

東邦大学学術リポジトリ

Toho University Academic Repository

| | |
|-----------|---|
| タイトル | 入院時の患者における抗菌薬耐性腸内細菌の保菌状況 |
| 別タイトル | Fecal carriage of antibiotic resistant Enterobacteriaceae in patients following admission screening |
| 作成者（著者） | 倉地, 里枝 / 勝瀬(金山), 明子 / 金坂, 伊須萌 / 山田, 和範 / 落合, 匠 / 小林, 寅喆 |
| 公開者 | 東邦看護学会 |
| 発行日 | 2021.03.01 |
| ISSN | 21855757 |
| 掲載情報 | 東邦看護学会誌. 18(2). p.13 20. |
| 資料種別 | 学術雑誌論文 |
| 内容記述 | 研究報告 |
| 著者版フラグ | publisher |
| JaLCDOI | info:doi/10.14994/tohokango.18.2.13 |
| メタデータのURL | https://mylibrary.toho-u.ac.jp/webopac/TD16468192 |

【研究報告】

入院時の患者における 抗菌薬耐性腸内細菌の保菌状況

Fecal carriage of antibiotic-resistant Enterobacteriaceae in patients following admission screening

倉地 里枝¹⁾, 勝瀬 (金山) 明子¹⁾, 金坂 伊須萌¹⁾,
山田 和範²⁾, 落合 匠³⁾, 小林 寅喆¹⁾

Satoe KURACHI¹⁾, Akiko KATSUSE KANAYAMA¹⁾, Izumo KANESAKA¹⁾,
Kazunori YAMADA²⁾, Takumi OCHIAI³⁾, Intetsu KOBAYASHI¹⁾

要 旨

【目的】入院時の患者糞便試料より分離された腸内細菌に対して各種抗菌薬の感受性および遺伝学的性状を調査し、入院時の患者における抗菌薬耐性腸内細菌の保菌状況について明らかにした。

【方法】2017年5月～2018年3月に東京都および北海道の地域中核病院において入院時の患者63名を対象に同意を得て糞便を採取後、抗菌薬含有培地にて培養し、検出された腸内細菌に対してClinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)の国際標準法を用いてカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: CRE) およびExtended-spectrum β -lactamases (ESBLs) 産生菌の同定を行い、耐性因子の解析を行った。なお、入院時の患者とは、入院から48時間以内の患者とした。

【結果】対象とした63例よりカルバペネム系抗菌薬耐性腸内細菌が2例、第3世代セフェム耐性の腸内細菌が6例より検出され、そのうちCREおよびESBLs産生株はそれぞれ1株および4株検出された。CREはカルバペネマーゼ非産生性かつIMP, VIM遺伝子の主要な関連遺伝子の保有は認められず、耐性因子の特定はできなかった。ESBLs産生株4株は日本の医療機関の院内感染の原因菌として主要なタイプであるCTX-M型に分類された。

【結論】入院時患者において、カルバペネム系抗菌薬耐性菌が3.2% (CREは1.6%)、第三世代セフェム耐性菌が9.5% (ESBLs産生菌は6.3%)の割合で認められ、市中に各種抗菌薬耐性株を保有する患者が存在することが明らかとなった。このことは入院を契機に耐性菌が医療機関へ持ち込まれる可能性があるため、患者と接触する機会の多い看護職は、この実態を認識するとともに、標準予防策の徹底および必要に応じて接触感染対策を行い、感染制御活動を徹底する必要があると考えられた。

キーワード: Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) Extended-spectrum β -lactamases (ESBLs)
産生菌 抗菌薬耐性菌

¹⁾ 東邦大学看護学部感染制御学 ²⁾ 中村記念南病院薬剤部 ³⁾ 東京都保健医療公社東部地域病院外科

¹⁾ Department of Infection Control and Prevention, Faculty of Nursing, Toho University

²⁾ Department of Pharmacy, Nakamura Memorial South Hospital

³⁾ Department of Surgery, Tobu Chiiki Hospital, Tokyo Metropolitan Health and Medical Treatment Corporation

