

病原微生物検出情報

Infectious Agents Surveillance Report (IASR)

<http://www.nih.go.jp/niid/ja/iasr.html>

月報

Vol.35 No.12 (No.418)

2014年12月発行

国立感染症研究所
厚生労働省健康局
結核感染症課

事務局 感染研感染症疫学センター
〒162-8640 新宿区戸山1-23-1
Tel 03 (5285) 1111

(禁、無断転載)

腸内細菌科菌種におけるカルバペネム耐性メカニズム3, 本邦におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)感染症の臨床像4, CREの検査5, 外来型CREの検出状況7, 感染症法に基づくCRE感染症の届出状況8, プラスミド水平伝達が関与したCRE院内感染事例9, 大規模病院におけるCREの長期間にわたる院内伝播10, わが国で分離されるアシネトバクター属菌の分子疫学解析11, 大阪府下における小児リステリア髄膜炎の1例13, 飼育牛との接触が感染経路と推定されたEHEC O121感染事例: 兵庫県14, エンテロウイルスD-68型が検出された小児・乳児の4症例: 広島県15, 2014年前半の麻疹流行状況: 大阪府16, 過去10年間におけるA群ロタウイルスの動向: 宮城県18, パラインフルエンザウイルス2型が検出された肺炎・胃腸炎・神経症状を示した1症例20

本誌に掲載された統計資料は、1)「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」に基づく感染症発生動向調査によって報告された、患者発生および病原体検出に関するデータ、2) 感染症に関する前記以外のデータに由来する。データは次の諸機関の協力により提供された: 保健所, 地方衛生研究所, 厚生労働省食品安全部, 検疫所。

<特集> カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)感染症は、グラム陰性菌による感染症の治療において最も重要な抗菌薬であるメロペネムなどのカルバペネム系抗菌薬および広域β-ラクタム剤に対して耐性を示す大腸菌や肺炎桿菌などの腸内細菌科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って使用している患者などに感染症を起こす。健常者に感染症を起こすこともある。いずれも肺炎などの呼吸器感染症、尿路感染症、手術部位や軟部組織の感染症、医療器具関連血流感染症、敗血症、髄膜炎、その他多様な感染症を起こし、しばしば、院内感染の原因となる。

日本では、腸内細菌科細菌の主要な菌種におけるメロペネム耐性はいずれも1%未満である(表1)。しかし、海外の多くの国では腸内細菌科細菌のカルバペネム耐性の割合が増加しており、米国では*Klebsiella*属菌に限るとカルバペネム耐性の割合は10.4%と報告されている(Jacob JT, *et al.*, MMWR 62 (9): 165-170, 2013)。WHOは、今後各国が取り組むべき重要課題の一つとして、耐性菌サーベイランスの強化をあげてい

る(WHO, Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014, <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>)。一方、わが国では、2014(平成26)年9月19日にCRE感染症が感染症法に基づく感染症発生動向調査の5類全数把握疾患に追加された。

カルバペネム耐性機構

カルバペネム耐性は、カルバペネム系抗菌薬分解酵素である各種カルバペネマーゼの産生、あるいはクラスCや基質拡張型のβ-ラクタマーゼの産生と細胞膜透過性低下変異の組み合わせにより獲得される(本号3ページ)。カルバペネマーゼ産生菌は広域β-ラクタム剤に汎耐性を示し、また同時に他の複数の系統の薬剤にも耐性のことが多いため、臨床的に問題である(本号4ページ)。

国内分離株では、カルバペネマーゼ遺伝子はIMP型が多く、国内の医療機関に比較的普及しているメルカプト酢酸ナトリウムを用いたディスク法で検出できることが多い。一方、海外分離株ではNDM型、KPC型、OXA-48型が多く、通常、これらを検出するには別の検査を実施する必要がある(本号5ページ)。海外には、CREによる院内感染の報告が日本よりも多い国もあることから、特に海外での医療機関受診歴のある患者については、適切な検査を行い、輸入例からの拡散を防ぐ必要がある(本号7ページ, IASR 35: 200-201, 2014; 34: 237-238, 2013および34: 238-239, 2013)。

感染症発生動向調査における届出基準と届出状況

CRE感染症が5類全数把握対象疾患となった。感染

表1. 主な腸内細菌科細菌のメロペネム耐性の割合, 2013年

菌種	耐性率(%)
<i>Escherichia coli</i>	0.1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.2
<i>Enterobacter cloacae</i>	0.6
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.2
<i>Citrobacter freundii</i>	0.2
<i>Citrobacter koseri</i>	0.1
<i>Proteus mirabilis</i>	0.1

厚生労働省院内感染対策サーベイランス
2013年検査部門年報より(<http://www.nih-janis.jp>)

表2. カルバペネム耐性の判定に必要な検査所見

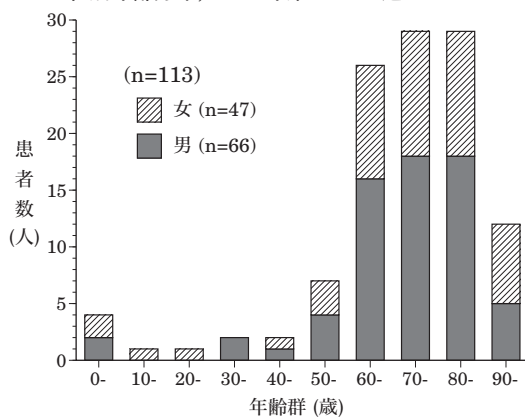
- ア メロペネムの最小発育阻止濃度(MIC)値が2μg/ml以上であること、またはメロペネムの感受性ディスク(KB)の阻止円の直径が22mm以下であること
- イ 次のいずれにも該当することの確認
- (ア) イミペネムのMIC値が2μg/ml以上であること、またはイミペネムの感受性ディスク(KB)の阻止円の直径が22mm以下であること
- (イ) セフメタゾールのMIC値が64μg/ml以上であること、またはセフメタゾールの感受性ディスク(KB)の阻止円の直径が12mm以下であること

厚生労働省ホームページより(<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kansenshou11/01-05-140912-1.html>)

(2ページにつづく)

(特集つづき)

図. カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症患者の性別年齢分布, 2014年第38~44週



(感染症発生動向調査:2014年11月5日現在報告数)

症法に基づく届出の対象となるのは、分離された菌が感染症の起因菌と判定された場合である(届出基準は<http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou11/01-05-140912-1.html>参照)。感染症を発症していない保菌者については届出の対象ではない。カルバペネム耐性の判定に必要な薬剤は、メロペネム、またはイミペネムとセフメタゾールである(前ページ表2)。カルバペネマーゼ産生菌の検出には、メロペネムが感度、特異度ともに最も優れている(IASR 35: 156-157, 2014)。しかし、臨床現場では最初に市販されたカルバペネム系抗菌薬であるイミペネムの薬剤感受性のほうがメロペネムよりも広く測定されているため、イミペネム耐性も届出基準に加えられた。ただし、*Proteus*属菌などでよく分離される、イミペネムのみ耐性を示し他のセフェム系には感性となるカルバペネマーゼ非産生菌を除外するため、イミペネムとセフメタゾールの2剤に耐性を示すものを届出対象にしている。

全数報告となった第38週(2014年9月19日)~第44週までに(2014年11月5日現在報告数)、29都道府県より113例の届出があった(本号8ページ)。性別は男性66例、女性47例と男性が多かった。診断時年齢は0歳~97歳までと幅広かったが、65歳以上の高齢者が88例と、全体の78%を占めた(図)。血液検体、腹水、髄液等、通常無菌的とされる検体からCREが分離された症例が47例あり(約42%)、血液検体の27例が最も多かった。感染地域として、113例のうち109例は国内での感染と報告されていたが、国外での感染と推定された症例が1例あった。感染経路については、医療器具関連や手術部位など、医療関連が推定される症例が23例あった。カルバペネム耐性の確認は、113例中31例がメロペネム耐性、41例がイミペネムとセフメタゾールの2剤耐性、39例がメロペネム耐性およびイミペネムとセフメタゾール2剤耐性の両方で実施されていた。2例についての確認方法は不明だった。

届出のうち約半数は*Enterobacter*属菌による感染

表3. カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症の届出の主な菌種名と件数, 2014年第38~44週

菌種	件数
<i>Enterobacter cloacae</i>	34
<i>Enterobacter aerogenes</i>	22
<i>Escherichia coli</i>	19
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15
<i>Citrobacter</i> spp.	5
その他および記載なし	18
計	113

(感染症発生動向調査:2014年11月5日現在報告数)

症である(表3)。*Enterobacter*属菌のカルバペネム耐性は、カルバペネマーゼ産生ではなく、染色体性のクラスC β -ラクタマーゼの産生と膜の透過性低下によることが多い。このような広域 β -ラクタム剤に汎耐性を示すカルバペネマーゼ非産生菌を届出対象に含めるべきかどうかについては、公衆衛生上、感染対策上の重要性を考慮しつつ検討が続けられている。

届出基準の詳細とQ&Aは国立感染症研究所のホームページで公開されている(<http://www.niid.go.jp/niid/ja/id/495-source/drug-resistance/5011-carbapenem-qa2.html>)。

遺伝子水平伝達と院内感染

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、接合等により腸内細菌科の他菌種にまで水平伝達され、カルバペネム感性の菌がこれにより耐性化することがある。また、腸内細菌科細菌ではカルバペネマーゼ遺伝子を持っていてもカルバペネム系抗菌薬に耐性を示さない場合があるが、このような菌株でも耐性遺伝子の発現量変化、細菌外膜の変化で耐性化することがある。耐性を示さないためにカルバペネマーゼ遺伝子の存在が認識されないまま、耐性遺伝子が複数菌種に伝播し拡散することがあるため、サーベイランス上注意する必要がある。実際、医療現場においてカルバペネム耐性遺伝子がプラスミドの伝達により複数の菌種に拡散した事例が報告されている(本号9&10ページ)。

CREは、無症状で腸管等に保菌されることも多い。感染症を起こしていない患者については届出の対象ではないが、入院患者の場合は院内感染対策上の注意が必要で、院内でアウトブレイクが疑われる場合は、感染症発生動向調査とは別に厚生労働省医政局指導課長通知(平成23年6月17日:医政指発0617第1号)に基づき、保健所に報告するとともに、必要に応じて地域の医療機関のネットワークの支援を得るなどして速やかに適切な対策を行うことが必要である(本通知は近日中に改定される予定だが、新通知においても同様の報告が求められる)。感染対策上の観点から、耐性遺伝子や型別等の解析が必要な場合には、国立感染症研究所等の検査可能な機関に相談されたい。

＜特集関連情報＞

腸内細菌科菌種におけるカルバペネム耐性メカニズムとその特長および動向

カルバペネム系抗菌薬（以下、カルバペネムとする）は、細菌感染症の治療に用いられる各種抗菌薬の中で「最後の頼みの綱」的な存在と位置づけられており、WHOや米国食品医薬品局/動物用医薬品センター（FDA/CVM）の評価では「極めて重要」、食品安全委員会による臨床的な重要度のランク付けでも、「極めて高度に重要」とされている。しかし、2000年代に入ると、カルバペネムに対し耐性を獲得した腸内細菌科の細菌、特に肺炎桿菌が問題となり始め、それらは現在、国際的に、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌（CRE）やカルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌（CPE）として大きな関心事となっている。

腸内細菌科の菌種がカルバペネム耐性を獲得する分子メカニズムは、以下の二つに大別される。

A. 何らかのβ-ラクタマーゼの産生量の増加と外膜蛋白（ポーリン）の変化

B. 何らかのカルバペネム分解酵素（カルバペネマーゼ）の産生

前者Aの例としては、染色体性の誘導型AmpCセファロスポリナーゼを大量に産生し、しかも細菌の外膜に存在する35～40kDa程度の分子量の薬剤の透過孔となっているポーリンが減少あるいは欠失した*Enterobacter*属などが知られている。そのような株は、日常的な薬剤耐性検査では「イミペネム R: 耐性」と判定されることが多い。このような現象は、プラスミド媒介性のDHA型クラスCセファロスポリナーゼやCTX-M型の基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ（ESBL）を多量に産生し同時にポーリンが減少したり欠失した肺炎桿菌などの菌種でもしばしば観察され、以下のカルバペネマーゼ産生株との鑑別が必要となる。

後者Bの例としては、IMP型やNDM型、KPC型などのカルバペネマーゼを産生する場合である。カルバペネマーゼは大きく分けてメタロ型カルバペネマーゼ（メタロ-β-ラクタマーゼ: MBL）とセリン型カルバペネマーゼに分かれる。なお、カルバペネマーゼの産生に加え外膜ポーリンが減少または欠失した株は、カルバペネムに対し高度耐性を示す傾向がある。

1. メタロ-β-ラクタマーゼ（MBL）の産生

a. IMP型

1991年愛知県内の病院で分離されたイミペネム耐性*Serratia marcescens*からIMP-1が最初に発見された。なお、1980年代の終わり頃より、伝達性のイミペネム耐性を獲得した緑膿菌の出現が報告されていたが、それらもIMP型MBLを産生していることが後に判明した。IMP型MBLの遺伝子は伝達性のプラスミド上のインテグロン構造により媒介されており、現時

点では、主として緑膿菌などのブドウ糖非発酵グラム陰性菌から検出される。最近では、腸内細菌科の菌種でもIMP-1型MBL産生株が検出されるようになり、腸内細菌科の同属の菌種間のみならず、属が異なる菌種間にもプラスミドの伝達に伴って拡散しつつある。IMP型は、以下に解説するVIM型やNDM型と比べ、カルバペネムを分解する活性が高い点が特長である。IMP型MBL産生株はアジア地域から多く報告される傾向があるが、欧州地域や米国などからも変種（バリエーション）が若干報告されている。なお、国内では、IMP-1とアミノ酸配列が1カ所変化したIMP-6と命名されたイミペネムの分解活性が弱いタイプが腸内細菌科よりしばしば分離される。したがって、IMP-6産生株は日常的な薬剤感受性検査でイミペネムに「R: 耐性」と判定されない場合が多く、見落とされる危険性があり、一部でアウトブレイクを引き起こしている。また、通常のPCR検査ではIMP-1と識別が困難である。

b. VIM型

1997年にイタリアのヴェローナの病院で分離されたカルバペネム耐性緑膿菌よりVIM-1が発見された。VIM型カルバペネマーゼ産生菌の多くは緑膿菌であるが、2000年代に入るとVIM-2を産生する肺炎桿菌などが欧州で報告され始め、2005年にはVIM-1を産生する肺炎桿菌のアウトブレイクが報告されている。現在、VIM型MBLを産生する腸内細菌科の菌種の頻度はそれほど高くないが、欧州地域を中心に広がりつつあり、警戒されている。

c. NDM型

2007年にインドで手術を受けてスウェーデンに戻ったインド系の患者より分離された肺炎桿菌より最初に発見された。その後、インドを訪問し小手術などを受け英国に帰国した多数の人々から、NDM-1を産生する肺炎桿菌や大腸菌がしばしば分離されるというショッキングな論文が2010年に著名な学術雑誌で報告されたことから、世界的に大きな関心事となった。NDM-1を産生するカルバペネム耐性肺炎桿菌は、現在、英国や欧州各地に広がりつつあり、同時に、インドの近隣のバングラデシュやパキスタン、さらに東南アジア地域の国々など、世界各地にも拡散しつつある。しかし、NDM-1産生株は、日常検査では必ずしもカルバペネムに「R: 耐性」と判定されない場合もあり、注意が必要である。

