

## 茨城県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6年度）

○織戸 優、石川 加奈子、柳岡 知子、内田 好明

### 要旨

茨城県衛生研究所では、平成29年7月からカルバペネム耐性腸内細菌目細菌（CRE）の検査を実施している。令和6年度に当所に搬入されたCRE菌株について、ディスク拡散法によるβ-ラクタマーゼ産生性のスクリーニング検査、カルバペネマーゼ産生性のスクリーニング検査、PCR法による薬剤耐性遺伝子検査を実施した結果、22株中6株がカルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌（CPE）と判定された。検出されたカルバペネマーゼ遺伝子は、IMP-1が4株、NDM-5が2株であった。

キーワード：カルバペネム耐性腸内細菌目細菌（CRE）、カルバペネマーゼ産生腸内細菌目細菌（CPE）、カルバペネマーゼ遺伝子

### 1. はじめに

CRE感染症はグラム陰性菌による感染症の治療薬として重要な位置付けである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目細菌による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外科手術後の患者、抗菌薬を長期にわたり使用している患者などに感染症を起こす<sup>1)</sup>。カルバペネム系抗菌薬に対するCREの耐性機序は、β-ラクタマーゼの産生量増加及び外膜蛋白（ポーリン）の変化によるものと、カルバペネム分解酵素であるカルバペネマーゼの産生によるものの2つに大別される<sup>2)</sup>。後者によるものはCPEと呼ばれる。CPEによる菌血症は、カルバペネマーゼ非産生菌（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>3)</sup>。また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性遺伝因子上に保有するため、薬剤耐性が菌種を越えて伝播することが知られている<sup>4)</sup>。そのためCREのうちCPEを区別することは、院内感染対策及び加療選択のうえで重要である。

近年、CREの増加は世界的な問題となっている。日本においてもCRE感染症は感染症法

上、平成26年9月より5類全数把握疾患に追加された。また、平成29年3月に発出された厚生労働省通知<sup>5)</sup>により、CRE感染症の届出があった際は、地方衛生研究所等で当該病原体の検査を実施し、結果を感染症サーベイランスシステム（NESID）に報告することとされた。

当所では、平成29年7月からCRE検査を実施しており、本報では令和6年度の検査状況について報告する。

### 2. 材料と方法

#### 2-1 供試菌株

令和6年4月から令和7年3月までの間にCRE感染症の患者から分離され、当所に搬入された菌株22株を検査材料とした。

#### 2-2 菌種の同定

搬入された全菌株に対し、MALDI Biotyper sirius（ブルカー）による菌種確認を行った。

#### 2-3 ディスク拡散法によるβ-ラクタマーゼ産生性のスクリーニング検査

メタロβ-ラクタマーゼ（MBL）産生性のスクリーニング検査では、薬剤ディスクとしてセフトジジム（CAZ）及びメロペネム（MEPM）を用い、阻害剤としてメルカプト酢酸ナトリウム

(SMA) ディスクを使用した。KPC 型カルバペネマーゼ産生性のスクリーニング検査では、薬剤ディスクとして MEPM を用い、阻害剤として 3-アミノフェニルボロン酸 (APB) を使用した。検査及び結果判定の方法は病原体検出マニュアル<sup>6)</sup>に従った。

基質拡張型  $\beta$ -ラクタマーゼ (ESBL) 産生性のスクリーニング検査では、薬剤ディスクとして CAZ 及びセフトキシム (CTX) を用い、阻害剤としてアモキシシリン・クラバン酸 (ACV) 及びスルバクタム・アンピシリン (S/A) を使用した。結果判定は薬剤ディスクと阻害剤の間に阻止円の拡張が認められた株を陽性とした。

AmpC  $\beta$ -ラクタマーゼ産生性のスクリーニング検査では、薬剤ディスクとしてセフメタゾール (CMZ) を用い、阻害剤として APB 及びクロキサシリン (MCIPC) を使用した。検査及び結果判定の方法は病原体検出マニュアル<sup>6)</sup>に従った。

## 2-4 カルバペネマーゼ産生性のスクリーニング検査

CLSI M100 に記載された modified Carbapenem Inactivation Method (mCIM)<sup>7,8)</sup>に従って、カルバペネマーゼ産生性を確認した。