I. 緒言

近年、日本に限らず世界において抗菌薬耐性菌 (Antimicrobial resistance: AMR) の増加が問題となっている。AMRの中でも、特にその発生動向が注視されているのは腸内細菌である。腸内細菌は健常人における感染症の起炎菌として分離される一方、高齢者や新生児、抗がん剤やステロイド治療などによって免疫機能が低下した日和見状態にある患者に感染症を引き起こすことも多い。腸内細菌による感染症の治療には、ペニシリン系やセフェム系などの β -ラクタム系抗菌薬や、ニューキノロン系抗菌薬などが汎用されてきた。しかし、1983年にKnotheら¹⁾がcefotaxime (CTX)、cefoxitin (CFX)、cefamandole (CMD) およびcefuroxime (CXM) に対する伝達性の耐性を示すextended-spectrum β -lactamases (ESBLs) 産生菌を報告して以降、このような耐性菌が次々と発見されるようになった。プラスミドによって伝達される耐性遺伝子は、菌種を越えて伝播するため、各種病原菌への拡大が危惧されている。よって、これらの耐性菌を同定する上で耐性因子を解析することは重要とされている。1995年には日本国内で初めて、Ishiiら²⁾によって臨床材料から分離されたESBLs産生*Escherichia coli*が報告され、その後の国内における大規模サーベイランス^{3) 4) 5)}では、ESBLs産生菌の分離率が増加傾向にあることが明らかになっている。

感染症の起炎菌がESBLs産生菌の場合、多くの β -ラクタム系薬は加水分解されてしまうため、治療が無効化してしまう。そこで“Last resort (最後の切り札)”として使用されるのが、ESBLsに安定とされるカルバペネム系抗菌薬である。しかし、カルバペネマーゼを産生することにより、カルバペネム系抗菌薬さえも加水分解してしまうカルバペネマーゼ産生菌による感染症が報告されるようになった。カルバペネマーゼ産生菌を含むカルバペネム耐性腸内細菌科細菌 (Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: CRE) はフルオロキノロン系やアミノ配糖体系の抗菌薬に対しても耐性を有していることが多く、有効な抗菌薬の選択肢は限られ治療に難渋する。そのためCREによる血流感染症を起こした場合、カルバペネム系抗菌

薬感受性菌による血流感染症に比較して死亡率が高くなることが報告されており⁶⁾、Centers for Disease Control and Prevention (CDC) はCREによる血流感染症を起こすとその死亡率は50%にまで及ぶことを指摘した⁷⁾。

感染拡大を防止するためには「病原体を持ち込まない・持ち出さない・広げない」ことによる感染経路の遮断が必要である。しかし、これまで抗菌薬耐性腸内細菌は主に抗菌薬が多用される医療機関において発生すると考えられていたため、入院中の患者においては標準予防策を基本とし、抗菌薬耐性腸内細菌による感染症が確認された後に接触感染対策へと変更する「病原体を広げない」対策に主眼が置かれてきた。しかしながら、当該菌が入院歴や抗菌薬使用歴のない感染症患者からも分離されることが報告されており⁸⁾、すでに市中に広く拡散していることが推測されるため、病原体を「持ち込まない」ための対策も重要である。AMRを保菌し入院した場合、各種医療行為や患者の状態変化などに伴う菌交代現象によりAMRによる内因性感染が生じ治療に難渋する可能性や、院内に伝播し院内感染を引き起こす危険性がある。そのため、医療従事者は患者入院時に医療機関へ持ち込まれるAMRの存在を認識し、有効な感染症治療および感染拡大防止策を講ずる必要がある。

すでに、入院時患者に対して抗菌薬耐性腸内細菌を含む抗菌薬耐性菌に関する入院時監視培養を行い、その後の感染拡大予防策に有効であったとの報告もある⁹⁾。しかしながら、これまで入院時患者における抗菌薬耐性腸内細菌の保菌に関する詳細な報告は少なく、その実態は明らかになっていない。以上の背景より、入院時患者の糞便より腸内細菌を分離し、入院時における患者の抗菌薬耐性腸内細菌の保菌状況および当該菌の耐性遺伝子について解析し検討を行った。