2. セリン型カルバペネマーゼの産生

a. KPC型

1990年代の後半より、米国のノースカロライナ州あたりでカルバペネムに耐性を示す肺炎桿菌が報告され始め、詳しい解析の結果、KPC型と命名された新しいカルバペネマーゼを産生していることが明らかとなった。KPC型カルバペネマーゼの中で特にKPC-2産生肺炎桿菌は、その後、ニューヨーク州などにも広がり、

全米に拡散し始めたのと平行して、海を越え、イスラエルやギリシャなどにも広がり、現在では欧州全域や中国の南東部沿岸地域の諸都市を含む世界各地に拡散しつつある。

b. OXA-48型 (OXA-48やOXA-181などを含む)

OXA-48は2001年にトルコで分離された肺炎桿菌で最初に確認された。その後しばらくの間はあまり問題視されなかったが、2009年あたりから、ベルギーやオランダ、さらにフランスやスペインなどで、OXA-48を産生する肺炎桿菌によるアウトブレイクが問題視され始め、現在、欧州全体から世界各地に拡散しつつある。OXA-48に類似したOXA-181は、インドで2006年頃に分離された株で確認され始め、現在、アジア地域などに拡散しつつある。

c. GES型

2004年にわが国やギリシャで分離された肺炎桿菌からGES-4やGES-5と命名された新しい β -ラクタマーゼが発見された。現在、GES-5産生株は、南アフリカや南米地域、さらに世界各地から散発的ではあるが検出され始めており、今後の広がりが警戒されている。

名古屋大学大学院医学系研究科

分子病原細菌学/耐性菌制御学 荒川宜親

<特集関連情報>

本邦におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症の臨床像

1. はじめに

カルバペネム系薬剤は基質拡張型 β -ラクタマーゼ (extended-spectrum β -lactamase: ESBL) 産生性のグラム陰性桿菌感染症の治療に用いられる。しかし近年、カルバペネム系薬剤を分解する酵素であるcarbapenemaseを産生する腸内細菌科グラム陰性桿菌が問題となってきた。

世界的にみればカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) としての *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) 産生菌、NDM-1産生菌、OXA-48産生菌等が問題となっている。しかし、これらの菌の臨床検体からの分離報告例数は本邦では少数である。一方で、本邦では日本特有のCREの問題として metallo- β -lactamase であるIMP産生のCREの報告が散見される¹⁻³⁾。これらIMP産生腸内細菌科細菌は、meropenemやimipenemなどのカルバペネム系薬剤に対して1 μ g/ml以下の低いMICを呈する場合があります^{4,5)}、この場合、本邦の大部分の検査室の自動検出機器では「感性(S)」と判断されてしまう。

そこで本稿では、日本特有のCREの問題ともいえるIMP型メタロ- β -ラクタマーゼ産生菌の臨床像について述べる。

2. 参考事例

症例は88歳の男性で、腹部大動脈瘤のために6カ月前に血管内グラフトの挿入術を施行されている。本患者は大腸がんのためにA病院に入院し、右半結腸切除術を受けた。術後3日目に患者は発熱し、手術部位感染症と診断され、これに対して meropenem 静注にて治療が開始された。術後5日目に患者は解熱したが、術後3日目に採取された血液培養ではIMP-1産生性 *Enterobacter cloacae* および *Bacteroides* sp. が検出された。この結果に基づいて、抗菌薬は levofloxacin 静注および ampicillin/sulbactam 静注に変更された。14日間の静注抗菌薬治療が行われた後、内服の levofloxacin および metronidazole に変更されて治療は継続され、患者は治癒した⁶⁾。

3. 臨床像 (リスク因子を含む)

IMP産生腸内細菌科グラム陰性桿菌の分離例に関する臨床的な記述は現時点では極めて限られている。そこで、本邦から報告された15例のIMP産生 *E. cloacae* の分離例を対象とした症例対照研究の結果を示す⁷⁾。

15例の平均年齢は70.9歳 (標準偏差19.4) で、男性が53%を占めていた。IMP産生 *E. cloacae* の分離された部位は血液培養5例、創部培養4例 (そのうち3例は腹部の創部)、尿培養3例、喀痰培養2例、便培養1例であった。15人中8人 (53%) は胆道を含む消化管疾患で入院しており、3例 (20%) は脳血管障害などの神経疾患で入院していた。在院中の死亡率は症例群と対照群でほぼ同等であったが (それぞれ14%と13%)、菌血症例の死亡率は40%と高かった。

実際に感染症を発症していた例は、カテーテル関連血流感染症3例、胆管炎3例、カテーテル関連尿路感染症2例、その他2例の合計10例であった。入院からIMP産生 *E. cloacae* が分離されるまでの中央値は47日 (四分位範囲13~101日) であった。感染例10例の死亡率は20% (10例中2例) であり、特に菌血症の事例で死亡率が40% (5例中2例) と高かった。

IMP産生 *E. cloacae* の分離された15名全例で、本菌分離時にドレーン、経鼻胃管、尿道カテーテル等、なんらかの身体内デバイスが留置されていた。対照群では身体内デバイスは2.2%でしか留置されていなかった。また、IMP産生 *E. cloacae* の分離された例では全例で過去3カ月以内の抗菌薬使用歴があったが、対照群では29%にとどまった。加えて、3カ月以内のセファロスポリン系抗菌薬使用、3カ月以内の侵襲的処置がIMP産生 *E. cloacae* の分離と独立して関連した因子として同定された。

4. 微生物学的検討

分離された15株のIMP産生 *E. cloacae* の meropenem および imipenem に対する最小発育阻止濃度 (minimum inhibitory concentration: MIC) はそれぞれ67% (10株) および80% (12株) で1 μ g/ml以下であった。これは

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) によるブレイクポイント規定文書である M100-S22⁸⁾を参照すると、MIC が $1\mu\text{g/ml}$ 以下であれば感性与判断されるため、この研究における IMP 産生 *E. cloacae* の分離株の大部分がこの規定では感性与判断されてしまうことになる。分離された菌のうち 10 株は IMP-1 産生性、残りの 5 株は IMP-11 産生性であった。

なお、当該研究の行われた施設では、臨床検体から *E. cloacae* が分離され、その株が、第 3 世代セファロスポリン系抗菌薬に耐性を示した場合、もしくは imipenem と meropenem のいずれかに対する MIC が $1\mu\text{g/ml}$ を超えている場合には、基質試薬 HMRZ-86 を使用した β -ラクタマーゼ検出試薬シカベータテスト I/MBL (関東化学) を用いて ESBL、メタロ- β -ラクタマーゼ、および AmpC 型のセファロスポリナーゼのスクリーニングを行っている⁹⁾。その結果、メタロ- β -ラクタマーゼ産生が疑われる株に対して、イムノクロマトグラフィ法を用いたキット¹⁰⁾を用いて IMP 型メタロ- β -ラクタマーゼの検出を行っている。

5. 考察

本邦の臨床現場では、CRE の問題ともいえる IMP 型メタロ- β -ラクタマーゼ産生菌が問題となっている。この菌の感染症の臨床的記述は極めて少ないが、限られた記載に基づけば、医療機関に長期入院し、抗菌薬、侵襲的医療行為、カテーテル留置などの濃厚な医療を受ける患者に発症する傾向を有している。

現状での最大の問題は、IMP 産生菌の検出が困難なことである。現在本邦では、医療機関の検査室内の菌名および抗菌薬感受性試験検査システムのなかに、CLSI のブレイクポイント規定である M100-S22 に基づく判断アルゴリズムが順次導入中である。M100-S22 によれば、腸内細菌科グラム陰性桿菌のカルバペネム系のブレイクポイントが引き下げられ、meropenem $1\mu\text{g/ml}$ 以下、imipenem $1\mu\text{g/ml}$ 以下が感性与定められた。しかし、本報告⁷⁾や IMI-6 産生菌に関する既報⁴⁾によれば、IMP 産生腸内細菌科グラム陰性桿菌のカルバペネム、特に imipenem に対する MIC は $1\mu\text{g/ml}$ を下回っていることがある。IMP 産生菌の正確な同定方法の確立は今後の課題である。

また、在院中の死亡率は症例群と対照群でほぼ同等であった⁷⁾。IMP 産生菌が検出されることが患者に及ぼす臨床的影響の有無については、これまでほとんど記載がないため検討が必要である。加えて、適切な抗菌薬治療に関しても現時点では十分な情報がなく、今後検討を要する。

参考文献

- 1) Shigemoto N, *et al.*, Diagn Microbiol Infect Dis 76 (1): 119-121, 2013
- 2) Sho T, *et al.*, Microb Drug Resist 19 (4): 274-281, 2013

- 3) Yano H, *et al.*, Antimicrob Agents Chemother 56 (8): 4554-4555, 2012
- 4) Shigemoto N, *et al.*, Diagn Microbiol Infect Dis 72 (1): 109-112, 2012
- 5) Hamada Y, *et al.*, J Infect Chemother, 2012
- 6) Hamada Y, *et al.*, J Infect Chemother 19 (5): 956-958, 2013
- 7) Hayakawa K, *et al.*, Antimicrob Agents Chemother 58 (6): 3441-3450, 2014
- 8) Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; nineteenth informational supplement, CLSI document M100-S22, 2012
- 9) Livermore DM, *et al.*, J Antimicrob Chemother 60 (6): 1375-1379, 2007
- 10) Kitao T, *et al.*, J Microbiol Methods 87 (3): 330-337, 2011

国立国際医療研究センター病院

国際感染症センター 大曲貴夫 早川佳代子
中央検査部 目崎和久

<特集関連情報>

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌の検査

腸内細菌科細菌のカルバペネム耐性機構の中でも、カルバペネマーゼ産生はカルバペネム系のみならず多くの β -ラクタム系抗菌薬に耐性を示すことなどから最も問題とされている。カルバペネマーゼには複数の種類があり、薬剤感受性のみではその型別は困難なため、その分離状況を把握するにはディスク法や PCR 法による型別が必要となる。本稿では、国立感染症研究所細菌第二部で実施しているカルバペネマーゼ産生菌の検査法をまとめた。

カルバペネマーゼ産生菌の検出のための指標薬剤として、メロペネムが最も良いとされている¹⁾。同じカルバペネム系抗菌薬のイミペネムを指標薬剤とした場合、日本で比較的多く報告される IMP-6 型メタロ- β -ラクタマーゼ産生菌は、感性与判定されるため検出できない²⁾。また、*Proteus mirabilis* のようにペニシリン結合タンパクの変化によって β -ラクタム系抗菌薬のうちイミペネム特異的に耐性となる株が含まれる³⁾。ただし、カルバペネマーゼ産生株であっても、メロペネムの最小発育阻止濃度 (MIC) は $0.5\sim >64\mu\text{g/mg}$ と株によって様々であり、必ずしも耐性と判定されない。感受性試験の結果のみではカルバペネマーゼ産生菌の判定は困難なため、検査の際は PCR 法による腸内細菌科で報告のある主なカルバペネマーゼ遺伝子 (次ページ表) の検出と阻害剤を用いたディスク法 (次ページ図 A, B) を実施し、結果に矛盾がないことを確認する必要がある。

表. 腸内細菌科で報告のある主なカルバペネマーゼ遺伝子の種類

	Ambler の分類	遺伝子型	PCR検出用プライマー配列 (5'→3')	増副産物 サイズ 参考文献	阻害剤
メタロ-β- ラクタマーゼ	class B	IMP型	IMP-1型 F: ACCGCAGCAGAGTCTTTGCC R: ACAACCAGTTTTGCCTTACC	587bp 文献6	メルカプト酢酸 ナトリウム (SMA)、EDTA、 ジピコリン酸 (DPA)
			IMP-2型 F: GTTTTATGTGTATGCTTCC R: AGCCTGTTCCCATGTAC	678bp 文献6	
		NDM型	F: TTGCCAATATTATGCACCC R: ATTGGCATAAGTCGCAATCC	420bp 文献4	
		VIM型	VIM-2型 F: ATGTTCAAACCTTTTGAGTAAAG R: CTACTCAACGACTGAGCG	587bp 文献6	
セリン-β- ラクタマーゼ	class A	KPC型	F: ATGTCCTGTATCGCCGTCT R: TTTTCAGAGCCTTACTGCC	893bp 文献4	ポロン酸
	class D	OXA-48型	F: TTGGTGGCATCGATTATCGG R: GAGCACTCTTTTGTGATGGC	744bp 文献7	なし

カルバペネマーゼ遺伝子のうち日本ではIMP型メタロ-β-ラクタマーゼ遺伝子の報告が最も多い^{2,4)}。IMP型は、IMP-1のほかアミノ酸配列の異なる40種以上の亜型が報告されており、日本に多いIMP-1やIMP-6はいずれも、表に記載したIMP-1型プライマーを使用して検出可能である。IMP-1とIMP-6の違いは1アミノ酸変異をもたらす1塩基のみであり、その型別にはシーケンス解析が必要となる。NDM型、KPC型、OXA-48型は海外での報告は多いが、日本では多くが輸入例である⁵⁾。海外での医療受診歴のある患者から分離された株はこれらの遺伝子型の可能性も念頭に検査する。