## 2-5 PCR 法による薬剤耐性遺伝子検査

検査対象遺伝子は、カルバペネマーゼ遺伝子 (IMP 型、NDM 型、KPC 型、OXA-48 型、VIM 型、GES 型)、ESBL 遺伝子 (TEM 型、SHV 型、CTX-M-1 group、CTX-M-2 group、CTX-M-9 group)、AmpC  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子 (MOX 型、CIT 型、DHA 型、ACC 型、EBC 型、FOX 型) とし、マルチプレックス PCR 法<sup>9)</sup>及び病原体検出マニュアル<sup>6)</sup>に記載された方法を用いた。

## 2-6 シークエンスによるカルバペネマーゼ遺伝子の解析

カルバペネマーゼ遺伝子の保有が確認された株については、シークエンスを実施し塩基配列を決定した。IMP 型については病原体検出マニュアル<sup>6)</sup>の方法に従い、NDM 型については Kaase らの方法<sup>10)</sup>に従った。

## 3. 結果

### 3-1 CRE 感染症の発生状況

当所における CRE 感染症の届出に基づく検査件数は、令和元年度以降は約 40~50 株であったが、令和 6 年度は 22 株であり、減少傾向が確認された (図 1)。患者の性別は、男性 10 例 (45.5%)、女性 12 例 (54.5%) であった。年齢分布は 1~96 歳、中央値は 80 歳で、65 歳以上の高齢者が全体の 63.6%を占めていた (図 2)。臨床診断は、尿路感染症 11 例 (37.9%)、肺炎 6 例 (20.7%)、菌血症 5 例 (17.2%)、胆管炎・胆嚢炎 4 例 (13.8%)、その他 3 例 (10.3%) であった (複数の症状が記載されているものを含む) (図 3)。分離検体は、尿 8 例 (36.4%)、血液 6 例 (27.3%)、喀痰 3 例 (13.6%)、胆汁 2 例 (9.1%)、膿 1 例 (4.5%)、その他 2 例 (9.1%) であった (図 4)。菌種は、*K. aerogenes* 7 株 (31.8%)、*E. cloacae* complex 7 株 (31.8%)、*K. pneumoniae* 3 株 (13.6%)、*K. variicola* 2 株 (9.1%)、*E. coli* 2 株 (9.1%)、*C. freundii* complex 1 株 (4.5%) であり、*K. aerogenes* の割合が令和元年度以降最も少ない一方で、*E. cloacae* complex、*K. pneumoniae*、*E. coli* は最も多い割合であった (図 5)。薬剤感受性試験において MEPM の基準を満たす症例は 10 例 (45.5%)、イミペネム (IPM) と CMZ の基準を満たす症例は 17 例 (77.3%)、両者を満たす症例は 5 例 (22.7%) であり、IPM/CMZ の割合が高かった (表 2)。

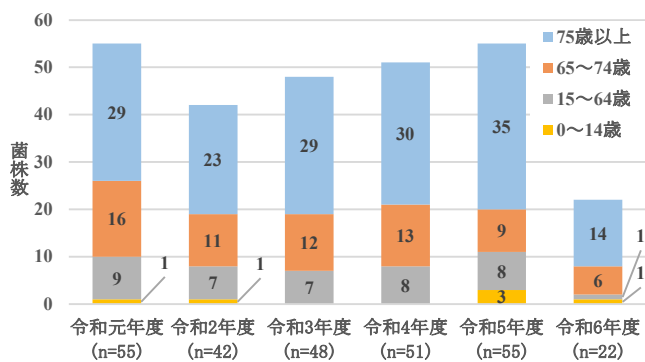


図1. 年度別・年齢群別菌株数

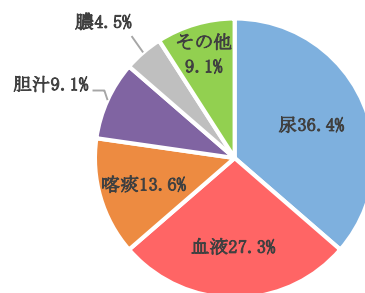


図4. 分離材料別菌株数 (令和6年度, n=22)

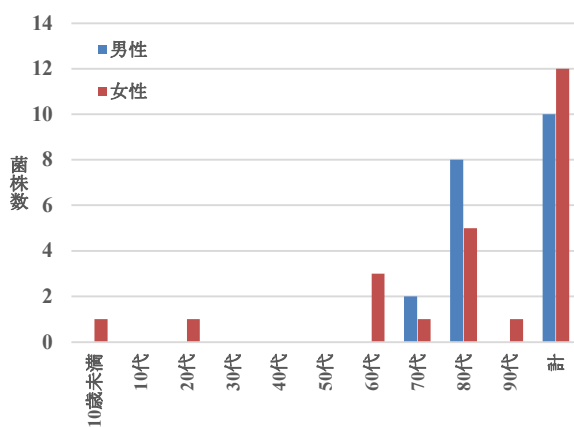


図2. 年齢別性別分布 (令和6年度, n=22)