II. 対象と方法

1. 対象

2017年5月～2018年3月に東京および北海道の地域中核病院において、入院時の患者63名より同意を得て糞便を採取した。研究協力者は検査や治療のため

に糞便検査を要すると医師が判断した患者のうち、糞便採取後に本研究の説明を行い同意を得た者とし、入院から48時間以内の患者を対象とした。

2. 抗菌薬感受性の測定

糞便中の抗菌薬耐性腸内細菌の選択を目的に、cefpodoxime (CPDX) および meropenem (MEPM) を含有させた CHROMagar Orientation 培地で培養を行い、腸内細菌を推測する集落のうち肉眼的に異なる集落を1~4個釣菌し、BD Phoenix (NMIC/ID-208) にて菌種の同定を行った。腸内細菌の菌種に同定された菌株について、Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M100-S26 の方法に準じたディスク拡散法¹⁰⁾により、MEPM、ceftazidime (CAZ)、CTX に対する感受性を測定し、同 CLSI の基準により、感受性以外の中間耐性および耐性に分類される菌株を抽出した。この菌株に対し、CLSI M100-S26 に準じ、微量液体希釈法にて各種抗菌薬の最小発育阻止濃度 (Minimum Inhibitory Concentration: MIC) を測定した。抗菌薬は imipenem (IPM)、MEPM、cefmetazole (CMZ)、ceftriaxone (CTRX)、CAZ、CAZ/clavulanic acid (CVA)、CTX、CTX/CVA、cefepime (CFPM)、ciprofloxacin (CPFX)、piperacillin (PIPC) / tazobactam (TAZ)、amikacin (AMK) の12薬剤とした。なお、感受性の判定は同 CLSI の基準を用いた。

また、微量液体希釈法による MIC 値が耐性を示した菌株について、CAZ、CTX、CTRX のいずれかに耐性を示すものを第三世代セフェム抗菌薬耐性、IPM、MEPM のいずれかに中間耐性および耐性を示すものをカルバペネム系抗菌薬耐性、CPFX に耐性を示すものをフルオロキノロン系抗菌薬耐性と分類した。なお、CRE の判定は厚生労働省のガイドライン¹¹⁾に準じた。

各種抗菌薬耐性菌に対する耐性遺伝子の検索について、ESBL 遺伝子 (TEM、SHV、CTX-M) は Dallenne ら¹²⁾、カルバペネム系抗菌薬耐性遺伝子 (IMP-1 and -2、VIM-1 and -2、KPC) は Queenan ら¹³⁾、AmpC 型 β -lactamase 遺伝子 (ACT-1、MIR-1、CMY and LAT、FOX-1 to -5、DHA-1 and -2、ACC-1 and -2)

は Jones ら¹⁴⁾ の方法に従い PCR 法にて検出し、型別を行った。フルオロキノロン系抗菌薬耐性菌については、Weigel ら¹⁵⁾ の方法に従い、*gyrA* 遺伝子を PCR 法にて増幅後、キノロン耐性決定領域の塩基配列の決定を行い、アミノ酸の変異を確認した。

また、カルバペネム系抗菌薬耐性菌と考えられた菌株について、耐性菌検出用ディスクメルカプト酢酸ナトリウム (sodium mercaptoacetate: SMA) 含有ディスクのメタロ- β -ラクタマーゼ SMA ‘栄研’ (栄研化学) および IPM、CAZ を用いて、メタロ- β -ラクタマーゼ産生性を確認した。また、MEPM を用いた mCIM テスト¹⁶⁾により、カルバペネマーゼ産生性を確認した。

Ⅲ. 倫理的配慮

本研究は東邦大学看護学部倫理審査委員会での審査を受け承認を得た (承認番号: 28030)。研究開始に先立ち、共同研究機関の責任者の同意を書面にて取得した。また、研究協力者に対して書面と口頭で研究方法について説明し、研究協力は自由意思によって断ることができること、研究途中で断っても不利益を被ることは一切ないことも説明し、研究協力および糞便試料の提供に関する同意を書面にて取得した。

糞便試料は共同研究機関において連結可能匿名化され、識別番号を付記したものを供与された。

Ⅳ. 結果

共同研究機関において63試料の糞便試料を収集し、糞便試料の培養、同定により81株の腸内細菌が分離された。抗菌薬耐性菌スクリーニングによって得られた第三世代セフェム耐性およびカルバペネム系抗菌薬耐性の可能性がある7株の腸内細菌の菌種、および各種抗菌薬に対する感受性を表1に示した。また、これらの感受性によって判定した各種抗菌薬耐性腸内細菌の検出数を表2に示した。

カルバペネム系抗菌薬 (IPM、および MEPM) のうち、IPM の MIC が $4\mu\text{g}/\text{mL}$ の耐性を示した株が1株 (菌株 No. 20)、 $2\mu\text{g}/\text{mL}$ の中間耐性を示した株が1株 (菌株 No. 14) 認められた。また、この2株