ディスク法は、表に示した各種カルバペネマーゼの阻害剤を使用して実施する。図Aは、ポロン酸を用いたKPC型カルバペネマーゼ産生株の検出例である。イミペネム (IPM)、メロペネム (MEPM) ディスクに3-アミノフェニルポロン酸 (APB) 添加で阻止円径の拡張を認めた場合、陽性と判定する。留意点として、3-アミノフェニルポロン酸はAmpC β-ラクタマーゼも阻害するため、KPC型の産生確認は、カルバペネム系の抗菌薬ディスクを用い、併せてPCR法でKPC型遺伝子の検出を確認する。図Bは、メルカプト酢酸ナトリウム (SMA) を用いたIMP型メタロ-β-ラクタマーゼ産生株の検出例である。抗菌薬ディスクとSMAディスクの中心を結ぶ線 (図B点線) に対して垂直方向 (図B矢印方向) の阻止円径拡張がいずれか1薬剤でも認められるものを陽性と判定する。点線に対して平行方向のみの拡張はメタロ-β-ラクタマーゼ非産生株の場合が多いため、判定の際は拡張方向に留意する。また、遺伝子型によってSMAの阻害効果に違いがあり、IMP型は図のような明確な拡張が認められるが、NDM型は拡張がやや弱いため、PCR法の結果と併せて確認する。OXA-48型の明確な阻害剤は報告されておらず、図A、Bいずれのディスク法も陰性となるため、PCR法による遺伝子検出結果から判定する。

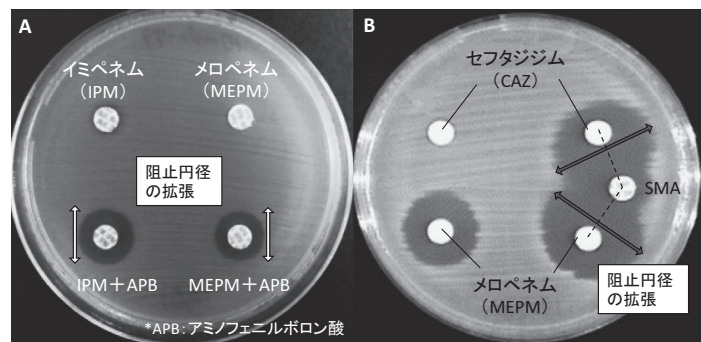


図. ディスク法によるカルバペネマーゼ産生の検出例

A: 3-アミノフェニルポロン酸を用いたKPC型カルバペネマーゼ産生株の検出例

B: メルカプト酢酸ナトリウム (SMA) ディスクを用いたIMP型メタロ-β-ラクタマーゼ産生株の検出例

カルバペネマーゼ遺伝子は、表に示した以外に GES 型, IMI 型, SME 型, GIM 型, SMB 型などが報告されている。また、カルバペネマーゼ産生以外のカルバペネム耐性機構として、外膜タンパクの欠損や変異による薬剤透過性の低下と AmpC β-ラクタマーゼ産生の相乗効果なども報告されている。表に示した主な遺伝子型が検出されない株は、その他のカルバペネマーゼ型産生あるいはカルバペネマーゼ産生以外の機構の可能性が考えられる。また、カルバペネマーゼ産生株の検出法として、本稿で紹介した以外にも各種阻害剤を含むディスクやEtest等、様々な検査方法が提唱されている。それぞれの方法の特性を確認して使用することが必要である。

参考文献

- 1) IASR 35: 156-157, 2014
- 2) Yano H, *et al.*, Antimicrob Agents Chemother 56: 4554-4555, 2012
- 3) Neuwirth C, *et al.*, J Antimicrob Chemother 36: 335-342, 1995
- 4) 厚生労働科学研究費補助金「新型薬剤耐性菌等に関する研究」平成22年度研究報告書 p22-27
http://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekaku-kansenshou19/cyousa_kekka_110121.html
- 5) IASR 34: 238-239, 2013

- 6) Shibata N, *et al.*, J Clin Microbiol 41: 5407-5413, 2003
 7) Poirel L, *et al.*, Antimicrob Agents Chemother 48: 15-22, 2004

国立感染症研究所細菌第二部

松井真理 鈴木里和 鈴木仁人
 筒井敦子 柴山恵吾

<特集関連情報>

外来型カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌の検出状況

カルバペネム耐性腸内細菌科細菌のうち、カルバペネマーゼ産生菌は、多剤耐性傾向が強いことから臨床的に問題となりやすい。さらに、IMP型、VIM型、NDM型、KPC型、およびOXA-48型の5種類のカルバペネマーゼ産生菌は、分離頻度が高く、院内感染事例の報告も多いため、特にその蔓延が警戒されている。この5種類のカルバペネマーゼ産生菌それぞれの分離頻度は国により大きく異なる。わが国では、国内感染例のほとんどがIMP型カルバペネマーゼ産生菌である。一方、海外で感染したと思われる患者からはNDM型、KPC型、OXA-48型カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌が分離されることが多く、これらは外来型カルバペネマーゼといえる。

2010年～2014年11月までに、国立感染症研究所細菌第二部には、46株の外来型カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌が送付された(表)。カルバペネマーゼの型別にみると、NDM型が16施設より25株、KPC型が4施設より15株、OXA-48型が2施設より6株送付され、菌種は *Klebsiella pneumoniae* が31株と最も多く、次いで *Escherichia coli* の13株であった。これらの株が分離された症例のほとんどに海外渡航歴、特に、海外の医療機関受診歴があった。渡航先のほとんどはアジア諸国であるが、KPC型カルバペネマーゼのみ北米があげられている。1名の患者より複数菌株あるいは複数菌種が分離された例がほとんどで、医療機関における明らかな二次感染は認めなかった。

NDM型カルバペネマーゼ産生菌は最初インドで分離され、その後、インド周辺を中心としたアジア諸国に広まった。KPC型カルバペネマーゼ産生菌は最初アメリカで分離され、現在はアメリカ・カナダの他、中国でも拡散している。OXA-48型カルバペネマーゼ産生菌は最初トルコで分離されたが、その後、ヨーロッパ各国およびインドなどアジア諸国に広まっている¹⁾。外来型カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌が分離された症例は、渡航先の医療機関受診時に、それぞれの国で拡散している型のカルバペネマーゼ産生菌を院内感染という形で獲得した可能性が高い。

一方、これまでに当部が解析を実施した46株の中には、渡航歴のない患者から分離されたNDM型およびOXA-48型カルバペネマーゼ産生菌も含まれている。渡航歴の無い外来型カルバペネマーゼ産生菌分離患者は、いずれも国内の医療機関に複数回の入院歴がある高齢者だった。家族や、同じ医療機関の入院患者に海外渡航歴が確認された人はなく、また、周辺の医療機関からの分離報告もなかった。外来型カルバペネマーゼ産生菌を患者がどのように獲得したかは不明であるが、国内例であっても分離される可能性があることに留意する必要があると思われる。

NDM型、OXA-48型カルバペネマーゼ産生菌はカルバペネム系抗菌薬に明らかな耐性を示さないことがある。次ページ図にNDM型、OXA-48型カルバペネマーゼ産生菌24株のイミペネムおよびメロペネムの最小発育阻止濃度(MIC)の分布を示す。NDM型カルバペネマーゼ産生菌では、すべて4 μ g/ml以上ではあるものの、イミペネムのMICがメロペネムよりも低い傾向がみられた。一方、OXA-48型では1 μ g/ml以下の株があり、感染症法の届出基準である2 μ g/ml以上に該当しない株もあった。OXA-48型カルバペネマーゼ産生菌の拡散が問題となっている欧州では、イミペネム、メロペネムのMICが0.12 μ g/ml以上をスクリーニング対象菌の基準としており、また薬剤としてはイミペネムよりもメロペネムを推奨している²⁾。

2008年にインドでの分離が初めて報告されたNDM型カルバペネマーゼ産生菌は、わずか数年のうちに世

表. 国立感染症研究所細菌第二部に送付された外来型カルバペネマーゼ産生腸内細菌科細菌 (2010年～2014年11月)

カルバペネマーゼ型	送付施設数	菌種 (株数)	海外渡航先
NDM 型	16	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (12) <i>Escherichia coli</i> (13)	インド、インドネシア、 バングラデシュ、 スリランカ、中国、 ベトナム
KPC 型	4	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (13) <i>Citrobacter freundii</i> (1) <i>Morganella morganii</i> (1)	北米、中国、インド
OXA-48 型	2	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (6)	インド

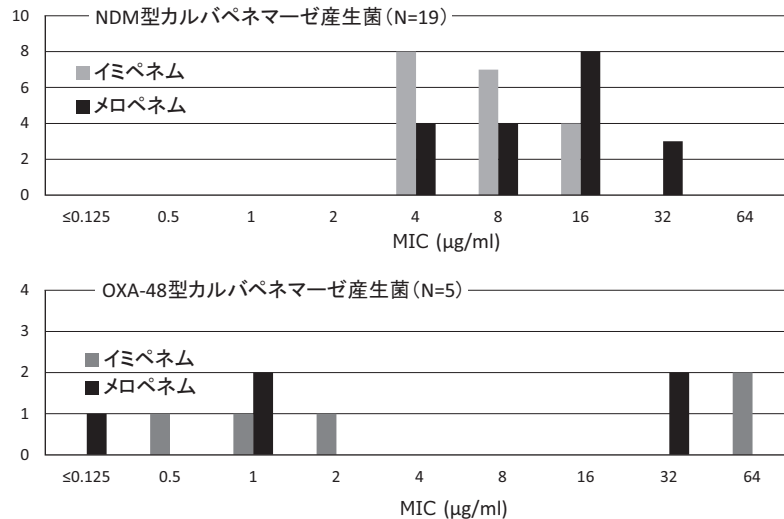


図. NDM型、OXA型カルバペネマーゼ産生菌におけるイミペネム、メロペネムの最小発育阻止濃度(MIC)分布

界各地に拡散し、いくつかの国では定着した。これらの外来型カルバペネマーゼ産生菌が日本の医療環境に定着しないよう、特に海外の医療機関受診歴のある患者に対しては、適切な院内感染対策と検査の実施が必要と思われる。

参考文献

- 1) Nordmann, *et al.*, Clin Microbiol Infect 20: 821–830, 2004
- 2) EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance, Version 1.0 December 2013

国立感染症研究所細菌第二部

鈴木里和 松井真理 鈴木仁人 柴山恵吾

<特集関連情報>

感染症法に基づくカルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症の届出状況

平成26(2014)年9月19日の感染症法施行規則改正により、カルバペネム耐性腸内細菌科細菌(CRE)感染症が5類全数把握疾患に追加された。これにより2014年第38週～第44週現在までに、29都道府県より113例の届出があった。届出は東京都からが22例と最も多く、次いで大阪府19例、福岡県と愛知県がいずれも7例だった。

性別は男性66例、女性47例と男性が多かった。診断時年齢は0～97歳までと幅広かったが、65歳以上の高齢者が88例と、全体の78%を占めていた(本号2ページ図参照)。

感染症の種類では、尿路感染症が39例と最も多く、次いで菌血症・敗血症が22例、肺炎21例、胆嚢炎・胆管炎18例、腹膜炎8例、腸炎2例、髄膜炎1例、その他

が22例だった。その他では、術後創部感染などの皮膚・軟部組織感染症が8例あった。なお、これらの集計には尿路感染症と菌血症・敗血症など、複数の感染症として報告していた症例が17例含まれていた。

CRE感染症の届出には、通常無菌的であるべき検体から腸内細菌科細菌が分離・同定され、かつカルバペネム系薬剤および広域β-ラクタム剤に対して耐性であることの確認、また、通常無菌的でない検体の場合は、さらに分離菌が感染症の起原菌と判定されることが必要な検査所見とされている。届出113例のうち47例は、血液検体、腹水、髄液等、通常無菌的とされる検体からCREが分離されており、中でも血液検体が27例で最も多かった。一方、66例では喀痰や尿など、通常は無菌的ではない検体からCREが分離されており、最も多いのが尿の32例、次いで喀痰の17例だった。また、届出基準では分離菌の薬剤耐性の確認方法として、メロペネムに耐性であること、またはイミペネムとセフメタゾール両薬剤に耐性であることの2通りが定められている。113例のうち、31例はメロペネム耐性、41例はイミペネムとセフメタゾール耐性、39例は両方により薬剤耐性を確認していた。2例については確認方法は不明だった。

113例のうち、105例は菌種名が報告されていた。*Enterobacter cloacae*が最も多く34例、次いで*Enterobacter aerogenes*の22例だった。1例のみ報告されていた*Enterobacter asburiae*を含めると、菌種が報告された症例のうち54%を*Enterobacter*属が占めていた。*Enterobacter*属以外の菌種としては、*Escherichia coli* 19例、*Klebsiella pneumoniae* 15例、*Citrobacter*属5例だった。その他、2例もしくは1例のみ報告された菌種は、*Klebsiella oxytoca*、*Morganella morganii*、*Serratia marcescens*、*Proteus mirabilis*、*Providencia rettgeri*だった。また*E. coli*と*S. marcescens*の2菌種

が分離された症例が1例あった。

感染地域・感染経路として、113例のうち109例は国内での感染と報告されていた。感染地域が国外と推定された症例が1例あった。感染経路については、医療器具関連感染や手術部位感染など、医療関連感染が推定される症例が23例あった。CRE対策には、医療機関での院内感染対策が重要であることを改めて示すものと考えられる。

CREは、バンコマイシン耐性腸球菌 (VRE) や薬剤耐性アシネトバクター (MDRA) と比べると、国内の医療機関では分離される頻度が高い薬剤耐性菌である。平成26 (2014) 年9月に届出対象にされてから毎週10~30例報告されているので、1年間では1,000例程度の届出が予測される。一方、CRE感染症同様、5類全数把握疾患であるVRE感染症の届出数は毎週数例程度で、年間約100例である。MDRA感染症は平成26年9月19日に5類定点把握疾患から5類全数把握疾患に変更された。しかし、CRE感染症が113例報告されたのと同じ期間におけるMDRA感染症の届出数は7例のみである。臨床現場や臨床検体の細菌検査を実施している衛生検査所においては、今後も菌種同定や薬剤感受性試験を適切に実施し、CREを確実に検出していくことが求められる。

国立感染症研究所細菌第二部

鈴木里和 松井真理 鈴木仁人
筒井敦子 柴山恵吾

<特集関連情報>

プラスミド水平伝達が関与した院内感染事例

2013年5月、当院集中治療室 (ICU) 入院患者Aの尿検体から、イミペネム耐性の *Enterobacter aerogenes* が分離された。本菌株に対して、メルカプト酢酸ナトリウム (SMA) ディスク法によるメタロ-β-ラクタマーゼ (MBL) 産生のスクリーニング検査を実施したところ陽性であった。患者Aの入院期間は1年4カ月で、その期間中にMBL産生菌が検出されたことはなかったことから、院内でMBL産生菌を獲得した可能性が