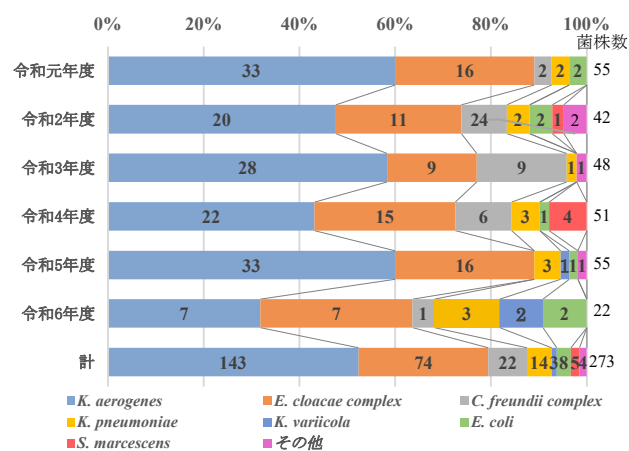


図5. 年度別・菌種別菌株数および割合

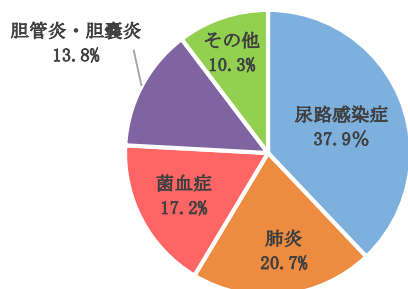


図3. 診断別菌株数 (令和6年度, n=29)

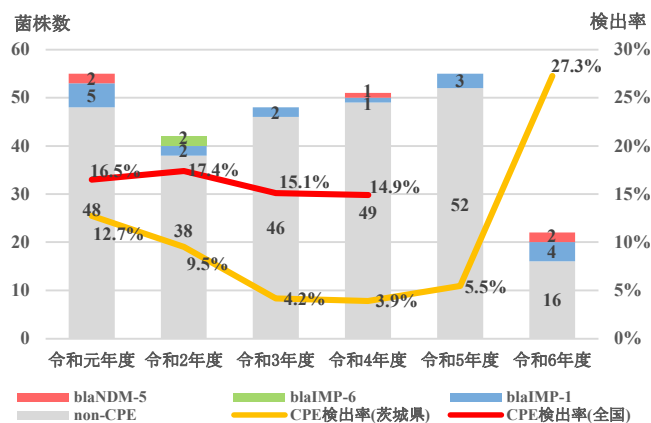


図6. 年度別CPE検出数および検出率

### 3-2 検査結果

対象菌株 22 株に対し、ディスク拡散法による  $\beta$ -ラクタマーゼ産生性のスクリーニング検査、カルバペネマーゼ産生性のスクリーニング

検査、PCR 法による薬剤耐性遺伝子検査を実施した結果、CPE と判定された菌株は 6 株 (27.3%) であった (図 6)。検出されたカルバ

ESBL 遺伝子は、SHV 型が 4 株 (*K. pneumoniae* 3 株、*K. variicola* 1 株)、TEM 型が 3 株 (*K. pneumoniae* 2 株、*E. coli* 1 株)、CTX-M-1 group が 1 株 (*K. pneumoniae*)、CTX-M-9 group が 1 株 (*K. pneumoniae*) であった。AmpC  $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子は、EBC 型が 5 株 (*E. cloacae* complex 5 株) であった (表 1)。

ESBL 遺伝子保有株は、CPE 及び non-CPE で確認され、CMZ 及び MEPM を含め  $\beta$ -ラクタム系抗菌薬に中等度以上の耐性を示していた。そのうち 2 株は non-CPE であるものの、TEM 型、SHV 型及び CTX-M 型を同時に保有しており、 $\beta$ -ラクタム系抗菌薬のほかに、ゲンタマイシン (GM)、レボフロキサシン (LVFX)、ST 合剤 (ST)、ミノサイクリン (MINO)、ホスホマイシン (FOM) に対しても耐性が認められた (表 2)。

[illegible]