表1. 入院時患者糞便試料から分離された抗菌薬耐性菌の各種抗菌薬に対する感受性

| 菌株 No. | 菌種 | MIC: $\mu\text{g/mL}$ | | | | | |
|--------|---------------------|-----------------------|-------------|---------|----------|---------|---------|
| | | IPM | MEPM | CMZ | CTRX | CAZ | CAZ/CVA |
| 14 | <i>E. cloacae</i> | 2 (I) | 0.125 | >64 (R) | 0.5 | 0.25 | 0.25 |
| 18 | <i>E. coli</i> | 0.125 | ≤ 0.06 | 1 | >128 (R) | 32 (R) | 0.25 |
| 19 | <i>E. coli</i> | 0.25 | ≤ 0.06 | 2 | >128 (R) | 8 (I) | 0.25 |
| 20 | <i>M. morgannii</i> | 4 (R) | 0.25 | 8 | 32 (R) | 128 (R) | 128 |
| 23 | <i>E. coli</i> | 0.125 | ≤ 0.06 | 2 | >128 (R) | 8 (I) | 0.25 |
| 33 | <i>E. coli</i> | 0.125 | ≤ 0.03 | 0.5 | >128 (R) | 8 (I) | 0.12 |
| 47 | <i>E. hermannii</i> | 0.5 | ≤ 0.06 | >64 (R) | 128 (R) | 128 (R) | 128 |

(I) : 中間耐性 (R) : 耐性

IPM: imipenem MEPM: meropenem CMZ: cefmetazole CTRX: ceftriaxone CAZ: ceftazidime

CAZ/CVA: ceftazidime/clavulanic acid CTX: cefotaxime CTX/CVA: cefotaxime/clavulanic acid

CFPM: cefepime CPFXX: ciprofloxacin PIPC/TAZ: piperacillin/tazobactam AMK: amikacin

のCMZのMICはそれぞれ $8\mu\text{g/mL}$ 、および $>64\mu\text{g/mL}$ を示し、菌株No. 14は厚生労働省のCRE感染症の届け出基準に従いCREと判定された。菌株No. 14を除く6株は、第三世代セフェムのCAZ、CTX、CTRXのいずれかに耐性を示し、第三世代セフェム耐性菌と判定された。このうち、*E. coli*と同定された菌株No. 18、19、23および33の4株は、CAZまたはCTXのMICとクラブラン酸含有薬剤のMICの差から、ESBLs産生菌と判定された。ESBLs産生菌と判定された4株のうち3株は、フルオロキノロン系であるCPFXXに対しても耐性を示した。糞便試料全体では3.2%よりカルバペネム系抗菌薬耐性菌が、9.5%より第三世代セフェム耐性菌と判定された腸内細菌が分離された。

本研究で得られた抗菌薬耐性腸内細菌7株の抗菌薬耐性パターンと耐性因子を示した(表3)。CREと判定された菌株No. 14の*Enterobacter cloacae*は、IPMとCMZに耐性を示したが、耐性因子は不明であった。カルバペネム系抗菌薬耐性菌と判定された菌株No. 20の*Morganella morgannii*は、第三世代セフェムのCAZ、CTX、CTRXに対しても耐性を示しており、AmpC型 β -ラクタマーゼ遺伝子であるDHAが検出

された。また、第三世代セフェム耐性菌と判定された6株について、すべての菌株がCTRXおよびCTXに耐性を示した。このうち3株はフルオロキノロン系抗菌薬のCPFXXにも同時耐性を示し、ESBLs産生遺伝子のCTX-M-9 groupの保有および、*gyrA*におけるアミノ酸変異が確認された。第三世代セフェム耐性菌と判定された菌株No. 47の*Escherichia hermannii*については、AmpC型 β -ラクタマーゼ遺伝子のCMY/LATが確認されており、今回解析した菌株で唯一PIPC/TAZに対して耐性を示した。