示唆された。

さらに、患者AからのMBL産生菌の分離確認後直ちに関連病棟で保菌調査を実施したところ、スクリーニング陽性菌5株が、34名中4名の患者から検出された。5株は複数菌種にわたり、かつ患者Aから分離された菌種とも異なる菌種であったが、国内で分離される *Escherichia coli* や *Klebsiella pneumoniae* のイミペネム耐性率¹⁾は、それぞれ0.1%、0.2%と極めて低いことを考慮し、本事例は院内感染であると判断した。感染対策室と細菌室を中心に事例の収束に向けて感染対策を行ったため、その経緯と結果を報告する。

1. 保菌患者調査

2013年6月~2014年1月の間、関連病棟で保菌患者の調査を実施した。保菌調査でスクリーニング陽性菌と判定された菌株は、IMP-1型、IMP-2型、VIM-2型、およびNDM型についてPCR法による遺伝子解析を実施した。MBL遺伝子が検出された株をMPE (metallo-β-lactamase producing *Enterobacteriaceae*) と定義した。期間中、289名を対象に保菌調査が実施され、患者Aを含めて15名の患者 (患者A~O) から23株のMPEを検出した。菌種は5属7種にわたっていた。菌種と株数の内訳を表に示す。

2. 環境調査

保菌患者の入院病室の高頻度接触部分や処置に関連する水回り環境について、環境培養を実施した。4回にわたり延べ57カ所から採取した結果、注入器具洗浄ブラシ検体からのみスクリーニング陽性菌が2株分離された。菌種は、*Serratia marcescens* と *Kluyvera intermedia* であった。

3. 分離菌株の遺伝子解析

PCR法により患者由来23株と環境由来2株からIMP-1型MBL遺伝子が検出された。また、パルスフィールド・ゲル電気泳動法 (PFGE) によるタイピング解析に基づいて菌株の同一性を検討した。*S. marcescens* は、異なる4名の患者由来株と環境由来株は同一バンドパターンを示した。しかし、*S. marcescens* 以外は同一菌種であっても、バンドパターンは異なっていた。

さらに、患者A~Fの6名から検出された9株につ

表. 患者Aと関連病棟の保菌調査で検出されたMPE (metallo-β-lactamase producing *Enterobacteriaceae*) の菌種の内訳と菌株数

	患者A (初発例)	患者A分離直後 保菌調査	2013年6月~2014年1月 保菌調査	計
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	—	2	4
<i>Enterobacter cloacae</i>	—	—	2	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1	2	3	6
<i>Klebsiella oxytoca</i>	—	1	3	4
<i>Serratia marcescens</i>	—	1	3	4
<i>Escherichia coli</i>	—	1	1	2
<i>Citrobacter freundii</i>	1	—	—	1
計	4	5	14	23

いて、次世代シーケンサーを用いたプラスミドの全塩基配列解析により MBL 遺伝子を保有するプラスミドの同一性を検討した。IMP-1 型 MBL 遺伝子を保有するプラスミドは、すべて Inc L/M に属していた。さらに、患者 B, C, D, E, F 分離株の Inc L/M プラスミド配列は、全長にわたって一致していた。患者 A から分離された 3 株の Inc L/M プラスミドは、ヒ素耐性遺伝子群が挿入されていたが、それ以外は患者 B~F 分離株の Inc L/M プラスミド配列に一致していた。プラスミド上の MBL 遺伝子は、*bla_{IMP-1}* の遺伝子配列と 100% 一致していた。遺伝子解析の結果から、本事例は、同一のプラスミドが複数の菌種に水平伝達したことによる院内感染であることが明らかとなった。

4. 感染防止対策

標準予防策、接触感染対策の強化とともに環境整備を徹底した。環境培養の結果を受けて、注入器具洗浄ブラシの使用を取りやめ、注入器具をディスポーザブル化した。以後、継続的な新規 MBL 産生菌陽性者の検出は認めなくなった。

5. 考察

薬剤耐性遺伝子がプラスミドによって媒介される MBL 産生菌の場合には、短期間に同一病棟での検出であれば、たとえ複数菌種の検出でも院内伝播を疑うことが重要であると思われる。患者 A 検出時に、関連病棟入院患者の保菌調査に踏み切ったことが、院内伝播の全容を明らかにするとともに院内感染の終息に繋がった事例であった。

参考

1) <http://www.nih-janis.jp>

福岡市立こども病院

安部朋子 永田由美 青木知信

国立感染症研究所細菌第二部

松井真理 鈴木里和 柴山恵吾

国立感染症研究所病原体ゲノム解析研究センター

関塚剛史 山下明史 黒田 誠

<特集関連情報>

大阪市内大規模病院におけるカルバペネム耐性腸内細菌科細菌の長期間にわたる院内伝播

2010年7月に国立病院機構大阪医療センターにおいてカルバペネムを含む複数の抗菌薬に耐性を示すメタロ-β-ラクタマーゼ (metallo-β-lactamase: MBL) 産生腸内細菌科細菌 (MBL-Ent) の *Klebsiella pneumoniae* が分離され、その後も複数の診療科、病棟、種々の検体から複数菌種の MBL-Ent が分離された¹⁾。病院の対策にもかかわらず新規症例の発生が続いたため、報告を受けた大阪市保健所が国立感染症研究所 (感染症研) とともに2014年2月21日より実地疫学調査を行った。

調査対象を直近症例に絞り、症例定義を「大阪医療

センターに2013年7月1日~2014年3月15日の期間に入院しており、入院中に採取された検体から、MBL産生をディスク拡散法で確認した MBL-Ent が分離された患者」と定めたところ、計29症例が確認された。性別は男性が20例 (69%)、年齢の中央値は76歳 (範囲: 28~88歳) であった。MBL-Ent としては、*Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes* の5菌種が検出された。検体採取時の主な診療科は外科15例 (52%)、脳外科4例 (14%) 等であり、分離検体は腹部創・ドレーン12例 (41%)、尿9例 (31%) 等であった。20例 (69%) が手術を受けており、入院後比較的長期間 (中央値22日) を経て MBL-Ent が検出されていた。疫学的リンクを「当該症例で MBL-Ent が分離された培養施行前に同一菌種の MBL-Ent 分離症例と1日以上と同病棟滞在歴があること」とした場合、18症例 (62%) で疫学的リンクを認め、その多くは外科症例であった。29症例のうち、調査時に解析可能であった25症例27菌株が感染研細菌第二部で解析された。27菌種の内訳は、*E. coli* が9株と最も多く、次いで *K. oxytoca* 8株、*E. cloacae* 7株、*K. pneumoniae* 3株であった。パルスフィールド・ゲル電気泳動法 (Pulsed-field gel electrophoresis: PFGE) によるタイピングでは、*K. oxytoca* 8株、*E. coli* 2株、*E. cloacae* 2株ではそれぞれのバンドパターンが同一または類似の菌株であり、同一の遺伝的背景を持つ株であることが示唆された。また、調査時に解析可能であった17症例18菌株のプラスミドの全塩基配列解析を実施したところ、菌種や PFGE のパターンが一致しない菌株においても、IMP-6 MBL 遺伝子を保有し、それ以外の遺伝子構造も共通のプラスミドを保持していた。院内視察では全病棟でドレーン・胃管排液、尿の回収に用いられていたプラスチック製容器が、洗浄消毒が不十分なまま複数の患者で共有されていた。また、ガーゼ交換等の外科処置における手指衛生は十分でなかった。

症例は外科と脳外科に集中しており、特に外科では術後の腹部創・ドレーン検体からの MBL-Ent 分離が多数であったため、「外科患者では、手術または術前・術後管理における医療行為を介して、腹部創やドレーン周辺に MBL-Ent を獲得した」という仮説を立て、症例対照研究を行った。症例は外科で手術を受け症例定義の期間に腹部創・ドレーン検体から MBL-Ent が新規に検出された入院患者とした。対照は外科で手術を受け、同期間に腹部創・ドレーン検体から MBL-Ent 以外の腸内細菌科細菌が検出され、かつ他の部位も含め MBL-Ent が検出されなかったものとした。症例対照比は1:2とした。その結果、症例13例、対照24例が該当し、両群では年齢、性別、観察期間に差を認めなかった。腹部創・ドレーン検体での MBL-Ent 獲得と関連していたのは、臍頭十二指腸切除術、透視

表. 腹部創・ドレーン検体でのメタロ-β-ラクタマーゼ産生菌獲得リスク

リスク因子	症例 n=13	(%)	中央値 (範囲)	対照 n=24	(%)	中央値 (範囲)	オッズ比	95%信頼区間	p
年齢 (歳)			72(52-88)			71(46-89)			0.92
性 (男)	10	(77)		15	(63)		2	0.4 9.3	0.48
ASAスコア			2(1-3)			2(2-3)			0.2
糖尿病	1	(8)		2	(8)		0.9	0.1 11.2	1.00
プロトンポンプ阻害剤使用	10	(77)		19	(80)		0.9	0.2 4.4	1.00
6か月以内の内視鏡検査	10	(77)		16	(67)		1.7	0.4 7.8	0.7
症例との同室歴	7	(54)		10	(42)		1.6	0.4 6.4	0.52
集中治療室 (ICU) 入室	10	(77)		16	(67)		1.7	0.4 7.8	0.71
ICU入室期間 (日数)			2(0-76)			1(0-16)			0.58
臍頭十二指腸切除	7	(54)		4	(17)		5.8	1.2 27.0	0.03
手術部位感染症	13	(100)		19	(80)		—	—	0.14
創洗浄	6	(46)		7	(29)		2.1	0.5 8.5	0.47
手術時ドレーン挿入本数			2(0-5)			2(0-4)			0.38
ドレーン入れ替え回数(日数)			2(0-8)			0.5(0-6)			0.79
透視室でのドレーン入れ替え	13	(100)		13	(54)		—	—	<0.01
腹腔吸引・洗浄	11	(85)		10	(42)		7.7	1.4 42.6	0.02
動脈ライン	13	(100)		19	(80)		—	—	0.14
中心静脈ライン	11	(85)		15	(63)		3.3	0.6 18.4	0.26
腸瘻造設・使用	8	(62)		5	(21)		6.1	1.4 27.0	0.03
人工肛門	1	(8)		10	(42)		0.1	<0.1 1.0	0.06
経管栄養	7	(54)		8	(33)		2.3	0.6 9.3	0.30
カルバペネム使用	3	(23)		10	(42)		0.4	0.1 1.9	0.31
培養回数			7(1-10)			7.5(1-23)			0.38
観察期間 (日数)			20(4-244)			17(2-88)			0.77

ASA: American Society of Anesthesiology 米国麻酔科学会

室でのドレーン入れ替え, 腹腔吸引・洗浄, 腸瘻造設・使用であった (表)。

これらの結果を受けて外科では, ①便を中心とした入退院時監視培養, ②MBL-Ent 分離症例のコホーティング, ③透視室でのドレーン交換処置の見直しと標準予防策の徹底, ④外科ガーゼ交換マニュアルの整備と標準予防策の徹底, ⑤外部専門家による外科処置の視察, 等が行われた。他の対策として, 全病棟でドレーン排液や尿の回収容器の単回使用化, 入院患者一斉スクリーニングとその後の一部病棟での強化スクリーニング, 院内外への情報提供, 入院患者の尿量測定適応の見直し等が行われた。現在, このような諸種の改善策の実施による院内感染対策の効果について, 外部調査委員会による監視と評価が継続して行われている。

本事例は高度医療を担う大規模病院において数年間続いている, IMP-6 MBL 遺伝子を持つ複数菌種のカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (CRE) による院内感染事例である。IMP-6 MBL 遺伝子を持つ耐性菌は過去に国内で報告されているが^{2,3)}, ①検査上イミペネムに耐性を示さず検出されにくいこと, ②プラスミド上の耐性遺伝子が菌種を超えて水平伝達することから, CRE の中でも特にアウトブレイク探知が困難である。大阪医療センターでの伝播防止対策とともに, 国内でのIMP-6 MBL 遺伝子を持つ菌の分離状況を監視し, その伝播を防止していくことが重要である。

参考文献

- 1) 吉川耕平, 他, 日本臨床微生物学会誌 24 (1): 9-16, 2014
- 2) Yano H, et al., Antimicrob Agents Chemother 45 (5): 1343-1348, 2001
- 3) Shigemoto N, et al., Diagn Microbiol Infect Dis

72 (1): 109-112, 2012

国立感染症研究所感染症疫学センター

山岸拓也 松井珠乃 大石和徳

同 実地疫学専門家養成コース

伊東宏明 福住宗久

同 細菌第二部

松井真理 鈴木里和 柴山恵吾

同 病原体ゲノム解析研究センター

関塚剛史 山下明史 黒田 誠

大阪市保健所

吉田英樹 廣川秀徹 坂本徳裕 伯井紀隆

奥町彰礼 津田侑子 松生誠子 半羽宏之

松本健二 今井龍也 中山浩二 谷 和夫

吉村高尚

大阪市健康局 甲田伸一

国立病院機構大阪医療センター

上平朝子 谷口美由紀 小川吉彦

宮本敦史 中森正二 多和昭雄

大阪大学医学部付属病院感染制御部

朝野和典

<国内情報>

わが国で分離されるアシネトバクター属菌の分子疫学解析

アシネトバクター属菌は, 2000年頃から各国で急速に薬剤耐性化が進んでいる。アシネトバクター属には30以上の菌種があるが, 感染症の原因菌としては *Acinetobacter baumannii* が最も多い。 *A. baumannii* には, 特に多剤耐性のことが多く, また, 院内感染を起こしやすい流行型 International clone II (以下 IC II)

表. 各抗菌薬に対する耐性株の割合

	<i>A. baumannii</i> IC II (IC II) [n=245]	IC II 以外の <i>A. baumannii</i> および <i>A. baumannii</i> 以外のアシネトバクター属 (non-IC II) [n=621]
ピペラシリン/タゾバクタム	24.5 %	0.8 %
アンピシリン/スルバクタム	8.2 %	0.0 %
セフトジジム	69.8 %	1.6 %
セフェピム	48.2 %	2.6 %
イミペネム	3.7 %	0.6 %
メロペネム	3.7 %	0.8 %
ゲンタマイシン	51.0 %	4.8 %
アミカシン	24.5 %	0.0 %
レボフロキサシン	87.8 %	9.3 %
シプロフロキサシン	100 %	18.4 %
ミノサイクリン	13.5 %	0.0 %
スルバクタム/セフォペラゾン	0.0 %	0.0 %
コリスチン	0.0 %	0.8 %
ポリミキシン B	0.0 %	0.3 %

