

当センターにおける基質拡張型 β -ラクタマーゼ(ESBL)産生菌の 検出率および薬剤感性率状況

日本赤十字社和歌山医療センター 検査部

中家 歩美, 西 春香, 原 幹也, 井戸向昌哉, 池田 紀男, 宮木 康夫

検索用語：extended-spectrum β -lactamases(ESBLs), *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*,
薬剤感性

要 旨

基質拡張型 β -ラクタマーゼ(extended-spectrum β -lactamases：ESBLs)は、その耐性遺伝子がプラスミド上に存在するため伝播しやすい特性をもち、院内感染の原因菌として重要である。また、近年では市中における拡散も問題となっている。こうした背景をもとに、2006年～2010年の過去5年間における日本赤十字社和歌山医療センターでのESBL産生*Escherichia coli*および*Klebsiella pneumoniae*の検出率と、薬剤感性率を調査した。その結果、ESBL産生*E. coli*は3.9%から10.8%、ESBL産生*K. pneumoniae*は2.3%から15.3%と、ともに増加しており、外来由来株での増加も両菌種で認められた。両菌種において、カルバペネム系薬であるimipenemに対する耐性は認めなかったが、ニューキノロン系薬のlevofloxacinは約75%が耐性株であった。以上より、入院外来に関わらずESBL産生菌の可能性を考慮し、抗菌薬の適正使用を行うとともに、手指衛生をはじめとする感染対策が重要であると考えられる。

はじめに

β -ラクタマーゼは β ラクタム系抗菌薬特有の β ラクタム環のペプチド結合を加水分解し、その抗菌作用を失活させる酵素である。現在多くの β -ラクタマーゼが報告されており、その分類にはアミノ酸配列に基づくAmblerの分類¹⁾が広く用いられている。基質拡張型 β -ラクタマーゼ(extended-spectrum β -lactamases：ESBLs)は、Amblerの分類においてクラスAあるいはクラスDに属し、その構造遺伝子

は染色体上ではなくプラスミド上に存在する。この酵素を有すると、通常セフェム系薬に感性であるグラム陰性桿菌が第三世代、第四世代セフェム系薬を含むすべてのセファロスポリン系薬とモノバクタム系薬に耐性化する。

ESBL産生菌は1983年Knotheらによって初めて報告され²⁾、わが国では1993年に石井らによりESBL産生の*Escherichia coli*が分離された³⁾。諸外国ではSHV型やTEM型のESBLが主流であるが、本邦ではこれらは比較的まれであり、*Kluyvella*属の染色体に由来するCTX-M型が主である。これらのESBL産生菌は欧米諸国をはじめ、各国で蔓延している耐性菌のひとつであり、わが国も例外ではない。ESBL産生菌種としては*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*が知られているが他の腸内細菌科菌種においてもESBL産生

(平成24年8月29日受付)(平成24年9月3日受理)
連絡先：(〒640-8558)

和歌山市小松原通四丁目20番地
日本赤十字社和歌山医療センター
検査部

中家 歩美

菌が報告されている⁴⁾⁵⁾。近年では院内のみならず、市中における増加や健常人での保有も問題となっている⁶⁾⁷⁾。

今回、当センターにおける過去5年間のESBL産生菌の検出状況、およびESBLsがほとんど分解できないβラクタム系抗菌薬 cefmetazole(CMZ), flomoxef(FMOX), imipenem(IPM), の3薬剤とβ-ラクタム系抗菌薬以外の抗菌薬である gentamycin(GM), amikacin(AMK), levofloxacin(LVFX), sulfamethoxazole-trimethoprim(ST), fosfomycin(FOM) の5薬剤の合計8薬剤の感性率を調査した。

対 象

2006年1月～2010年12月の5年間に、当細菌検査室で検出された *E. coli*(4,522株)と *K. pneumoniae*(1,750株)を対象とした。

方 法

ESBL産生菌の検出率と、各ESBL産生菌の薬剤感性率を算出した。ただし、反復分離を避けるため90日以内に同一患者、同一検体より検出されたものは除外した。

ESBL産生菌の検出方法は、シーメンス Walk Away 96(シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社)にて同定と感受性試験を行い、その結果,cefotaxime(CTX), ceftazidime(CAZ), ceftriaxone(CTRX), aztreonam(AZT)のいずれかの薬剤におけるMIC値が2μg/ml以上、もしくは、cefpodoxime(CPDX)のMIC値が8μg/ml以上である *E. coli* と *K. pneumoniae* に対してESBL産生菌の確認試験を行った。確認試験は、CTX, CAZ, CPDXの単剤ディスクとクラブラン酸(CVA)が添加されたCTX/CVA, CAZ/CVA, CPDX/CVAディスク(栄研化学株式会社)を用いてディスク拡散法を行い、それぞれのCVA添加ディスクの阻止円の差が5mm以上拡大した場合に、