V. 考察

本研究では患者の入院時における糞便63試料のうち、カルバペネム系抗菌薬耐性菌が2試料(3.2%)、うち厚生労働省のCRE感染症の届け出基準に準じたCREが1試料(1.6%)で認められた。日本において入院時患者におけるカルバペネム系抗菌薬耐性菌の保菌に関するデータはほとんどなく、その実態は明らかになっていない。厚生労働省院感染対策サーベイランス(Japan Nosocomial Infections Surveillance: JANIS)は、各種臨床検体より腸内細菌が分離され

| MIC: $\mu\text{g/mL}$ | | | | | | 抗菌薬耐性 |
|-----------------------|-------------|-------------|-------------|-----------|-----|--------------------------------------|
| CTX | CTX/CVA | CFPM | CPFX | PIPC/ TAZ | AMK | |
| 0.25 | 0.25 | ≤ 0.06 | ≥ 0.06 | 2 | 1 | カルバペネム系抗菌薬耐性 (CRE) |
| >128 (R) | 0.25 | 128 (R) | 0.5 | 4 | 2 | 第三世代セフェム耐性 (ESBLs) |
| >128 (R) | 0.25 | 16 (R) | 64 (R) | 4 | 4 | 第三世代セフェム耐性 (ESBLs) フルオロキノロン系抗菌薬耐性 |
| 32 (R) | 32 | 0.12 | ≥ 0.06 | 0.5 | 4 | カルバペネム系抗菌薬耐性 第三世代セフェム耐性 |
| >128 (R) | ≤ 0.06 | 128 (R) | 64 (R) | 2 | 8 | 第三世代セフェム耐性 (ESBLs) フルオロキノロン系抗菌薬耐性 |
| >128 (R) | ≤ 0.06 | 8 (I) | 32 (R) | 4 | 4 | 第三世代セフェム耐性 (ESBLs) フルオロキノロン系抗菌薬耐性 |
| 128 (R) | 64 | 1 | 0.12 | 128 (R) | 1 | 第三世代セフェム耐性 |

表2. 入院時患者糞便試料から分離された各種抗菌薬耐性菌

| 抗菌薬耐性菌 | 分離株数 (%) ¹⁾ |
|---------------|------------------------|
| カルバペネム系抗菌薬耐性菌 | 2 (3.2) |
| うち CRE | 1 (1.6) |
| 第三世代セフェム耐性菌 | 6 (9.5) |
| うち ESBLs 産生菌 | 4 (6.3) |

¹⁾ n=63 (カルバペネム系抗菌薬耐性と第三世代セフェム耐性の同時耐性による重複を含む)

表3. 入院時患者糞便試料から分離された抗菌薬耐性菌の抗菌薬耐性パターンと耐性因子

| 抗菌薬耐性 | 菌株 No. | 菌種 | 抗菌薬耐性パターン | 耐性因子 |
|--------------------------------------|--------|---------------------|-------------------------------|--|
| カルバペネム系抗菌薬耐性 (CRE) | 14 | <i>E. cloacae</i> | IPM, CMZ | 不明 |
| カルバペネム系抗菌薬耐性 第三世代セフェム耐性 | 20 | <i>M. morgannii</i> | IPM, CTRX, CAZ, CTX | DHA (AmpC 型 β -lactamase) |
| 第三世代セフェム耐性 | 47 | <i>E. hermannii</i> | CMZ, CTRX, CAZ, CTX, PIPC/TAZ | CMY/LAT (AmpC 型 β -lactamase) |
| 第三世代セフェム耐性 (ESBLs) | 18 | <i>E. coli</i> | CTRX, CAZ, CTX, CFPM | CTX-M-1 group (ESBL) |
| 第三世代セフェム耐性 (ESBLs) フルオロキノロン系抗菌薬耐性 | 19 | <i>E. coli</i> | CTRX, CTX, CFPM, CPFX | CTX-M-9 group (ESBL) <i>gyrA</i> 変異 (フルオロキノロン系抗菌薬耐性) |
| | 23 | <i>E. coli</i> | CTRX, CTX, CFPM, CPFX | CTX-M-9 group (ESBL) <i>gyrA</i> 変異 (フルオロキノロン系抗菌薬耐性) |
| | 33 | <i>E. coli</i> | CTRX, CTX, CPFX | CTX-M-9 group (ESBL) MIR-1 (AmpC 型 β -lactamase) <i>gyrA</i> 変異 (フルオロキノロン系抗菌薬耐性) |

た患者のうち1.23%においてCREが認められたと報告しており¹⁷⁾、伊藤らは入院患者より分離された *Serratia marcescens* について、CREであるMetallo- β -lactamase産生株の割合は4.2%であったと報告している¹⁸⁾。このことから、カルバペネム系抗菌薬耐性腸内細菌は院内において患者より一定の割合で分離されているが、本研究で対象とした入院時患者においても同等な頻度で分離されることが明らかとなった。すなわち、カルバペネム系抗菌薬耐性腸内細菌は、市中で生活している人からも一定の割合で分離されることが明らかになった。

