

山口県における薬剤耐性菌感染症の耐性遺伝子

山口県環境保健センター
尾羽根 紀子・大塚 仁・野村 恭晴*

*現 山口健康福祉センター

Genetic analysis of drug resistant bacteria infection in Yamaguchi prefecture

Noriko OBANE・Hitoshi OHTSUKA・Yasuharu NOMURA*
Yamaguchi Prefectural Institute of Public Health and Environment
* *Yamaguchi Health and Welfare Center*

はじめに

地域における薬剤耐性菌の蔓延等の流行状況把握のため、2017年3月に「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」が発出された¹⁾。

感染症法の5類全数把握疾患における薬剤耐性菌感染症にはカルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)感染症、薬剤耐性アシネトバクター(MDRA)感染症、バンコマイシン耐性腸球菌(VRE)感染症、バンコマイシン耐性黄色ブドウ球菌(VRSA)感染症がある。

CRE 感染症は、細菌感染症治療薬の広域β-ラクタム剤や、切り札とされるカルバペネム系薬剤に耐性を示す腸内細菌科細菌である。

医療機関等から、届出所見に合致した CRE 感染症のカルバペネム耐性機構はカルバペネマーゼ産生の有無により大きく二つに分けられる²⁾。

一つは、分解酵素のカルバペネマーゼを産生しているカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌(CPE)である。CPE はほとんどのβ-ラクタム剤を分解し、さらにプラスミドを介しカルバペネマーゼ遺伝子を水平伝播するため、医療機関等での蔓延には警戒すべき耐性菌とされている。

もう一方は、カルバペネマーゼを産生しないカルバペネマーゼ非産生腸内細菌科細菌(non-CPE)である。カルバペネム分解活性が弱いカルバペネマーゼに分類されない基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ(ESBL)、AmpC β-ラクタマーゼの過剰産生に加え、細胞膜の透過性低下によりカルバペネム系薬剤耐性となった場合がある。

届出された CRE 感染症にはこれらが混在しており、CPE であるか否かの情報は医療機関等がより徹底した感染対策に移行するかの判断に有益であるが、CPE の検査に必要不可欠な遺伝子検査体制が整っていない医療機関では CPE の判別は不可能である。当センターでは遺伝子等の検査体制を整え、検査結果を関係機関に情報提供をしている。

これまでに搬入された薬剤耐性菌の検査状況と、県内に定着が示唆される遺伝子型について報告する。

対象及び方法

1 供試菌株

2017年9月～2020年3月に県内で5類全数把握疾患で届出され、当センターに搬入された77株を用いた。

2 検査方法

国立感染症による薬剤耐性感染症研修会資料³⁾および国立感染症病原体検出マニュアル⁴⁾に従い、下記の検査を実施した。

(1) CRE 検査

ア カルバペネマーゼ産生性の確認

modified Carbapenem-inactivation method(mCIM)を実施した。

イ 阻害剤を用いたβ-ラクタマーゼ産生性の確認

ウ PCR法によるカルバペネマーゼ遺伝子の検出
Multiplex PCR法を実施した。

エ シークエンスによるカルバペネマーゼ遺伝子型別

IMP型陽性を検出した株については、シークエンス解析により得られた塩基配列からBLAST解析により遺伝子型を決定した。

(2) MDRA 検査

ア 菌種同定

同定キット, OXA-51-like 検出の有無で確認した.

イ 阻害剤を用いた β -ラクタマーゼ産生性の確認

ウ PCR 法によるメタロ- β -ラクタマーゼ遺伝子および OXA 型 β -ラクタマーゼ遺伝子の検出

(3) VRE 検査

ア 菌種同定

同定キット, EF 培地への塗抹による鑑別および

Multiplex PCR 法による *ddl* genes の検出で確認した.

イ 阻害剤を用いたバンコマイシン耐性型推定

ウ PCR 法によるバンコマイシン耐性遺伝子の検出

結果

1 薬剤耐性感染症の発生状況

届出, 搬入された 77 検体の感染症疾患別の発生状況を図 1 に示す. CRE 感染症が 75 検体, MDRA, VRE 感染症が各 1 検体であった.