ESBL産生菌とした。

薬剤感受性試験は、Neg Combo 6.11 Jパネル(シーメンスヘルスケア・ダイアグノスティクス株式会社)を用い、微量液体希釈法により測定した。

結 果

〔ESBL産生菌検出率の年次推移〕

ESBL産生 *E. coli* の検出率は、2006年、2007年、2008年、2009年、2010年の順で、3.9%(32/828)、5.9%(49/834)、7.2%(69/959)、10.0%(98/978)、10.8%(100/923)であり、ESBL産生 *K. pneumoniae* は、同順で2.3%(7/298)、3.3%(12/362)、13.1%(48/366)、12.8%(44/344)、15.3%(58/380)であった(図1)。

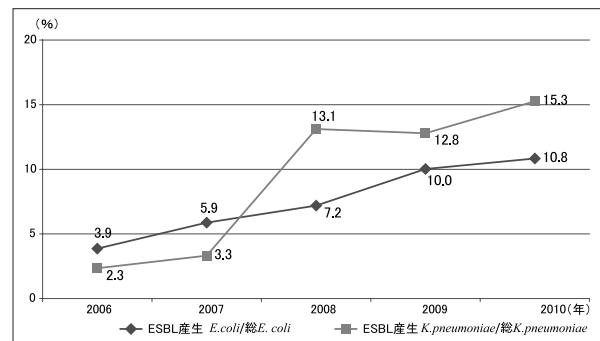


図1: *E. coli*, *K. pneumoniae*におけるESBL産生株検出率の推移

外来、入院由来別では、外来由来ESBL産生 *E. coli* は、2006年、2007年、2008年、2009年、2010年の順で、3.7%(18/492)、5.6%(25/444)、6.4%(32/502)、6.5%(33/511)、10.1%(59/582)で、入院由来では、同順で、4.2%(14/336)、6.2%(24/390)、8.1%(37/457)、13.9%(65/467)、12.0%(41/341)であった(図2)。

一方、ESBL産生 *K. pneumoniae* では外来由来で2006年、2007年、2008年、2009年、2010年の順で、4.8%(4/84)、0.9%(1/117)、5.3%(5/95)、14.2%(16/113)、11.5%(18/156)、入院由来では、同順で、1.4%(3/214)、4.5%(11/245)、15.9%(43/271)、12.1%(28

/231), 17.9%(40/224) であった(図3)。

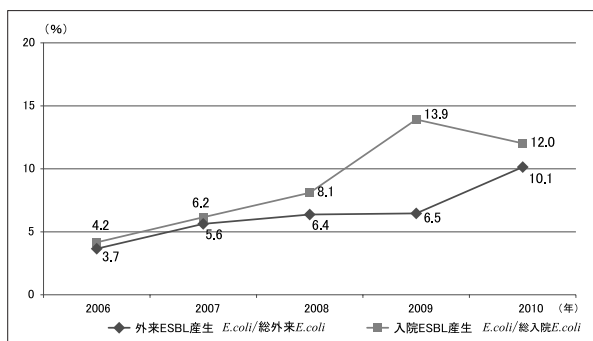


図2: *E. coli* における外来, 入院由来別 ESBL 産生菌検出率の年次推移

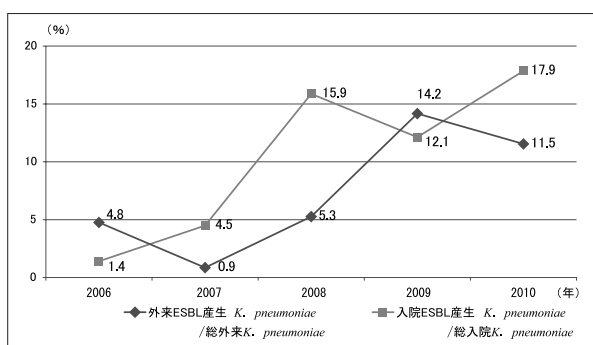


図3: *K. pneumoniae* における外来, 入院由来別 ESBL 産生菌検出率の年次推移

〔材料別〕

ESBL 産生 *E. coli* は呼吸器系材料, 泌尿器系材料, 血液系材料, 消化器系材料, その他の順で, 26 株 (7.5%), 256 株 (73.6%), 21 株 (6.0%), 15 株 (4.3%), 30 株 (8.6%) が分離された。