また、本研究では第三世代セフェム耐性菌が6試料より分離され9.5%、うちESBLs産生菌は4試料であり6.3%の割合で認められた。Yamamotoらは、健康な成人におけるESBLs産生 *E. coli* の保菌率は6.4%であったと報告している¹⁹⁾。また、那須らは、1ヵ月以内の抗菌薬服用歴がなく、糖尿病患者や免疫抑制薬服用者などを除外した健康一般成人男性と背景に差がないと考えられる前立腺生検予定者の男性について、Rectal swab法による直腸内の各種抗菌薬耐性大腸菌サーベイランスを行い、7.4%よりESBLs産生 *E. coli* が分離されたと報告している²⁰⁾。以上のことから、本研究より明らかとなった入院時患者におけるESBLs産生菌の保菌率は、Yamamotoらや那須らが示した市中の健康成人や基礎疾患を有しない患者と同等であることが判明した。

カルバペネム系抗菌薬耐性菌と判定された2株は、カルバペネマーゼ産生性試験であるSMAおよびmCIM試験が陰性で、カルバペネマーゼ産生遺伝子も認められなかったが、No. 20の *Morganella morgannii* よりAmpC型 β -ラクタマーゼ遺伝子であるDHAが検出された。AmpC型 β -ラクタマーゼはAmblerの分類²¹⁾でClass Cに属し、本来カルバペネム系抗菌薬を分解できないため、通常AmpC型 β -ラクタマーゼ産生菌はカルバペネム系抗菌薬に対し感受性を示す。しかし、AmpC型 β -ラクタマーゼの大量産生およびカルバペネム系抗菌薬の主要透過孔である外膜蛋白(ポーリン孔)の変化によって、カルバペネム系抗菌薬に耐性を示す菌株が分離されていることが報告されており²²⁾、今回分離された菌株No. 20の *M.*

morgannii についてもAmpC型 β -ラクタマーゼの産生に加えて、ポーリン孔の減少あるいは欠損などの要因によってカルバペネム系抗菌薬に耐性を示したことが考えられる。また、菌株No. 14の *E. cloacae* について、本研究では既報の論文で報告されている国内の主要なカルバペネマーゼ産生遺伝子および他の β -ラクタマーゼ産生遺伝子の検索を行ったが、いずれの遺伝子も認められず、今回検索した以外の何らかの耐性遺伝子を有していた可能性がある。

1990年代頃までのCREが産生するカルバペネマーゼは、日本において *S. marcescens* から初めて分離されたIMP型や、北イタリアにおいて *Pseudomonas aeruginosa* から分離されたVIM型などが主要であり、それらが世界的に拡散していた。しかし、2000年代より米国でKPC型のカルバペネマーゼを産生するCREが広がり、欧州ではKPC型とともにNDM型、VIM型、SME型が、さらに2009年頃からはOXA-48型のカルバペネマーゼ産生菌が急速に広がり、ベルギーやフランスなどでアウトブレイクを起こしている^{23) 24)}。一方で日本では、厚生労働省による「我が国における新たな多剤耐性菌の実態調査」によると、国内で分離された多剤耐性腸内細菌(カルバペネム系を含む広域 β -ラクタム系、フルオロキノロン系、アミノ配糖体系の3系統の抗菌薬に対し耐性を示す株)153株の耐性遺伝子の解析を行い、IMP-1が72株より、KPCおよびNDM-1がそれぞれ2株より検出され、残りの77株はこれらの遺伝子およびIMP-2、VIM-2のいずれも検出されなかったと報告されている²⁵⁾。つまり、日本ではカルバペネム系抗菌薬に耐性を示す菌株について、カルバペネマーゼ産生遺伝子であるIMP-1を保有する菌株が多いながらも、その一方で主要なカルバペネマーゼ遺伝子を有していない株が多く存在することを示している。本研究においてもカルバペネマーゼ産生遺伝子の保有が明らかでない、カルバペネム系抗菌薬耐性株が検出されたことから、耐性遺伝子の検索のみならず各種抗菌薬に対する感受性測定を実施し、治療に有効な抗菌薬の選択を行うことが重要であると考えられる。