耐性の判定基準は、CLSI M100-S23⁶⁾に準拠した。ただしスルバクタム/セフォペラゾンは判定基準が定められていないため、MIC \geq 64 μ g/mlを耐性とした。

がある¹⁾。我々は国内の医療機関からアシネトバクター属菌を収集し、IC IIの占める割合や薬剤耐性との関連を調べた。

国立病院機構86施設の協力を得て、平成23(2011)年10月～翌平成24(2012)年3月に臨床検体より分離されたすべてのアシネトバクター属菌を収集した。菌種の同定は *rpoB* シークエンス解析²⁾、IC IIの判定は、*bla*_{OXA-51-like} 遺伝子のSNP解析³⁾にて実施した。薬剤感受性は、微量液体希釈法で測定した。

対象菌株が分離された78施設より998株が送付され、当研究所で発育を認めた932株の菌種同定を行った結果、866株がアシネトバクター属菌と同定された。菌種内訳は、*A. baumannii*が645株(74.5%)と最も多く、次いで *Acinetobacter nosocomialis* 84株(9.7%)、*Acinetobacter pittii* 60株(6.9%)だった。*A. baumannii*のIC IIは245株で、アシネトバクター属菌全体の28%を占めた。IC IIが分離された医療機関は78施設のうち36施設(46%)だった。

IC II 245株とそれ以外の621株(IC II以外の *A. baumannii* と *A. baumannii* 以外のアシネトバクター属菌; 以下 non-IC II)、それぞれにおいて各抗菌薬に対する耐性株の割合を表に示す。特に問題とされるカルバペネム系薬剤に耐性を示す株の割合は、IC IIではイミペネム、メロペネムともに3.7%だったのに対して、non-IC IIではイミペネム0.6%、メロペネム0.8%だった。他の9薬剤においても、IC IIはnon-IC IIに比べて耐性株の割合が高く、特にシプロフロキサシンに対してはすべてのIC IIが耐性であり、IC IIの特徴のひとつと考えられた。わが国では、カルバペネム系、フルオロキノロン系、アミカシンの3系統の薬剤に耐性

を示す株を多剤耐性株と定義することが多い。今回の解析では、多剤耐性株は2株(アシネトバクター属菌の0.2%)のみで、いずれもIC IIだった。2剤耐性株は70株(8.1%)だった。そのうち58株はカルバペネムには感性であるが、フルオロキノロン系とアミカシンに耐性を示す株であり、すべてIC IIだった。12株は、アミカシンに感性、フルオロキノロン系とカルバペネム系に耐性を示す株で、そのうち7株がIC IIだった。

これまで、アシネトバクター属の解析は多剤耐性株やカルバペネム耐性株を対象としたものが中心で、これらの耐性株の多くがIC IIだった⁴⁾。しかし、感性株の中にIC IIがどの程度存在するかについての研究はほとんどなされていなかった。今回、感性株も含めた解析により、ほとんどのIC IIはカルバペネムに感性であり、耐性株の割合は3.7%のみであることが明らかになった。

わが国は海外に比べて多剤耐性アシネトバクターの分離率が極めて低いことから⁵⁾、我々はIC IIの分離率も低いと推測していた。しかし、今回の解析ではIC IIはアシネトバクター属全体の28%を占め、研究協力医療機関の46%で分離されており、既に国内の医療機関にIC IIが広まっていることが懸念される。IC IIはカルバペネム系抗菌薬に感性であっても、non-IC IIに比べて多くの薬剤に対して耐性率が高く、多剤耐性株となるリスクは高いと考えられる。分離されたアシネトバクター属菌がIC IIか否かを調べるには遺伝子解析が必要となるが、シプロフロキサシン耐性のアシネトバクター属菌が分離された場合はIC IIの可能性を考慮し、多剤耐性株の出現により注意が必要と考えられる。なお、分離菌の遺伝子等の解析に関する相談は、

国立感染症研究所細菌第二部 (taiseikin(アットマーク)nih.go.jp)で受け付けている。

謝辞: 今回の研究には多くの国立病院機構の医療機関にご協力いただきました。深く感謝いたします。

参考文献

- 1) Diancourt L, *et al.*, PLoS One 5, e10034, 2010
- 2) La Scola B, *et al.*, J Clin Microbiol 44: 827-832, 2006
- 3) Matsui M, *et al.*, J Microbiol Methods 94: 121-124, 2013
- 4) Karah N, *et al.*, Drug Resist Updates 15: 237-247, 2012
- 5) 厚生労働省院内感染対策サーベイランス事業 (JANIS) 検査部門公開情報
<http://www.nih-janis.jp/report/kensa.html>
- 6) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-S23, 2013

国立感染症研究所細菌第二部

松井真理 鈴木里和 鈴木仁人 柴山恵吾
愛知県衛生研究所 鈴木匡弘
秋田県健康環境センター 八柳 潤
富山県衛生研究所 綿引正則
国立病院機構熊本医療センター
平木洋一 河野文夫

<国内情報>

大阪府下における小児リステリア髄膜炎の1例

2013年11月に大阪府下において、小児リステリア髄膜炎の症例を経験したので、その概要をここに報告する。

症例は1歳1か月男児、生来健康で予防接種はHibワクチン3回、肺炎球菌ワクチン4回接種済みであった。第1病日より、39°Cの発熱、その晩22時に2～3分の全身性の間代性痙攣を認め、当院時間外に救急搬送された。受診時には意識清明であり、神経学的所見、血液検査上も特に異常なく、経過より熱性痙攣と診断し、ジアゼパム (DZP) 4mgを投薬し経過観察、帰宅となった。その後も39°Cの発熱が持続、軟便が出現したため、第3病日に時間外再診。咽頭アデノウイルス、溶連菌迅速抗原検査で陰性。水分摂取良好のため、突発性発疹、普通感冒などを疑いアセトアミノフェン坐薬、乳酸菌製剤を追加処方して経過観察となった。

その後も40°Cの発熱が持続し、第5病日に近医小児科を受診、便アデノウイルス検査陽性。尿量減少があり、当科紹介受診となった。血液検査所見で、WBC 10,500/ μ l (Neut 76%), CRP 6.93mg/dlを認め、またNa 129mEq/l, K 2.6mEq/lと低値を認めたため、アデノウイルス性腸炎による脱水、抗利尿ホルモン分泌不全症候群 (SIADH) と判断して第5病日入院となった。

入院同日より痙攣様運動を認めた。これまでの経過から胃腸炎関連痙攣を疑い、カルバマゼピン (CBZ) 50mgの経口投与を行った。その後、痙攣様運動は落ち着き、意識も清明となった。しかし、19時ごろより再度痙攣様運動を認め、鎮静目的にフェノバルビタール (PB) 15mg/kgの投与を行った。その後も痙攣様運動が持続するため、PB 10mg/kg/dayを開始、脳波検査、髄液検査、頭部CTを施行となった。脳波では、高振幅の徐波も認めるものの、正常な基礎波も認め、また、てんかん発作波は認めなかった。頭部CTでも、明らかな出血の所見なく、また、浮腫を疑わせる所見は認めなかった。髄液検査では、単核球優位の細胞上昇を認め、糖の低下、蛋白の上昇も認めた。よって細菌性髄膜炎を疑い、デキサメサゾンを開始、抗菌薬はセフトキシム (CTX)、メロペネム (MEPM)、また、ヘルペス脳炎の可能性も考えアシクロビル (ACV) を開始となった。また、ガンマグロブリン投与、マンニトール投与も開始となった。第6病日午後には第5病日における髄液検体のグラム染色によりグラム陽性桿菌が検出され、リステリア菌を疑い、アンピシリン (ABPC) 400mg/kg/day開始となった。その後の血圧が不安定となり、ICU入室、脳波上も高振幅徐波を認めていたため、高次医療機関に転院となった。

転院後、MEPM、CTXを中止し、ゲンタマイシン (GM) 30mg/kg/day+セフトリアキソン (CTRX) 100mg/kg/dayを開始となった。呼吸状態は、モニター上問題なく経過したが、意識レベルの低下もあり、挿管され呼吸器管理となった。転院後第7病日の髄液検査では多核球優位の細胞数増加を認め、第8病日には起病菌が*Listeria monocytogenes*と確定したため、CTRX中止となった。その後、意識状態の改善も認め、第9病日に人工呼吸器から離脱、抜管以後神経症状も改善し、第36病日に退院となった。

リステリア属の中で病原性を有するものは*L. monocytogenes*のみであり、*L. monocytogenes*は人畜共通感染症を引き起こすグラム陽性桿菌で、主に1か月以下の新生児、妊婦、60歳以上の高齢者や細胞性免疫不全患者に髄膜炎、菌血症を引き起こす¹⁾。*L. monocytogenes*による髄膜炎は1958年に報告されて以降、年間80例程度報告されている。健常人でも一過性に発熱を伴う胃腸炎を発症することがあり、健常小児でも発症する例があるが、多くは髄膜炎として発症する。また、小児リステリア髄膜炎では下痢を認める例は21%程度であるとの報告もある²⁾。

多くは土壌、腐敗した植物、水、多くの哺乳動物の便など自然界に広く分布しており、生野菜、生乳、乳製品、生冷凍・加工肉などの15～70%に分離され、きわめて日常的に摂取される菌体である¹⁾。

本邦におけるリステリア症の罹患率は1.06～1.57/100万人で、その症例の3/4以上が高齢者であるが、乳児

以外の小児期発症例も散見される³⁾。帝京大学の報告では、化膿性髄膜炎のうち、6歳未満の乳幼児での髄膜炎の起因为で *L. monocytogenes* が原因であったものは1.4%との報告もある⁴⁾。

2009～2010年における小児細菌性髄膜炎の発生動向では、慶應義塾大学の調査によると、小児細菌性髄膜炎は314例であり、そのうち *L. monocytogenes* によるものは3例であった⁵⁾。この調査結果に関しては、肺炎球菌ワクチン、Hib ワクチン導入前の調査であり、また、本年の小児科学会誌には愛知県での単年度での4例報告もあり⁶⁾、従来まれであった *L. monocytogenes* による髄膜炎が増加傾向にあるとも考えられた。

参考文献

- 1) 感染症専門医テキスト 2011より改編
- 2) 多胡久美子, 他, 小児感染免疫 20: 8-14, 2008
- 3) 山根一和, 他, IASR 33: 247-248, 2012
- 4) 藤井良知, 他, 感染症学雑誌 60: 592-601, 2012
- 5) 新庄正宜, 他, 感染症学雑誌 85: 582-592, 2012
- 6) 波田野ちひろ, 他, 日本小児科学会雑誌 118: 661-664, 2014

PL病院小児科

藤田賢司 今村卓司 鶴原昭史
森田こころ 保科隆男 濱 浩隆
數田高生 花岡信太郎 秦 直樹
西村 章

同検査部 鈴木敏仁 火口友美

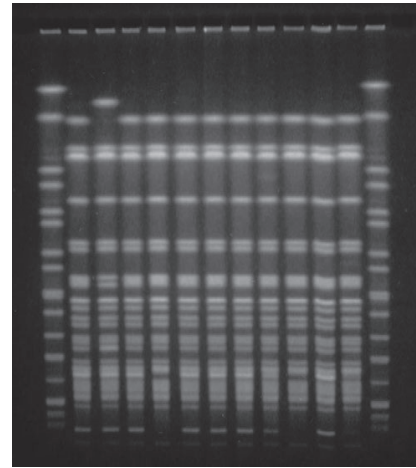
<国内情報>

飼育牛との接触が感染経路と推定された腸管出血性大腸菌O121感染事例 — 兵庫県

2014年5月に、兵庫県内の高校で牛の飼育に携わる生徒3名が下痢、血便等の症状を呈し、無症状保菌者を含む4名および飼育する子牛1頭から Vero 毒素 (VT) 2 陽性の腸管出血性大腸菌 (EHEC) O121:H19 を検出した。牛との接触が感染経路と推定されたこの事例の概要を述べるとともに、検出された病原体の検査結果について報告する。

発生の概要

2014年5月2日、牛の飼育に携わっている生徒3名が下痢、血便、体調不良を訴え、うち1名が入院しているとの情報を学校医から探知し、調査を開始した。当該学校は肉牛を飼育しており、その飼育に携わる生徒6名、教職員2名のうち、生徒3名に下痢、血便などの症状があり、2名が入院（1名入院中、1名軽快退院）、1名が外来受診していたことがわかった。また、子牛1頭が下痢、血便の症状のため4月29日に獣医師の診察を受け、コクシジウム病と診断され、抗生物質クロルテトラサイクリン・抗菌剤スルフアジメトキシンの投与を受けていた。



M 1 2 3 4 牛 牛 2 3 4 牛 牛 M
半透明コロニー 赤色コロニー

1-4: 生徒由来株, 牛: 牛由来株,
M: *S. Braenderup* H9812, 制限酵素: Xba I

図. 分離菌株のPFGEパターン

有症者3名のうち医療機関で検査を行ったのは1名のみで、5月3日に EHEC O121 が検出され、EHEC 感染症の患者発生届が提出された。これを受けて、牛の飼育に携わる残りの生徒5名、教職員2名、および O121 が検出された生徒家族2名への検便検査を実施し、生徒3名から新たに O121 を検出した。また、「牛一ヒト感染」を疑い、下痢、血便の症状のあった子牛の直腸内容物を5月9日に採取して検査した結果、子牛からも O121 を検出した。

検出された EHEC O121 菌株の解析

生徒4名および子牛1頭から検出された O121 の菌株について、血清型・毒素型の精査およびパルスフィールド・ゲル電気泳動 (PFGE) 解析を実施した。O121 は既報¹⁾と同様に乳糖遅分解性の性質を呈し、分離培地 (マッコンキー寒天培地) 上で、乳糖非分解の半透明コロニーと乳糖分解の赤色コロニーが混在しているように確認された。そこで、両方のコロニーが分取できた場合は、両者について検査を実施した。その結果、すべて血清型は O121:H19 と同定され、VT2 の毒素遺伝子が PCR 法で確認できた。また、図に示した PFGE パターンでは、11コロニー中7コロニーが一致、4コロニーが1～2バンド違いの類似パターンとなり、すべてが同一由来株であると推定された。

感染原因と今後の対策

生徒および牛から検出された O121 の菌株が同一由来と推定されたことから、牛からの接触感染が強く示唆された。牛の飼育に携わる生徒は、時折、牛舎内で飲食をすることがあった。牛舎内での作業後、石鹸を使って手洗いはしたが不十分な面があり、手指消毒薬は使用していなかった。