表 2. 遺伝子検査結果および届出医療機関から提出された薬剤感受性試験結果

No	菌種	β-ラクタマーゼ遺伝子			最小発育阻止濃度 (μg/mL)																													
		Carbapenemase	ESBL	AmpC	ABPC	PIPC	TAZ/ PIPC	CEZ	CTX	CTXR	CAZ	CFPM	CMZ	IPM	MEPM	AZT	GM	AMK	LVFX	ST	MINO	FOM												
1	<i>E. coli</i>	IMP-1	-	-	n.d.	16	16	>4	n.d.	>32	n.d.	16	>32	2	2	n.d.	≦2	≦4	≦0.12	≦40	>8	≦64												
2	<i>E. cloacae</i> complex	IMP-1	-	-	>16	64	n.d.	>4	>32	>32	n.d.	>16	n.d.	8	8	n.d.	n.d.	≦8	2	≦0.5	>8	≦8												
3	<i>E. cloacae</i> complex	IMP-1	-	EBC型	>16	16	≦16	>16	>2	>2	>8	16	>32	>2	>2	>8	≦2	≦4	1	≦2	>8	>16												
4	<i>K. pneumoniae</i>	IMP-1	SHV型	-	≧32	n.d.	≧128	≧64	n.d.	≧64	≧64	≧32	≧64	8	≧16	≦1	≦1	≦1	n.d.	≦20	2	n.d.												
5	<i>K. varicola</i>	NDM-5	SHV型	-	>16	>64	>64	>16	>2	>2	>8	>16	32	>2	>2	<4	<2	<4	<0.5	<2	<2	<4												
6	<i>E. coli</i>	NDM-5	TEM型	-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	≧64	≧4	≧4	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.												
7	<i>K. pneumoniae</i>	TEM型			≧32	≧128	≧128	n.d.	≧4	≧4	n.d.	n.d.	32	n.d.	≧4	n.d.	≧16	8	≦0.5	≧76	4	≧32												
		SHV型																																
		CTX-M-1G																																
8	<i>K. pneumoniae</i>	TEM型			>16	n.d.	>64	>16	n.d.	>2	>8	>8	32	n.d.		>2	>8	≦4	≦16	>1	>2	>8	>16											
		SHV型																																
		CTX-M-9G																																
9	<i>E. cloacae</i> complex	-	-	EBC型	>16	n.d.	≦8	>4	n.d.	≦1	n.d.	≦2	>32	2	≦0.12	n.d.	n.d.	≦4	≦0.12	n.d.	≦4	n.d.												
10	<i>E. cloacae</i> complex	-	-	EBC型	n.d.	≦8	≦8	>4	n.d.	≦1	n.d.	≦2	>32	2	≦0.12	n.d.	≦2	≦4	≦0.12	≦40	≦4	≦64												
11	<i>E. cloacae</i> complex	-	-	EBC型	>16	n.d.	≦8	>4	n.d.	≦1	n.d.	≦2	>32	2	≦0.12	n.d.	≦2	n.d.	≦0.12	n.d.	≦4	n.d.												
12	<i>E. cloacae</i> complex	-	-	EBC型	>16	≦8	≦8	>4	n.d.	≦1	n.d.	≦2	>32	2	≦0.12	n.d.	≦2	≦4	≦0.12	n.d.	≦4	>128												
13	<i>E. cloacae</i> complex	-	-	-	>16	n.d.	≦8	>16	≦1	n.d.	≦1	≦2	>32	2	≦0.25	≦4	≦2	≦8	≦0.12	≦2	≦4	>16												
14	<i>C. freundii</i> complex	-	-	-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	≦1	n.d.	n.d.	n.d.	64	2	8	n.d.	≦2	n.d.	0.5	n.d.	n.d.	≦64												
15	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	>16	≦8	≦16	>16	≦1	≦1	≦4	≦2	>32	2	≦1	≦4	≦2	≦4	≦0.5	≦2	≦2	16												
16	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	>16	≦8	n.d.	>4	n.d.	≦1	≦4	n.d.	>32	2	≦0.12	n.d.	≦2	≦4	≦0.12	≦40	≦4	≦64												
17	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	>16	≦8	≦16	>16	≦1	≦1	≦4	≦2	>32	2	≦1	≦4	≦2	≦4	≦0.5	≦2	≦2	≦4												
18	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	>16	n.d.	≦8	>16	≦1	n.d.	≦1	≦2	>32	2	≦0.25	≦4	≦2	≦8	≦0.12	>2	>8	>16												
19	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	≧32	n.d.	64	≧64	n.d.	16	16	≦0.12	≧64	1	2	4	≦1	2	n.d.	≦20	4	n.d.												
20	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	≧32	n.d.	8	≧64	n.d.	2	4	1	≧64	8	≧16	≦1	≦1	4	n.d.	≦20	≦1	n.d.												
21	<i>K. aerogenes</i>	-	-	-	>16	n.d.	≦8	>4	n.d.	≦1	n.d.	≦2	>32	2	≦0.12	n.d.	n.d.	≦4	≦0.12	n.d.	≦4	n.d.												
22	<i>K. varicola</i>	-	-	-	>16	n.d.	≦8	>16	≦1	n.d.	≦1	≦2	>32	2	≦0.25	8	≦2	≦8	n.d.	≦2	≦4	≦4												
																						：		： 耐性	：		： 中等度	：		： 感性				