また日本におけるESBLs産生菌について、1995年にIshiiらがToho-1型(現在のCTX-M型)ESBLs

産生 *E. coli* を報告²⁾して以降、CTX-M型は日本で分離されるESBLs産生菌の主要な遺伝子型となっている。本研究においてもESBLs産生菌と判定された4株中3株がCTX-M-9 groupを、1株がCTX-M-1 groupの遺伝子を保有しCTX-M型に分類された。このことから、本研究で対象とした入院時患者より分離されたESBLs産生菌は、日本の医療機関で各種感染症患者から起炎菌として分離される菌株と同様の耐性遺伝子を保有していることが判明した。

入院時患者はCREやESBLs産生菌を保有しているとは推測されず、気づかぬ間に当該菌が院内で伝播する可能性があり、入院中に当該菌によって感染症を発症した場合には治療に無効な抗菌薬が選択される可能性がある。入院時患者全員に対して本研究で実施した糞便試料による耐性菌スクリーニングを行うことで、CREやESBLsなどの耐性菌の持ち込み例を早期に発見することが可能となる。また、これらの耐性菌の存在を認識した上で標準予防策の徹底や、患者の状態によってはコホートを行うなど院内伝播の対策に役立てることができ、感染症を発症した場合には初期治療の抗菌薬選択の一助とすることができる。しかし、市中において各種抗菌薬耐性腸内細菌を獲得し保菌する機序やその実態の詳細については明らかにされておらず、入院時患者全員に対して糞便試料による耐性菌スクリーニングを行うアクティブ・サーベイランスは、コスト面や、医師がその重要性を理解していない、患者の理解が得られない、臨床検査技師のマンパワー不足などの理由から実施している施設は少なく、その有用性に関する検討も日本ではほとんど行われていない。しかし当該菌が入院時に持ち込まれていることは明らかであり、これら耐性菌によるアウトブレイクはその対応に多額なコストを要し、場合によっては病棟閉鎖に追い込まれることもある。これまでに医療従事者の手指衛生の不徹底など感染予防策の不足によって耐性菌が院内で拡散されたとの報告もあるため²⁶⁾、医療従事者の中でも、特に患者と接触する機会が多い看護職はこの実態を認識するとともに、標準予防策の徹底および必要に応じて接触感染対策を行い、感染制御活動を徹底する必要がある。また、市中で生活している健常者からも抗菌薬耐性腸内細菌が検出されてい

る²⁷⁾ことから、抗菌薬耐性腸内細菌は市中において水面下で拡散しており、入院時における当該耐性菌の持ち込みは看過できない状況であるため、感染予防対策を行うためのエビデンスとなる研究の蓄積が強く望まれる。

謝辞

調査にご協力いただいた医療機関および対象者の皆様に深く感謝申し上げます。

本研究は、2017年度東邦看護学会研究奨励金を受けて実施したものであり、第19回東邦看護学会学術集会(2019年、東京)で発表し、学術集会賞を受賞した。

本研究における利益相反は存在しない。

引用文献

- 1) Knothe H, Shah P, Krcmery V, et al: Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection*, 11 (6) : 315-317, 1983.
- 2) Ishii Y, Ohno A, Taguchi H, et al: Cloning and sequence of the gene encoding a cefotaxime-hydrolyzing class A beta-lactamase isolated from *Escherichia coli*. *ANTIMICROB AGENTS CHEMOTHER*, 39 (10) : 2269-2275, 1995.
- 3) 山口恵三, 大野章, 石井良和 他: 2004年に全国77施設から分離された臨床分離株18,639株の各種抗菌薬に対する感受性サーベイランス. *THE JAPANESE JOURNAL OF ANTIBIOTICS*, 59 (6) : 428-450, 2006.
- 4) 山口恵三, 大野章, 石井良和 他: 2007年に全国72施設から分離された臨床分離株12,919株の各種抗菌薬に対する感受性サーベイランス. *THE JAPANESE JOURNAL OF ANTIBIOTICS*, 62 (4) : 346-370, 2009.
- 5) 山口恵三, 大野章, 石井良和 他: 2010年に全国72施設の臨床材料から分離された12,866株の各種抗菌薬に対する感受性サーベイランス. *THE JAPANESE JOURNAL OF ANTIBIOTICS*, 65 (3) : 181-206, 2012.
- 6) Falagas ME, Tansarli GS, Karageorgopoulos DE, et al: Deaths attributable to carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. *Emerging Infectious Diseases*, 20 (7) : 1170-1175, 2014.
- 7) CDC: ANTIBIOTIC RESISTANCE THREATS in the United States, 2013. (<https://www.cdc.gov/drugresistance/pdf/ar-threats-2013-508.pdf>, 2020.6.26)