性別, 年齢分布は図 2 に示すように, 男性 56%(43 検体/77 検体), 女性 44%(34 検体/77 検体)であった. 年齢分布は 60 歳以上が 81.8%(63 検体/77 検体)であった.

届出検体の種類は図 3 に示すように尿, 血液, 喀痰から多く分離されていた.

2 CRE 感染症

CRE 感染症の届出菌種について図 4 に示す.

Klebsiella aerogenes が 52%(75 株中 39 株)で最も多かった.

CPE は 4 株検出され, *Enterobacter cloacae* が 22 株中 3 株, *Klebsiella pneumoniae* が 4 株中 1 株であった. 届出数が最も多かった *Klebsiella aerogenes* は全て non-CPE であった.

CPE の遺伝子型は図 5 に示すよう 4 株全て IMP-1 であり, その検出率(CPE/CRE)は 5.3%であった.

3 MDRA 感染症

届出菌種は *Acinetobacter baumannii* と同定され, 耐性遺伝子型は OXA-40/24like(OXA-72)であった.

4 VRE 感染症

届出菌種について同定キットで *Enterococcus faecium* と同定したが *ddl* 遺伝子が検出されず矛盾が

生じたため, 国立感染症研究所へ同定依頼し

Enterococcus raffinosus と同定された.

耐性遺伝子型は *VanB* であった.

考察

細菌感染治療薬の切り札とされるカルバペネム系薬剤の効かない耐性菌の増加が問題となっている. また CRE 感染症について最近では渡航歴の無い患者から海外型耐性遺伝子が検出されるケースが増えているとの報告もある⁹⁾. さらに, 検査体制が整い多くの検体が検査されカルバペネマーゼ遺伝子型の地域特性が認められるようになった. 西日本では使用薬剤によっては見落としの恐れのある遺伝子型 IMP-6 が多いとの報告がある⁶⁾.

県内の CRE 感染症の発生状況は, 山口県の院内感染対策サーベイランス(JANIS)の検査部門公開情報⁷⁾において検体数が年々増える中, 届出数は 25 件程度で推移し, さらに山口県の CPE 検出率は 5.3%で, 全国平均値 17.6%⁸⁾より低い状況にあり, 発生は抑えられていると推察される. これまで CPE が検出された医療機関からその後再び CPE が発生した事例はなく, 感染対策が良好に取られていると思われる.

県内における CRE のカルバペネマーゼ遺伝子型は, これまでの検査状況から IMP-1 であり, 西日本に多いとされる IMP-6 は検出されていない. IMP-6 はメロペネムに耐性, イミペネムに感性を示すため, イミペネムのみで検査する医療機関では見落とす恐れがある. そこで山口県の JANIS 検査部門公開情報⁷⁾での, 主要菌の抗菌薬感受性データから県内医療機関のメロペネム, イミペネムの使用状況を見ると, 両薬剤の使用検体数はほぼ同数であり, メロペネムが検査に使用されず IMP-6 が見落とされている状況ではないと思われた.

VRE 感染症について, 山口県では過去 2 度の院内感染が起こっており, これらの遺伝子型も全て *VanB* であった.

MDRA 感染症について, 当センターにこれまで検査依頼のあった株の遺伝子型は全て OXA-72 であった. MDRA 感染症の全国患者発生数は, 感染症法に基づく感染症発生動向調査(NESID)の集計では年間 30 人程度

と少ないが、保菌者も含め集計される JANIS データにおける全国 MDRA 分離患者数の 1/3~1/4 を山口県が占めるという非常に多い分離状況が続いており、対策を講じる事が急務である。

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、2018 年 3 月 28 日

- 2) IASR.35,283-284(2014)
- 3) 国立感染症研究所 細菌第二部第一室：薬剤耐性菌研修会資料 2016 年 9 月修正 Ver3
- 4) 国立感染症研究所：病原体検出マニュアル薬剤耐性菌 H28.12 月改訂版 Ver1.1
- 5) IASR.40,158-159(2019)
- 6) IASR.39,162-163(2018)
- 7) 厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業：検査部門公開情報 2019 年 1 月~12 月年報
- 8) IASR.40,157-158(2019)