生徒および教職員への感染防止を徹底するため、牛と接触した後の手洗い励行、下痢・血便等の症状があ

る牛と接触する時や汚物処理など危険な作業を行う時は、手袋、マスクを着用することなどを学校に指導した。

まとめ

今回の事例では、生徒および牛から検出されたEHEC O121のPFGEパターンがほぼ一致したことから、牛から人への感染であることが推定された。

牛等動物から人への感染が特定または疑われた症例は1996年以降12例報告され、直近では2012年2月に発生している²⁾。牛は人のEHEC感染症の感染源として重要であることから、牛と接触する者の感染防止の徹底および飼養者が牛の健康管理に気をつけることが感染予防に必要であると考えられる。

参考文献

- 1) 千葉市環境保健研究所, IASR 25: 302-303, 2004
- 2) 山口県環境保健センター, 他, IASR 33: 194-196, 2012

兵庫県立健康生活科学研究所

秋山由美 辻 英高 二井洋子 荻田堅一
三村昌司

兵庫県加古川健康福祉事務所

中村尚司 今井 史 井上貴世子
加藤眞奈美 高岡道雄

<国内情報>

エンテロウイルスD-68型が検出された小児・乳児の4症例 — 広島県

エンテロウイルス68型 (EV-D68) は、1962年に米国カリフォルニア州において初めて、気管支炎や肺炎の小児患者4名から分離されたウイルスであり、検出頻度が少ないことから、極めて稀な呼吸器感染症の原因ウイルスの一つであると考えられてきた¹⁾。わが国では、2005～2010年までは毎年数例のみであったが、2010年と2013年は100例を超えて報告されている (<https://nesid3g.mhlw.go.jp/Byogentai/Pdf/data60j.pdf> および <http://idsc.nih.gov/iasr/virus/graph/ev2-0110.pdf>)。広島県では、近年、4名の小児および乳幼児患者からEV-D68を検出しているため、それら症例の概要を報告する。

症例1: 10か月齢の男児。2010年9月24日に受診した小児科医院で渗出性扁桃炎と診断された。主治医は病因としてエンテロウイルス (EV) を疑っていた。同日、医院にて採取された鼻腔吸引液について、5種類の培養細胞 (BGM, HEp-2, RD-18S, Vero, FL) を用いたウイルス分離を実施したところ、Vero細胞でEV様のCPEを示すウイルスが分離された。分離ウイルスについては、EVとライノウイルスに共通で、5'NCRからVP2領域を増幅するプライマーセット (OL68-1, EVP4) と、EVのVP1領域を増幅するCODEHOP

PCR法により遺伝子を増幅し、増幅産物のダイレクトシーケンシング、BLASTによる同源性検索の結果から、分離ウイルスはEV-D68と同定された。なお、併せて実施した呼吸器系ウイルス (メタニューモウイルス、RSウイルス、パラインフルエンザウイルス、アデノウイルス、ボカウイルス) を対象とした遺伝子検査は、いずれも陰性であった。

症例2: 12歳1か月齢の男児。2010年11月1日に受診した小児科医院で気管支炎と診断され、病因としてマイコプラズマが疑われた。同日、医院にて採取された鼻腔吸引液についてウイルス分離を実施したところ、FL細胞でEV様のCPEを示すウイルスが分離された。分離ウイルスについては、OL68-1とEVP4プライマーセットによる遺伝子増幅と、増幅産物のダイレクトシーケンシング、BLASTによる同源性検索によりEV-D68と同定された。併せて実施した呼吸器系ウイルスおよびマイコプラズマ・ニューモニエを対象とした遺伝子検査は、いずれも陰性であった。

症例3: 5歳6か月齢の女児。2013年10月24日の夜に、腹痛と意識障害の主訴で、夜間救急病院に緊急入院した。患児は入院前日の23日から咳嗽、鼻汁が認められていた。入院当初は喘息の症状は認められなかったが、入院期間中に喘息発作と呼吸不全の症状が出現した。治療により、喘息発作の症状は改善したが、第9病日頃から両下肢にポリオ様の弛緩性麻痺が出現した (2014年10月現在も麻痺は改善していない)。入院翌日に採取された髄液と気管内吸引液についてウイルス分離を実施したところ、気管内吸引液を接種したFL細胞においてEV様のCPEを示すウイルスが分離された。分離ウイルスは、CODEHOP PCR法による遺伝子増幅と、増幅産物のダイレクトシーケンシング、BLASTによる同源性検索によりEV-D68と同定された。なお、髄液からウイルスは分離されなかった。

症例4: 2か月齢の男児。2013年11月2日に鼻汁と咳嗽を伴う無呼吸発作で総合病院に入院となった。入院時の血液、尿、髄液の臨床検査所見、頭部CT検査所見では有意な所見は認められなかったことから、感染症に伴う無呼吸発作が疑われた。入院翌日の11月3日に採取された咽頭ぬぐい液と髄液、11月5日に採取された便についてウイルス分離を実施したところ、咽頭ぬぐい液を接種したRD-18S, RD-A, Vero, FL細胞でウイルスが分離され、CODEHOP PCR法による遺伝子増幅と、増幅産物のダイレクトシーケンシング、BLASTによる同源性検索によりEV-D68と同定された。

EV-D68株の系統樹解析: 症例1, 3, 4についてはCODEHOP PCR法によりVP1遺伝子領域の一部を増幅したので、そのうちの343bp (症例3については346bp) についてMEGA5を用いて系統樹を作成した (次ページ図)。系統樹解析により、症例3から検出された株 (Case 3) は、2011～2012年にかけて、タイ²⁾,

中国, イタリア³⁾ で検出された株と同一のクラスターを形成し, 11~15塩基 (3.2~4.4%) 異なっていた。一方, 症例1 (Case 1) および症例4 (Case 4) から分離された株は, 症例3の株と53塩基 (15.6%) 異なっており, 別のクラスターを形成していた。

EV-D68は, 主として小児の急性呼吸器疾患の原因ウイルスの一つであり, 稀に重症の呼吸器疾患を起こすことが知られている⁴⁾。それに加えて, 米国カリフォルニア州で, 2012~2014年の間に, 前部脊髄炎を伴う弛緩性麻痺を発症した23名の小児患者のうち2名の上気道からEV-D68が検出されたことから, 弛緩性麻痺との因果関係が示唆されている⁵⁾。また, 現在, 米国国内ではEV-D68が小児の間で大きな流行を起こしており, コロラド州では神経症状を示す患者9名のうち4名からEV-D68が検出されている⁶⁾。また, ミズーリ州とイリノイ州では重症呼吸器疾患から高率にEV-D68が検出されている⁷⁾。今回, 我々が示した4症例のうち症例1, 2については, 急性呼吸器症状を示した軽症例であったが, 症例3, 4については入院を要する重症例であり, 特に症例3については, ポリオ様の麻痺症状を示した症例であった。日本ではEV-D68の大きな流行は起こっていないが, 米国国内の流行状況をみると, 今後の動向には注意が必要である。

参考文献

- 1) Ikeda T, *et al.*, Microbiol Immunol 56: 139-143, 2012
- 2) Prachayangprecha S, *et al.*, J Clin. Microbiol 52 (10): 3722-3730, 2014
- 3) Piralla A, *et al.*, J Med Virol 86 (9): 1590-1593, 2014
- 4) Rahamat-Langendoen J, *et al.*, J Clin Virol 52: 103-106, 2011
- 5) MMWR Weekly, October 10, 2014/63(40): 903-906
- 6) MMWR Weekly, October 10, 2014/63 (40): 901-902
- 7) IASR 35: 250, 2014

広島県立総合技術研究所保健環境センター

島津幸枝 久常有里 (現独立行政法人酒類総合研究所) 池田周平 東久保 靖 (現広島県健康福祉局食品生活衛生課) 谷澤由枝 重本直樹 高尾信一

独立行政法人国立病院機構呉医療センター小児科

米倉圭二 白石泰尚 (現広島市立舟入市民病院)

JA尾道総合病院小児科 谷 博雄

原小児科 原 三千丸

国立感染症研究所ウイルス第二部 吉田 弘

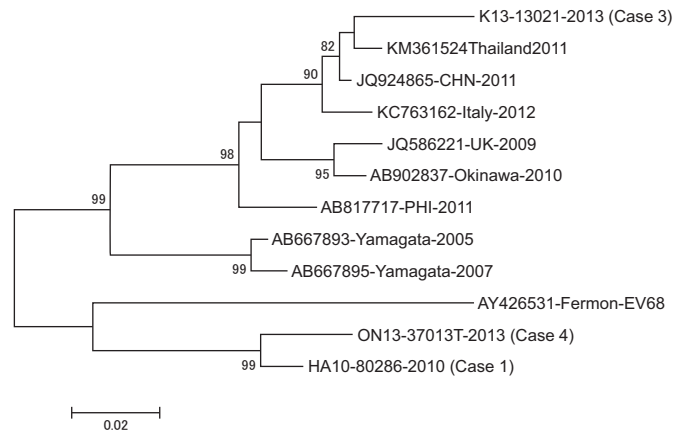


図. EV-D68のVP1遺伝子343bp(K13-13021-2003は346bp)の配列に基づく分子系統樹

<国内情報>

大阪府における麻疹流行状況—2014年前半—

大阪府では, 2014年1月1日~6月末までの半年間に発症し, その後感染症サーベイランスシステムに登録された麻疹症例は44例であった。これは2013年1年間の発生数15のほぼ3倍である。それらの症例について流行状況, 渡航歴の有無, 遺伝子型等について分析した。

対象

確定された44症例および集団発生事例で感染者の居住地が他府県であった1例を加えた45例を対象とした。散发例 (疫学的リンクがないか, 渡航歴はあるが1例で終わった症例) および初発例 (二次感染への発端者) をA群, 二次感染および三次感染者をB群として比較検討した。各群はそれぞれ23例と22例であった。

年齢分布 (図1)

45例の年代別分布では, 0~9歳が14例 (31%) [うち0歳7例 (16%), 1~4歳5例 (11%), 5~9歳2例 (4%)], 20~29歳が13例 (29%), 30~39歳8例 (18%)の順であった。A群では20~29歳が11例 (48%), B群では0~9歳が8例 (36%)と最も多く, 特にB群では0歳が6例 (27%)と多かった。

全体で見ると成人の患者が多かったが, A群は20歳以上, B群は20歳未満に多く, 年齢分布がA群とB群で大きく異なっていた。

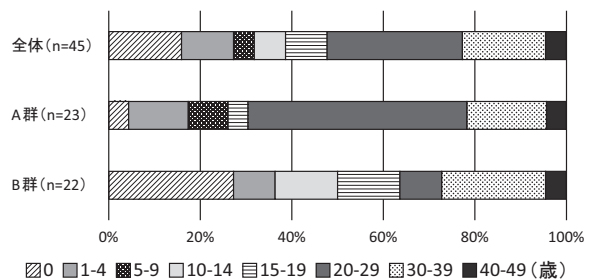


図1. 発症年齢

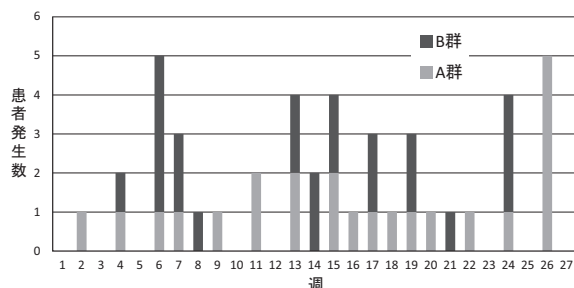


図2. 発症週別麻疹患者発生数

症状発症週別麻疹患者数 (図2)

症状発症週別麻疹患者数では第2～9週と第11～22週, 第24～26週で患者数の増加がみられた。

発症から届出までの期間 (表1)

A群ならびにB群の事例のうち, 発症から届出までの日数が判明した45例 (A群23例, B群22例) についてt検定を用いて比較検討を行った。A群とB群との間で有意差は認めなかった (A群: 8.4 ± 4.9 日, B群: 6.3 ± 4.0 日, $P=0.12$)。一方, 年齢別 (0～14歳・15～49歳) の検討では, 全例とA群では0～14歳の群は15～49歳の群に比べ有意に短かったが, B群では有意差は認めなかった。

流行状況および推定感染経路

A群23例〔散発例が15例, および初発例 (他への感染が判明した初発とされた症例が8例)〕の推定感染経路は, 海外渡航後が9例 (渡航先: フィリピン6例, 中国1例, インドネシア1例, ベトナム1例), 感染源不明が14例であった。

B群 (二次感染者・三次感染者) の推定感染経路は, 家族内感染が6件15例 (うち2件は家族外への1名の二次感染者) で, 集団発生事例 (後述) として院内感染が1件 (4例), 職場感染が1件 (3例) あった。

ワクチン接種歴 (表2)

B群は0歳児が多かったことから「接種なし」の割合が多かったが, A群は成人が多かったことから, 「接種歴不明」が多かった。

ウイルス検出状況 (表3)

A群の中でB3型の麻疹ウイルス遺伝子型が検出された9例中5例はフィリピンからの帰国者で, 残り4例は感染経路が不明であった。その他の海外渡航者においては中国 (H1型) 1例, インドネシア (D8型) 1例であった。また5月以降に発症した15例中, H1型は5月に1例, 6月に7例報告されていた。6月に発症した7例には発端者の感染経路が不明の職場での集団感染例の二次感染者も含まれているが, 第26週 (図2) の5例はいずれも疫学的リンクを特定することができなかった。全45例中, 未型別が13例 (29%) あった。

集団発生事例

2件の集団発生事例があった。

表1. 発症から届出までの期間 (年齢別による比較)

年齢別	0～14歳	15～49歳	t検定
全例	4.8 ± 2.8 (n=18)	9.1 ± 4.8 (n=27)	$p=0.001$
A群	4.6 ± 2.8 (n=7)	10.1 ± 4.7 (n=16)	$p=0.009$
B群	4.9 ± 2.9 (n=11)	7.6 ± 4.7 (n=11)	$p=0.12$

表2. ワクチン接種歴

ワクチン歴	接種なし	1回接種	2回接種	不明
全例	26 (58%)	8 (18%)	1 (2%)	10 (22%)
A群 (n=23)	11 (48%)	5 (22%)	0 (0%)	7 (30%)
B群 (n=22)	15 (68%)	3 (14%)	1 (5%)	3 (14%)

表3. 月別麻疹ウイルス遺伝子型検出状況

	B3 (n=22)	H1 (n=9)	D8 (n=1)	未型別 (n=13)
1月	3(フィリピン2例)			
2月	4(フィリピン1例)	1(中国)		5
3月	6(フィリピン1例)			2
4月	5		1(インドネシア)	3
5月	4(フィリピン1例)	1		1
6月		7		2