- 8) 伊藤隆光, 金坂伊須萌, 倉地里枝 他: 短期間に異なる7名の患者より検出された meropenem 耐性 *Escherichia coli* の検討. 感染症学雑誌, 91 (2) : 132-136, 2017.
- 9) 福岡京子, 石田浩美, 山内真澄 他: 新たな入院時監視培養の試みと現状. 日本臨床救急医学会雑誌, 23 (5) : 685-690, 2020.
- 10) Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, twenty-sixth informational supplement M100-S26. CLSI, Wayne, PA, 2014.
- 11) 厚生労働省: カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症 感染症法に基づく医師及び獣医師の届出について. (<https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou11/01-05-140912-1.html>, 2020.6.26)
- 12) Dallenne C, Coasta AD, Decre D, et al: Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important β -lactamases in Enterobacteriaceae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65 (3) : 490-495, 2010.
- 13) Queenan AM, Bush K: Carbapenemases: the Versatile β -Lactamases. *CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS*, 20: 440-458, 2007.
- 14) Jones CH, Tuckman M, Keeney D, et al: Characterization and Sequence Analysis of Extended-Spectrum- β -Lactamase-Encoding Genes from *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis* Isolates Collected during Tigecycline Phase 3 Clinical Trials. *ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY*, 53 (2) : 465-475, 2009.
- 15) Weigel LM, Steward CD, Tenover FC: *gyr A* Mutations Associated with Fluoroquinolone Resistance in Eight Species of Enterobacteriaceae: *ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY*, 42 (10) : 4661-4667, 1998.
- 16) Kim van der Zwaluw, Haan AD, Pluister GN, et al: The Carbapenem Inactivation Method (CIM), a Simple and Low-Cost Alternative for the Carba NP Test to Assess Phenotypic Carbapenemase Activity in Gram-Negative Rods. *PLOS ONE*, 10 (3) : 1-13, 2015.
- 17) JANIS : 2019年1月～12月年報 院内感染対策サーベイランス検査部門. (https://janis.mhlw.go.jp/report/open_report/2019/3/1/ken_Open_Report_201900.pdf, 2020.6.26)
- 18) 伊藤隆光, 福井康雄, 小野憲昭 他: 開院からの各種抗菌薬耐性菌検出状況. 日本環境感染学会誌, 25 (1) : 32-36, 2010.
- 19) Luvsansharav UO, Hirai I, Niki M, et al: Prevalence of fecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae among healthy adult people in Japan. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 17: 722-725, 2011.
- 20) 那須良次, 佐古真一, 矢野朋文 他: Rectal swab 法による直腸内薬剤耐性大腸菌サーベイランス—2009年～2013年のキノロン耐性大腸菌, ESBL 産生大腸菌の動向—. 感染症学雑誌, 89 (5) : 583-587, 2015.
- 21) Ambler RP: The structure of β -lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 289 (1036) : 321-331, 1980.
- 22) 国立感染症研究所: カルバペネム耐性腸内細菌科細菌感染症. (<https://www.niid.go.jp/niid/ja/dr-b-m/dr-b-iasrtpc/5238-tpc418-j.html>, 2020.6.26)
- 23) 荒川宜親: カルバペネム耐性腸内細菌科 (CRE) の世界的増加と細菌検査の重要性. 検査と技術, 41 (9) : 750-751, 2013.
- 24) 平井潤, 山岸由佳, 三嶋廣繁: 【感染症: 診断と治療の進歩】注目される感染症 カルバペネム耐性腸内細菌科細菌. 日本内科学会雑誌, 103 (11) : 2657-2665, 2014.
- 25) 厚生労働省: 「我が国における新たな多剤耐性菌の実態調査」の結果について. (https://www.mhlw.go.jp/bunya/kenkou/kekkaku-kansenshou19/cyousa_kekka_110121.html, 2020.6.26)
- 26) 千田好子: MRSA 院内感染の細菌学的・分子疫学的調査と感染予防対策. 岡山医学会雑誌, 110, 11-26, 1999.
- 27) 山本章: 介護老人保健施設における尿路感染症と ESBL 産生 (多剤耐性) 大腸菌: 患者背景の解析と治療効果についての経験. 日本老年医学会雑誌, 48 : 530-538, 2011.