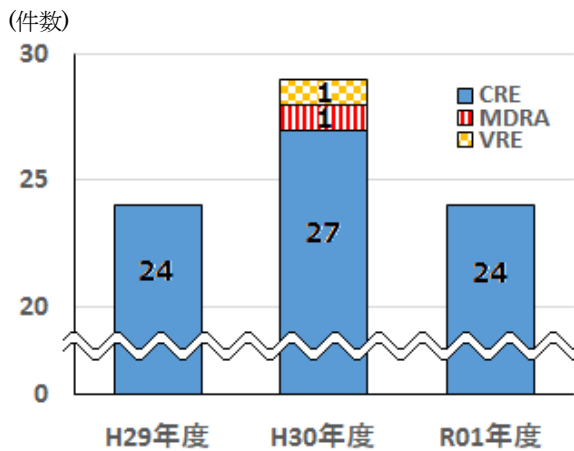


図 1 感染症疾患別の発生状況

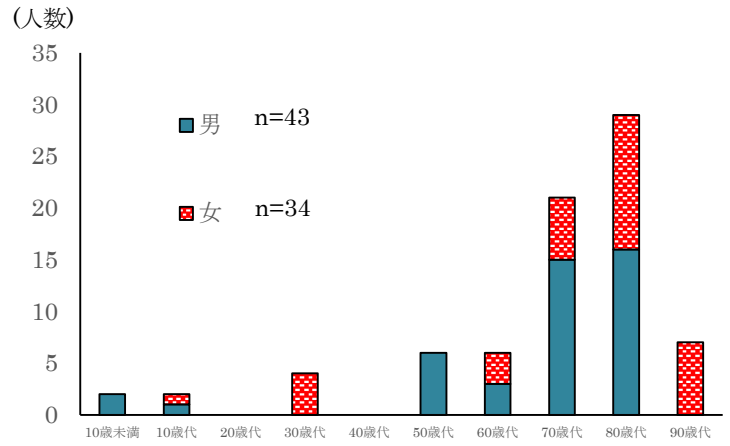


図 2 性別, 年齢分布

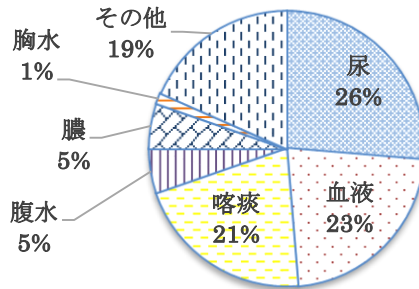


図 3 届出検体の種類

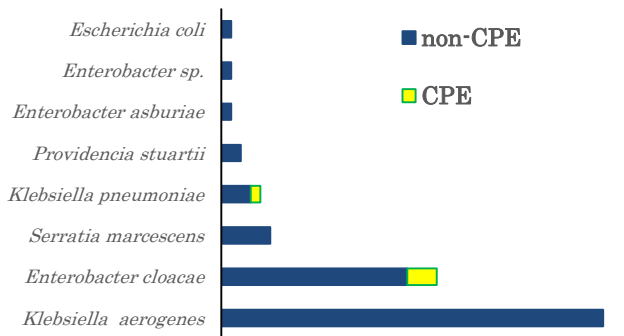


図 4 届出菌種

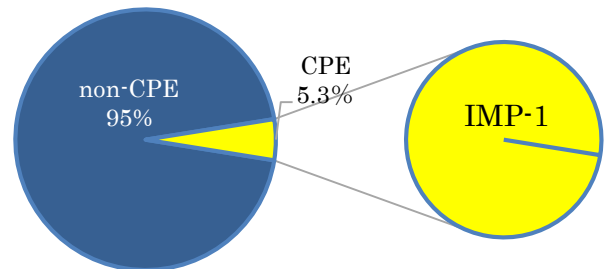


図 5 CPE の遺伝子型, 検出率