：耐性      ：中等度      ：感性

### 3-3 考察

CRE 感染症の届出に基づき、令和 6 年度に当所に搬入された 22 株のうち、CPE と判定された株は 6 株 (27.3%) であり、令和元年度以降、最も高い割合を示した。搬入菌株に占める *K. aerogenes* は令和元年度以降、最も少ない割合であった一方で、*E. cloacae* complex、*K. pneumoniae*、*E. coli* は最も多い割合であった。病原体サーベイランスにおいて、菌種別のカルバペネマーゼ遺伝子陽性率は、*K. aerogenes* は非常に低い一方で *E. cloacae* complex、*K. pneumoniae*、*E. coli* は高い割合となっている<sup>11)</sup>。本県の CPE 検出割合が増加した要因の一つとして、搬入菌株数および *K. aerogenes* の検出割合の低下、*E. cloacae* complex、*K. pneumoniae*、*E. coli* の検出割合の増加が考えられる。菌種によってカルバペネマーゼ遺伝子陽性率に違いがみられるため、今後も搬入検体の菌種と CPE

検出割合の傾向を注視する必要がある。

国内で主に検出されるカルバペネマーゼは IMP 型であり、その多くは IMP-1 と IMP-6 である。これらの分布には地域特性があり、IMP-1 は全国から分離され、IMP-6 は西日本地域を中心に分離されている<sup>11)</sup>。今回検出された IMP 型は全て IMP-1 であり、全国と同様の傾向が示された一方で、IMP-6 は検出されなかった。しかし、IMP-6 は、MBL 遺伝子の配列が IMP-1 と一塩基異なることで、アミノ酸の変異が起こり、IPM 分解活性が MEPM 分解活性の 7 分の 1 にまで低下する<sup>12)</sup>。このため、IMP-6 産生株に対するカルバペネム系薬の感受性試験を IPM だけで行った場合、IPM に感性となり見落とされる危険性がある<sup>13)</sup>。

NDM 型は海外型カルバペネマーゼである<sup>11)</sup>。当所では既報<sup>14)</sup>を含め断続的に確認されてお

り、過去 6 年間で NDM-5 が計 5 株検出された。分離された患者は海外渡航歴なし又は不明であり、大都市圏に比較的に近い地域から検出された。また、隣接自治体において海外渡航歴無し・不明の NDM 型が複数検出されている<sup>15)</sup>ことから、県外からの流入の可能性が推察された。近年、国内における NDM 型の検出株数および報告地域の増加が報告されている<sup>1)</sup>。本県においても、県南地域を中心として、令和元年度時点の 2 自治体から 5 自治体に報告地域が増加しており、複数の地域に拡散しつつあると考えられる。

薬剤感受性試験結果において、CPE に対して非  $\beta$ -ラクタム系抗菌薬で感受性を示していた。しかし、国内で報告が多い IMP 型は海外で報告が多い NDM 型等と比較して、非  $\beta$ -ラクタム系抗菌薬への感受性率が比較的高いと報告されている<sup>1)</sup>ため、今後の遺伝子型の動向次第では、非  $\beta$ -ラクタム系抗菌薬への耐性を示す株が増えることが懸念される。