()内は渡航歴再掲

事例1: 発端者は4歳の男児 (ワクチン接種歴なし) でフィリピンから帰国した時にはカタル期が過ぎ, 発疹と高熱が出現していた。遺伝子型はB3型であった。家族内に感染拡大し (2歳の男児, 7か月の男児), 受診した医療機関で8か月の女児, 10か月の女児, 9か月の男児, 33歳の女性に接触しており, 感染拡大がみられた。8か月の女児の双子の姉妹 (9か月) も7日後に発症し, 三次感染と考えられた。いずれの患者もワクチン歴はなかった¹⁾。発端者とその弟 (2歳, 7か月) と33歳の女性は入院となった。

事例2: 発端者は22歳の男性 (発症: 5月30日, 臨床診断, ワクチン歴不明) で海外渡航歴はなく, 感染経路も不明である。その後, 同じ職場の25歳の男性 (発症: 6月11日, ワクチン接種歴なし) と33歳の男性 (発症: 6月13日, 臨床診断, ワクチン接種1回あり) および33歳の男性 (発症: 6月12日, ワクチン接種歴不明) に感染が拡大した。二次感染者3例の遺伝子型はH1型であった。

今後の対策

大阪府内における麻疹散発発生例と集団感染例の全症例について発端者群と二次・三次感染者群とで比較した結果, 発端者群は成人に多く, 二次・三次感染では0～14歳の小児が半数を占めていた。特に二次・三次感染者群では, 麻疹含有ワクチン定期接種対象前の乳児が多数を占めていた。また, 麻疹ワクチン接種歴なし, または不明者の割合が多く, さらに1回接種を行っていても罹患している事例がみられた。発症から届出までの期間の検討では, 成人患者は発症から届出まで

の期間が0～14歳小児の患者より長い傾向がみられた。市中感染の排除に向けて、今後は成人に対する麻疹含有ワクチンの接種勧奨と、成人が受診する医療機関への「麻疹」に対する注意喚起が必要と考える。

2014年になり、中国 (H1 型)、インドネシア (D8 型) を除いて麻疹事例のほとんどがフィリピンからの輸入麻疹であり、遺伝子型はB3 型であった。5月、6月にはH1 型の麻疹事例が急増したが、感染経路は特定できなかった。

今後も輸入麻疹の増加が危惧される。輸入麻疹発病者の渡航先の確認と遺伝子型を含めた詳細な疫学的調査とともに、何よりも重要なことは輸入麻疹患者の入国後の感染拡大防止への迅速な対応である。今回のまとめではウイルスの未型別が13例 (29%) あり、当該医療機関に対する適切な検体採取の必要性を周知徹底するつもりである。そして、麻疹流行地からの観光客、帰国者との接触の多い職場で従事する成人に対するワクチン接種勧奨を感染拡大予防対策として考慮すべきであり、さらに麻疹流行地への渡航予定者に対するワクチン接種も強く勧奨すべきである。

参考文献

- 1) IASR 35: 107-108, 2014

感染症発生動向調査解析評価小委員会
(大阪府・大阪市・堺市・東大阪市・高槻市・豊中市・枚方市)

東野博彦 八木由奈 塩見正司 吉田英樹
廣川秀徹 奥町彰礼 松本治子 田邊雅章
高橋和郎 中川直子 高野正子 入谷展弘
信田真里 松岡太郎 笹井康典 小林和夫
田中智之

<国内情報>

宮城県の過去10年間におけるA群ロタウイルスの動向

ロタウイルスA (RVA) による胃腸炎の重症化を予防する目的でワクチンが開発され、日本においても、2011年11月から接種が開始されている。ワクチン導入後に起こる流行株の遺伝子型の変化を監視することは、ワクチンの影響を評価するうえで必要不可欠である。本研究は、その基礎となるベースライン情報を得るため、過去10年間にわたり、仙台市を除く宮城県内で検出されたRVAの遺伝子型の動向を調査し、興味ある非通常株を検出したので報告する。

2003/04シーズン～2012/13シーズンの10年間にわたり、宮城県結核・感染症発生動向調査事業で採取された感染性胃腸炎患者の糞便検体1,179件のうち、RVAのVP4とVP7の一部の領域を標的としたRT-PCR法またはイムノクロマト法でRVA陽性であった96検体のうち65検体を対象に遺伝子型別を行った。糞便検体

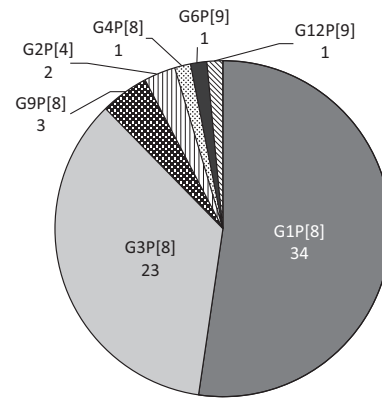


図1. 10シーズンにおけるRVAの遺伝子型

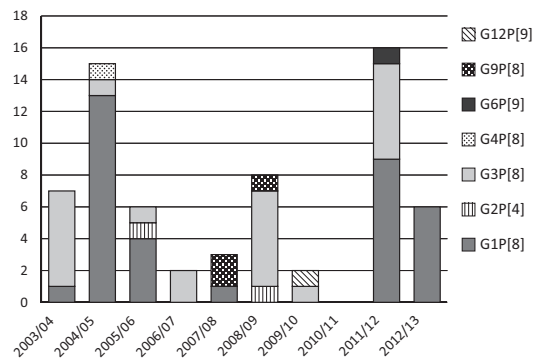


図2. シーズンごとのRVA遺伝子型

は滅菌蒸留水で10%乳剤とし、シードスワブは滅菌蒸留水500μlに懸濁後10,000rpm 10分間遠心した後、QIAampViral RNA Mini Kit (QIAGEN) によりRNAを抽出した。G型別はVP7-F¹⁾とVP7-R¹⁾で、P型別はCon-3²⁾とCon-2²⁾をプライマーとしてRT-PCRを行い、ダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定した。型別は、最終的にRotaC (<http://rotac.regatools.be/>)により決定し、MEGA5による分子系統解析を行った。

宮城県で過去10シーズンに検出されたRVAの主要な遺伝子型はG1P[8] (52.3%), G3P[8] (35.4%), G9P[8] (4.6%), G2P[4] (3.1%)であった(図1)。各流行期における遺伝子型は、2004/05, 2005/06, 2011/12および2012/13シーズンではG1P[8]が優勢であったが、2003/04, 2006/07, 2008/09シーズンではG3P[8]が優勢であった(図2)。宮城県においてもシーズンにより流行株の遺伝子型が変化している傾向が認められた。

また、非通常株であるG6P[9]およびG12P[9]がそれぞれ1検体検出された。G6P[9] (M72S11) は2011年11月に上気道炎と下痢、嘔吐などの症状を呈した2歳の幼児から検出され、G12P[9] (M392S09) は2010年3月に下痢を主徴とする1歳3か月の幼児から検出された。G6はウシロタウイルスの主要な遺伝子型であるほか、ヒツジおよびヤギからも検出され、まれにブタやウサギからの報告例もある。ヒトからの報告例は少ないが、古くはIizukaら³⁾によりイタリアで分離されたG6株であるPA151株がウシロタウイルスとAU-1型

のヒト/ネコロタウイルスとの遺伝子分節再集合体であることがRNA-RNA hybridization法を使って証明されている。最近Yamamotoら⁴⁾は、2010年2月にわが国で初めて検出されたG6P[9]をもつヒトロタウイルスKF17株の全ゲノム解析を行い、KF17がウシロタウイルスとAU-1型のヒト/ネコロタウイルスとの遺伝子分節再集合体として形成されたと結論している。M72S11は、このKF17とVP7遺伝子およびVP4遺伝子に関し、それぞれ99.7%および99.8%という非常に高い塩基一致率を持ち、分子系統樹の所見と合わせると、M72S11とKF17とは、同一のクローンに属する株であろうと推測される(図3&4)。

また、G12の初検出は、フィリピンであるが(Lineage I)⁵⁾、その後G12P[9]が、アジア、南米などから報告された(Lineage II)^{6,7)}。現在、世界的に優勢なG12株はLineage IIIに属し、これはG12P[6]やG12P[8]の組合せになることがほとんどである⁸⁾。本研究で検出したM392S09のVP7は系統解析の結果Lineage IIに属するG12株であり、近年では2006~2009年にかけてパラグアイで小規模な流行がみられたが、その他にはあまり報告例のないG12P[9]である。M392S09は、同じくG12P[9]である千葉県で2001年に検出されたCP727株⁶⁾と、VP7では99.1%、VP4では99.3%の塩基一致率であり、Lineage IIに属するG12株が消滅していない可能性がうかがわれた(図5)。

ロタウイルスワクチンの接種率の向上にともない、ワクチン防御から逃れた株の出現や、優勢遺伝子型の変化、さらに、リアソータントなどによる変異株の出現なども予測され、継続した監視が必要と考えられる。

なお、今回の調査で得られた株(M72S11, M392S09)のVP7領域とVP4領域の一部の塩基配列をGenBankに登録し、以下のアクセッション番号を取得した。AB985502(M72S11, VP7), AB985503(M72S11, VP4), AB985504(M392S09, VP7), AB985505(M392S09, VP4)

謝辞: 本研究について貴重なご意見を頂きました長崎大学医学部・中込 治教授に深謝する。

参考文献

1) Iturriza-Gómara M, *et al.*, J Clin Virol 31: 259-265, 2004
 2) Gentsch JR, *et al.*, J Clin Microbiol 30: 1365-

1373, 1992

3) Iizuka M, *et al.*, Arch Virol 135: 427-432, 1994
 4) Yamamoto D, *et al.*, Virus Genes 43: 215-223, 2011
 5) Kobayashi N, *et al.*, Arch Virol 109: 11-23, 1989
 6) Shinozaki K, *et al.*, J Med Virol 73: 612-616, 2014

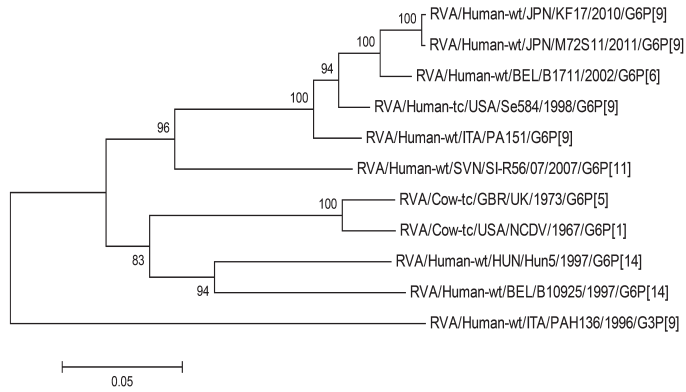


図3. RVA G6のVP7領域の塩基配列(714bp)に基づく系統樹

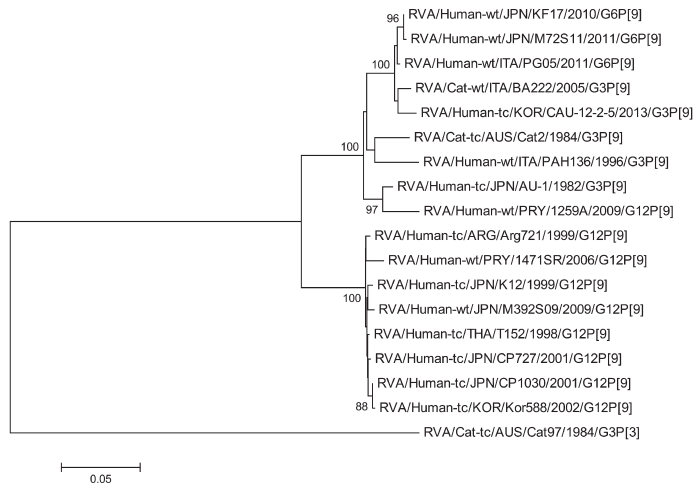


図4. RVAのVP4領域の塩基配列(739bp)に基づく系統樹

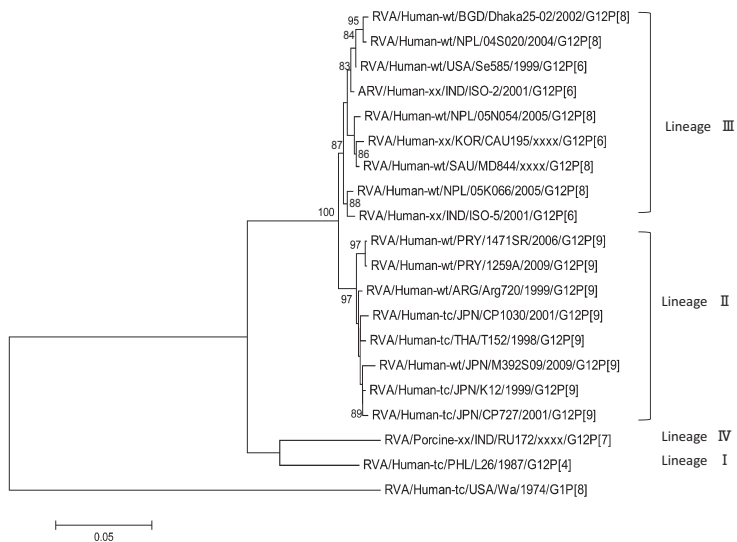


図5. RVA G12のVP7領域の塩基配列(752pb)に基づく系統樹

- 7) Castello AA, *et al.*, J Med Virol 81: 371-381, 2009
 8) Uchida R, *et al.*, J Clin Microbiol 44: 3499-3505, 2006

宮城県保健環境センター
 鈴木優子 木村俊介 阿部美和
 植木 洋 渡邊 節
 宮城県食肉衛生検査所
 佐藤俊郎

<国内情報>

パラインフルエンザウイルス2型が検出された肺炎・胃腸炎・神経症状を示した1症例

ヒトパラインフルエンザウイルス (Human parainfluenzavirus: HPIV) は、パラミクソウイルス科パラミクソウイルス亜科に属するエンベロープを有したマイナス1本鎖のRNAウイルスである。また、小児を中心とした急性呼吸器感染症を引き起こす主要な原因ウイルスの1つであり、臨床症状としては上気道炎、気管支炎などを引き起こすほか、クループの主要な病因ウイルスであることが知られている^{1,2)}。今回、我々は呼吸器症状、消化器症状および神経症状を伴う患者から採取された咽頭ぬぐい液および糞便から、ヒトパラインフルエンザウイルス2型 (HPIV-2) を検出したので、その概要について報告する。