ESBL 産生 *K. pneumoniae* は, 同順で, 34 株 (20.1%), 106 株 (62.7%), 19 株 (11.2%), 4 株 (2.4%), 6 株 (3.6%) が分離された(図4)。

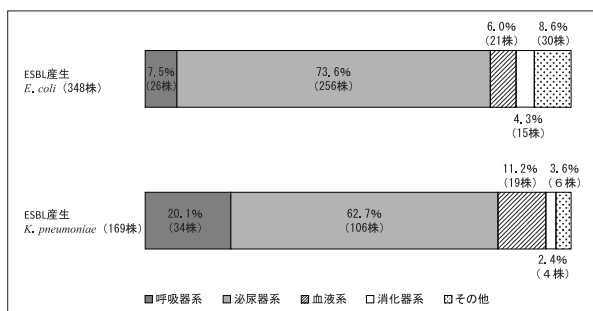


図4: ESBL 産生 *E. coli*, *K. pneumoniae* の材料由来別検出率

〔薬剤感性率〕

ESBL 産生 *E. coli* の薬剤感性率は CMZ, FMOX, IPM, GM, AMK, LVFX, ST, FOM の順で, 97.1%(338 株), 96.8%(337 株), 100%(348 株), 71.8%(250 株), 99.1%(345 株), 25.0%(87 株), 52.3%(182 株), 80.5%(280 株) であった(図5)。

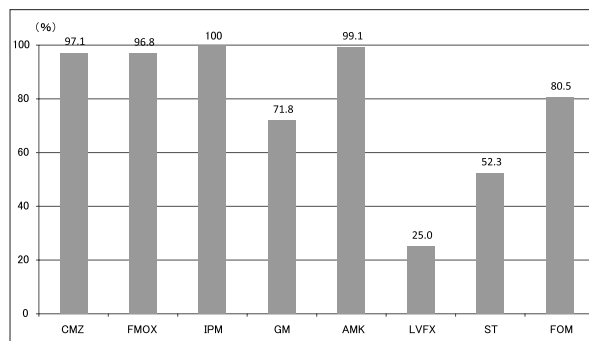


図5: ESBL 産生 *E. coli* の薬剤感性率

ESBL 産生 *K. pneumoniae* では, 同順で, 46.7%(79 株), 47.9%(81 株), 100%(169 株), 41.4%(70 株), 100%(169 株), 24.3%(41 株), 26.0%(44 株), 29.6%(50 株) であった(図6)。

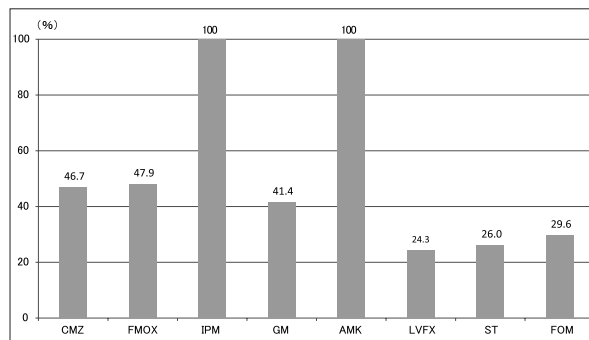


図6: ESBL 産生 *K. pneumoniae* の薬剤感性率

考 察

今回の調査で ESBL 産生 *E. coli*, *K. pneumoniae* は 2006 年~2010 年の期間で増加傾向を示し, 特に *K. pneumoniae* においてその増加率は大きく, 両菌種ともに外来患者での検出率の増加が確認された。中村らは, 2000 年から 2009 年の 10 年間に近畿圏内の医療施設における ESBL 産生菌の検出率が, *E. coli* で 0.24% から 7.25

％に、*K. pneumoniae* で 0％から 2.44％に増加したと報告している⁸⁾。当センターにおける ESBL 産生菌の検出率は、中村らの報告より両菌種ともに高く、特に *K. pneumoniae* において高かった。