CPE および non-CPE において、ESBL 遺伝子保有株、AmpC 遺伝子保有株が認められた。

近年、ESBL 産生菌は、院内および市中への拡大が深刻な課題となっている<sup>16,17)</sup>。ESBL 産生菌は通常、ペニシリン系、第 1～3 世代セファロスポリン系、モノバクタム系抗菌薬は分解できるものの、セファマイシン系やカルバペネム系抗菌薬は分解できない<sup>18)</sup>。また、*K. pneumoniae*、*E. coli* における第 3 世代セファロスポリン系及びフルオロキノロン系抗菌薬に耐性を示す株が増加傾向にある<sup>19)</sup>。令和 6 年度に検出された ESBL 遺伝子保有 5 株は CMZ 及び MEPM に対しても中等度以上の耐性を示していた。そのうち 2 株は non-CPE であるものの、複数の ESBL 遺伝子を保有しており、非  $\beta$ -ラクタム系抗菌薬に対しても耐性が認められたことから、 $\beta$ -ラクタマーゼ産生量の増加

及び膜蛋白（ポーリン）の変化などの影響が考えられる。

AmpC 遺伝子を染色体上にコードする代表的な腸内細菌目細菌のうち、*E. cloacae*、*K. aerogenes*、*C. freundii* の 3 菌種は、治療前に第 3 世代以下のセファロスポリン系抗菌薬に感受性を示していた場合でも、第 3 世代セファロスポリン系抗菌薬に曝露した場合に、耐性化するリスクが特に高いと報告されている<sup>19)</sup>。non-CPE で AmpC 遺伝子保有が確認された株は全て *E. cloacae* complex であり、セフトリアキソン（CTRX）、セフェピム（CFPM）に感受性を示していたが、AmpC 過剰産生のリスクが高く、治療中の耐性化が懸念される。

ESBL 又は AmpC 産生 non-CPE のカルバペネム耐性は、これらの  $\beta$ -ラクタマーゼ産生量の増加および膜蛋白（ポーリン）の変化などによる<sup>1)</sup>とされており、CPE とは耐性機序が異なる。しかし、 $\beta$ -ラクタマーゼ遺伝子がプラスミド上に存在する場合、菌種を超えて伝播する危険性があるため、ESBL 遺伝子及び AmpC 遺伝子保有株についても CPE と同様に発生動向を注意する必要がある。

薬剤耐性菌によるアウトブレイクを未然に防ぐためには、今後も継続的にサーベイランスを行い、正確かつ迅速に検査を実施して、医療機関をはじめ広く情報提供をすることが重要であると考えられる。

## 文献

- 1) 国立感染症研究所. 病原微生物検出情報 IASR Vol. 46 p1-2(23-24),2025
- 2) 国立感染症研究所 病原微生物検出情報 IASR Vol.35: p3-4(283-284),2014
- 3) Tamma PD, et al., Clin Infect Dis 64: 257-264, 2017
- 4) 国立感染症研究所. 病原微生物検出情報

- IASR Vol.40: p1-2(17-18),2019
- 5) 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
  - 6) 国立感染症研究所. 病原体検出マニュアル 薬剤耐性菌. 2020
  - 7) CLSI 2018. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; M100-S28
  - 8) CLSI 2017. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; M100-S27
  - 9) Watahiki M. *et al.* 2020. *Jpn J Infect Dis.* 73 (2) : 166-172
  - 10) Kaase M. *et al.* 2011. *J Antimicrob Chemother.* 66 (6) : 1260-1262
  - 11) 国立感染症研究所. 病原微生物検出情報 IASR Vol.45:p23-24(129-130), 2024
  - 12) Yano H. *et al.* 2001. *Antimicrob Agents Chemother.* 45 (5) : 1343-1348
  - 13) 鹿山 鎮 男 他 . 2016. *THE CHEMICAL TIMES.* 239: 3-9
  - 14) 茨城県衛生研究所年報第 62 号 (2024 年)
  - 15) 国立感染症研究所. 病原微生物検出情報 IASR Vol. 40 p12-13(158-159),2019
  - 16) Colodner R, Rock W, Chazan B, *et al*: Risk factors for the development of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in nonhospitalized patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*23:163-167 (2004). 2)
  - 17) Pitout JD, Hanson ND, Church DL, *et al*: Population-based laboratory surveillance for *Escherichia coli*-producing extended spectrum beta lactamases: importance of community isolates with blaCTX-M genes. *Clin Infect Dis.* 38:1736-1741 (2004).
  - 18) Kohlmann R, Bahr T, Gatermann SG. Species-specific mutation rates for ampC derepression in *Enterobacterales* with chromosomally encoded inducible AmpC beta-lactamase. *J Antimicrob Chemother.* 2018 Jun;73(6):1530-1536.
  - 19) 薬剤耐性ワンヘルス動向調査検討会 薬剤耐性ワンヘルス動向調査年次報告書 2024