumoniae*、*E. coli*であり、CREとして報告が多い*K. aerogenes*からのIMP型遺伝子検出例は少ない。一方、本県では2017年の通知によりCREの検査を開始し、これまでに全107株の検査を行ったが、検出した*bla*_{IMP-6}保有株3株は全て*E. coli*であり⁵⁾⁶⁾、*K. aerogenes*からIMP型遺伝子は検出されていない。本県の事例数が少なく、単純な比較は難しいものの、国内の報告と同様の傾向がみられた。以上のことから、CREの中でも菌種によってカルバペネマーゼ遺伝子の保有率に違いがあることが示唆され、本県では*K. aerogenes*の分離事例が多いことが、CPE検出率の低さの一因と推測された。今後もカルバペネマーゼ遺伝子保有状況やその推移について注視していく必要がある。

5 ま と め

(1) 2021年度のCRE感染症の事例数は2020年度とほぼ同様で、全国に比べ*K. aerogenes*を起因菌とする

報告の割合が高かった。

- (2) 2021年度はCPEの検出が1事例あり、CREとして搬入された菌株中のCPEの割合は4.8%で国内の報告に比べ低かった。
- (3) CREの中でも菌種によりカルバペネマーゼ遺伝子の保有率に違いがあることが示唆され、今後もカルバペネマーゼ遺伝子保有状況やその推移を注視する必要がある。

文 献

- 1) 厚生労働省健康局結核感染症課長通知健感発0328第4号：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
- 2) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報（月報），**40**(2)，17-18（2019）
- 3) ADEOLU Mobolaji, ALNAJAR Seema, NAUSHAD Sohail, GUPTA, Radhey S.: Genome-based phylogeny and taxonomy of the 'Enterobacteriales': proposal for Enterobacterales ord. nov. divided into the families Enterobacteriaceae, Erwiniaceae fam. nov., Pectobacteriaceae fam. nov., Yersiniaceae fam. nov., Hafniaceae fam. nov., Morganeliaceae fam. nov., and Budviciaceae fam. nov., *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **66**, 5575-5599（2016）
- 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月改訂版Ver.2.0
- 5) 城座美夏，塩本高之，児玉洋江，谷村睦美：石川県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症の発生状況－2020年度－，石川県保健環境センター研究報告書，**58**，63-66
- 6) 塩本高之，児玉洋江，木村恵梨子，谷村睦美：石川県におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症の発生状況について－2018年度及び2019年度－，石川県保健環境センター研究報告書，**57**，44-47
- 7) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報（月報），**40**（9），157-158（2019）
- 8) 国立感染症研究所：病原微生物検出情報（月報），**42**（6），123-124（2021）