患者は9歳9か月の女児で、2014年8月5日に発病し、同13日に千葉市内の病院を受診した。

受診時の臨床症状は発熱 (40°C)、頭痛、咽頭炎、肺炎、胃腸炎 (下痢、腹痛)、意識障害、せん妄、肝機能障害であった。感染症法で規定されている1~5類感染症および指定感染症と診断はされなかったが、急性脳症を引き起こすことが懸念されたため、当研究所で検査を実施した。

検査は既報に従い、血液、咽頭ぬぐい液および糞便を検体として、呼吸器症ウイルスおよび脳炎・脳症ウイルスの遺伝子検出および分離を実施した。HPIV (1~3型)、ヒトRSウイルス、ヒトメタニューモウイルス、ヒトボカウイルス、単純ヘルペスウイルス、ヒトヘルペスウイルス (6, 7型)、水痘・帯状疱疹ウイルス、バルボウイルスB19についてReal-time (RT-) PCR法、ヒトライノウイルス (HRV)、ヒトエンテロウイルス、ヒトコロナウイルス、ヒトパレコウイルス、ムンプスウイルス、アデノウイルスについて (RT-) PCR法を用いてウイルス遺伝子の検出を行った。さらにTongらによるパラミクソウイルス亜科のL蛋白を標的としたRT-PCR法³⁾を実施した。その結果、咽頭ぬぐい液および糞便からReal-time RT-PCR法によりHPIV-2が検出された。咽頭ぬぐい液中のHPIV-2コピー数は $7.42 \times 10^4/5\mu\text{l}$ 、糞便 (10%乳剤) 中のウイル

スコピー数は $8.81 \times 10^4/5\mu\text{l}$ であった。また、RT-PCR法によりパラミクソウイルス亜科の遺伝子が検出された。RT-PCR法により得られた増幅産物についてダイレクトシーケンス法で塩基配列を決定し、490bpについて解析を行ったところ¹⁾、咽頭ぬぐい液と糞便から検出されたパラミクソウイルス亜科の塩基配列は100%一致し、DDBJのBLAST検索の結果、HPIV2/V94 (AF533010)と99%の相同性を示したことから、当該ウイルスをHPIV-2と決定した。なお、RD-A, VeroE6, HEp-2, CaCo-2およびMDCK細胞を用いたウイルス分離は陰性であった。

本症例は、呼吸器症状以外に消化器症状、肝機能障害および神経症状など多彩な臨床所見を示した1例であったが、ウイルス学的検索で検出されたものはHPIV-2のみであった。一般にHPIVは呼吸器感染症に関与する病原体であり、合併症として中耳炎を比較的高率に併発することが知られているが、胃腸炎や神経症状など他の症状を併発することは少ないと考えられる^{2,4)}。一方、血性下痢症を呈した成人の直腸ぬぐい液から、HPIV-3が分離された1症例が報告されており⁵⁾、本症例においても、ウイルス学的検索により、患者の咽頭ぬぐい液および糞便からHPIV-2が検出された。症例数が1例のみであるため、検出されたHPIV-2が胃腸炎や神経症状に関与していたか否かについて断定することは難しいが、呼吸器症状に伴い胃腸炎を併発している場合は、糞便に対してもHPIVの検索を行い、症例を集積することが必要であると考えられた。

参考文献

- 1) 国立感染症研究所, パラインフルエンザウイルス検査マニュアル, 2009
- 2) Karron RA and Collins PL, Parainfluenza Viruses, Vol.1, 1498-1526, Fields Virology, 2007
- 3) Tong S, *et al.*, J Clin Microbiol 46: 2652-2658, 2008
- 4) Reed G, *et al.*, J Infect Dis 175: 807-813, 1997
- 5) Aronson MD, *et al.*, Ann Intern Med 81 (6): 856-867, 1974
- 6) 錫谷達夫, 臨床と微生物 33 (増刊号): 543-568, 2006

千葉市環境保健研究所

土井妙子 水村綾乃 田中俊光

元吉まさ子 都竹豊茂 本橋 忠

国立感染症研究所感染症疫学センター
 木村博一

Mechanism of carbapenem resistance among <i>Enterobacteriaceae</i> –characteristics and trends.....	283	Molecular epidemiology of <i>Acinetobacter</i> spp. isolated in Japan, October 2011-March 2012.....	291
Clinical features of carbapenem-resistant <i>Enterobacteriaceae</i> infection cases in Japan.....	284	Infant <i>Listeria</i> meningitis—a case report—Osaka Prefecture.....	293
Laboratory testing of carbapenem-resistant <i>Enterobacteriaceae</i>	285	An EHEC O121 infection through contact with breeding cattle, May 2014—Hyogo Prefecture.....	294
Isolation of carbapenemase-producing <i>Enterobacteriaceae</i> from overseas travelers returning to Japan.....	287	Isolation of enterovirus D-68 from 4 infant cases, September 2010–November 2013—Hiroshima Prefecture.....	295
Situation update on reported cases of carbapenem-resistant <i>Enterobacteriaceae</i> infections under the National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases, week 38–44, 2014 Japan.....	288	Measles epidemic in Osaka Prefecture, first half of 2014.....	296
Nosocomial infection involving horizontal transmission of plasmid(s) bearing carbapenem resistance gene, May 2013.....	289	Trends in group A rotavirus infection in Miyagi Prefecture during the past 10 years.....	298
Persistent and large-scale nosocomial transmission of carbapenem-resistant <i>Enterobacteriaceae</i> in a community hospital in Osaka City, July 2013–May 2014.....	290	Isolation of parainfluenza virus type 2 from a patient with pneumonia, gastroenteritis and neurological symptoms, August 2014—Chiba City.....	300

<THE TOPIC OF THIS MONTH>

Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* Infection, Japan

Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* (CRE) is a group of *Enterobacteriaceae*, such as *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* that are resistant to both carbapenems and broad-spectrum β -lactams. CREs cause respiratory tract infections such as pneumonia, urinary tract infections, surgical site infections, catheter-related bacteremia, sepsis and meningitis. While more common among immune compromised patients, postoperative patients or patients treated with antimicrobials for an extended period of time, CREs may also cause infection in otherwise healthy patients. CREs are often the cause of nosocomial infections.

So far in Japan, the prevalence of CRE has been relatively low. For example, in 2013, meropenem-resistant isolates occupied less than 1% of the various representative *Enterobacteriaceae* bacteria isolates (Table 1). Meanwhile, in many other countries, the proportion of carbapenem resistance is increasing, and in the United States, 10.4% of the isolates belonging to the genus *Klebsiella* were carbapenem-resistant [MMWR, 62(9): 165-170, 2013]. The World Health Organization (WHO) considers strengthening the surveillance of antimicrobial resistance as a critical priority for member states (WHO, Antimicrobial resistance: global report on surveillance 2014, <http://www.who.int/drugresistance/documents/surveillancereport/en/>).

Carbapenem resistance mechanisms

Mechanism of carbapenem resistance includes production of various carbapenemases, production of AmpC type or extended-spectrum β -lactamases combined with mutation(s) resulting in the decreased permeability of the cellular membrane (see p. 283 of this issue). Carbapenemase-producing bacteria are clinically important as they are often resistant not only to broad-spectrum β -lactams but also to other classes of antimicrobials (see p. 284 of this issue).

Carbapenemase producers isolated in Japan are mostly of IMP genotype (see p. 285 of this issue), which can be easily detected by the sodium mercaptoacetic acid (SMA) disk method widely used in medical facilities in Japan. Isolates abroad, however, carry carbapenemases of NDM, KPC, or OXA-48 genotypes, whose detection requires use of methods other than SMA disk method (see p. 285 of this issue). As nosocomial infections due to CRE are more frequent abroad, patients who were treated in foreign medical facilities should be investigated for possible carriage of CREs so as to prevent the spread from such imported cases in Japan (see p.

Table 1. Proportion of *Enterobacteriaceae* resistant to meropenem, 2013, Japan

<i>Enterobacteriaceae</i> species	Meropenem resistant (%)
<i>Escherichia coli</i>	0.1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.2
<i>Enterobacter cloacae</i>	0.6
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0.2
<i>Citrobacter freundii</i>	0.2
<i>Citrobacter koseri</i>	0.1
<i>Proteus mirabilis</i>	0.1

2013 Annual Report of Clinical Laboratory Division,
Japan Nosocomial Infections Surveillance (JANIS:
<http://www.nih-janis.jp/>), Ministry of Health, Labour and Welfare

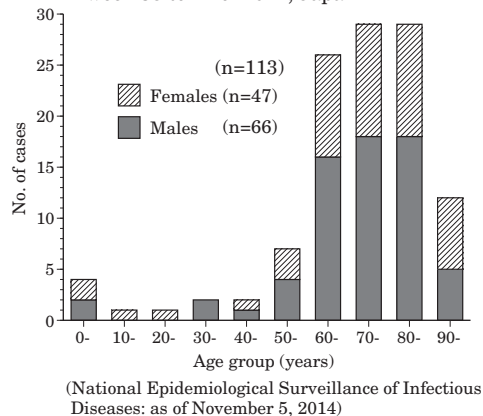
Table 2. Laboratory criteria required for fulfilling definition of carbapenem resistance

- a. MIC for meropenem $\geq 2\mu\text{g/ml}$, or zone diameter of meropenem disk (KB) $\leq 22\text{mm}$
b. Fulfillment of both i) and ii):
i) MIC for imipenem $\geq 2\mu\text{g/ml}$, or zone diameter of imipenem disk (KB) $\leq 22\text{mm}$
ii) MIC for cefmetazole $\geq 64\mu\text{g/ml}$, or zone diameter of cefmetazole disk (KB) $\leq 12\text{mm}$

MIC: minimum inhibitory concentration

See notification criteria (<http://www.nih.go.jp/niid/images/iasr/35/418/de4181.pdf>)

(THE TOPIC OF THIS MONTH-Continued)

Figure. Age distribution of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infection cases, by gender, week 38 to 44 of 2014, JapanTable 3. Notified cases of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* infection, week 38 to 44 of 2014, Japan

<i>Enterobacteriaceae</i> species	Number of cases
<i>Enterobacter cloacae</i>	34
<i>Enterobacter aerogenes</i>	22
<i>Escherichia coli</i>	19
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	15
<i>Citrobacter</i> spp.	5
Others & not described	18
Total	113

[National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases, as of November 5, 2014, since compulsory reporting of all cases started in week 38 (September 19, 2014)]

287 of this issue, IASR 35: 200-201, 2014, IASR 34: 237-238, 2013 and IASR 34: 238-239, 2013).

National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases—reporting criteria and current trends

CRE infection is a category V infectious disease under the Infectious Diseases Control Law. Physicians who make the diagnosis of CRE infection must notify all cases (see <http://www.nih.go.jp/niid/images/iasr/35/418/de4181.pdf> for reporting criteria). Only infections determined to be caused by CRE are notifiable; asymptomatic CRE carriers are not. For determining carbapenem resistance, resistance to meropenem or resistance to both imipenem and cefmetazole are methods currently used (Table 2). Among them, use of meropenem is most recommended on account of its sensitivity and specificity (IASR 35: 156-157, 2014). Imipenem resistance was included in the reporting criteria because imipenem has been widely used as an indicator in the clinical setting. However, in order to exclude those that are resistant to imipenem but susceptible to other cephem antimicrobials and do not produce carbapenemase (e.g. Genus *Proteus*), reporting is limited to those resistant to both imipenem and cefmetazole.

Since compulsory reporting of all cases started in week 38 (19 September 2014), 113 CRE infection cases were notified through week 44, among whom 66 were male and 47 female (see p. 288 of this issue). The age of the patients ranged from 0 year to 97 years; among them 88 (78% of all the cases) were aged 65 years or above (Figure). CRE was isolated from 47 (42%) aseptic specimens, such as blood, ascites, and cerebrospinal fluid; the isolation was most frequent from blood (n=27).

Among 113 cases, 109 cases were reported as domestically acquired and one case abroad. Twenty three cases were considered as healthcare-associated infections, such as infection due to medical devices or surgical site infections. Among 113 cases diagnosed as CRE infection, 31 cases were based on resistance to meropenem, 41 cases by resistance to both imipenem and cefmetazole and 39 cases based on both methods.

Half of the reported CRE cases were infections by *Enterobacter* spp. (Table 3). Most carbapenem resistance of *Enterobacter* spp. was not due to production of carbapenemases but rather due to production of class C β -lactamase associated with reduced cellular membrane permeability. The current practice of notifying carbapenemase non-producing bacteria resistant to broad-spectrum β -lactams is being reviewed with regards to implications for public health.

Horizontal gene transfer and nosocomial infection

In most cases, the carbapenemase gene is found on plasmids. It is transmitted to other bacteria belonging to *Enterobacteriaceae* by conjugation or other horizontal gene transfer mechanisms. Some *Enterobacteriaceae* bacteria possessing carbapenemase gene may be phenotypically susceptible to carbapenems. Such bacteria may become carbapenem-resistant through elevated expression of the drug resistance gene(s) or through cellular membrane change and capable of transmitting the resistance gene(s) to other bacteria of other species. As such events may go unnoticed, such possibilities should be kept in mind for surveillance. In fact, dissemination of the carbapenem resistance gene to multiple bacteria species in the clinical setting has already been reported (see pp. 289 & 290 of this issue).

Asymptomatic CRE carriers are not rare. Although they are not notifiable, if they are hospitalized and a nosocomial outbreak is suspected, such carriers should be reported to health centers according to the notice issued by the Director of Guidance of Medical Service Division, Health Policy Bureau, Ministry of Health, Labour and Welfare (17 June 2011: Isei-shi-hatsu 0617 No.1), and necessary measures taken promptly with assistance of an existing local network of medical institutions. Though this notice will be updated soon, the requirements for notification will remain unchanged. If genotyping or further analysis of resistance gene(s) is deemed necessary for infection control purposes, research institutes, including the National Institute of Infectious Diseases, should be consulted.

The statistics in this report are based on 1) the data concerning patients and laboratory findings obtained by the National Epidemiological Surveillance of Infectious Diseases undertaken in compliance with the Law Concerning the Prevention of Infectious Diseases and Medical Care for Patients of Infections, and 2) other data covering various aspects of infectious diseases. The prefectural and municipal health centers and public health institutes (PHIs), the Department of Food Safety, the Ministry of Health, Labour and Welfare, and quarantine stations, have provided the above data.