検出材料としては *E. coli*, *K. pneumoniae* ともに泌尿器系材料からの検出率が高かった。腸内細菌科菌種の中でも *E. coli* は膀胱炎の起炎菌として 7～8 割を占める菌種である。また、ESBL 産生菌の増加が泌尿器系感染症においても問題となっており⁹⁾、今後も注目すべきである。

薬剤感性率では、ESBL 産生菌の両菌種においてカルバペネム系薬である IPM 耐性株は検出されなかったが、ESBL 産生 *K. pneumoniae* においてセファマイシン系薬の CMZ とオキサセフェム系薬の FMOX に対して約 50％の耐性株が認められた。ESBLs はこれらの βラクタム系抗菌薬をほとんど分解できないので、ESBLs 以外の β-ラクタマーゼの関与が考えられた。βラクタム系抗菌薬以外の抗菌薬では、両菌種においてアミノグリコシド系薬の AMK は 100％に近い良好な感性率を示した。また、泌尿器系感染症の治療薬として使用頻度が高いニューキノロン系薬の LVFX は、両菌種に対して約 25％のみが感性株であった。西川らは ESBL 産生菌に対するニューキノロン系薬の感性率が、2005 年の 66.7％から 2009 年では 41.1％に低下したと報告しているが⁹⁾、当センターにおいてはさらに低い感性率であった。

当センターでは 2007 年 10 月から 2008 年 10 月にかけて、ESBL 産生かつプラスミド性 AmpC 保有の *K. pneumoniae* のアウトブレイクを経験した。これらの株が ESBL 産生 *K. pneumoniae* の検出率の高さと、CMZ と FMOX の耐性傾向に少なからず関与している。CMZ と FMOX に耐性を示す ESBL 産生 *K. pneumoniae* 90 株のうち 20 株に対し、β-ラクタマーゼ遺伝子を検索したところ、全ての株で CTX-M 型 ESBL 産生遺伝子に加え、DHA 型プラスミ

ド性 AmpC β-ラクタマーゼ産生遺伝子が検出された。

結 語

ESBL 産生菌の問題点は、市中での拡散と伝播のしやすさにある。今回の調査でも、外来患者における ESBL 産生菌は年々増え、今後さらに増加すると予想される。市中における ESBL 産生菌増加の原因としては、外来や在宅における医療行為や広域抗菌薬の使用、食肉産業における抗菌薬使用、環境中の ESBL 産生菌からの遺伝子伝達等、さまざまな要因が挙げられており⁶⁾、石原ら¹⁰⁾も市販鶏肉からの ESBL 産生菌の検出を報告している。また、グラム陰性桿菌の環境における生存期間は *E. coli* で最大 16 ヶ月、*K. pneumoniae* では 30 ヶ月以上¹¹⁾と、予想以上に長期であることより、これらの菌種は院内感染対策上十分に注意すべきと考えられる。

以上を踏まえ、入院外来に関わらず ESBL 産生菌の可能性を考慮し、抗菌薬の適正使用を行うとともに、手指衛生をはじめとする感染対策が重要であると考えます。

謝辞：本論文執筆にあたり、ESBL 産生遺伝子および AmpC 産生遺伝子を解析頂きました労働者健康福祉機構和歌山労災病院中央検査部 山崎 勝利博士に深謝いたします。

文 献

- 1) Ambler RP. The structure of β -lactamases., Trans. R. Soc.Lond. B. Biol. 1980 ; 289 : 321-331.
- 2) KnotheH, Shah P, Krcmery Yet al. Transferable resistance to cefotaxime, ceftaxime, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. Infection 1983 ; 11 : 315-317.
- 3) Ishii Y, Ohno A, Taguchi H et al. Cloning and sequence of the gene encoding a cefotaxime-hydrolyzing class A β -lactamase isolated from *Escherichia coli*. Antimicrob Agents Chemother 1995 ; 39 : 2269-2275.
- 4) 松方, 木下承皓, 佐藤かおりほか. 近畿地区における *Escherichia coli* および *Klebsiella spp.* 以外の腸内細菌科からの extended-spectrum β -lactamase 産生菌の分離調査. 日本化学療法学会雑誌 2002 ; 50 巻 : 135-142.
- 5) 木場由美子, 小野寺一, 原稔典ほか. 広島大学病院における ESBLs 産生菌の分離状況. 医学検査 2012 ; 61 巻 : 567-571.
- 6) 大曲貴夫. ESBLs 産生菌台頭の時代に感染予防師と感染症医はどう連携して対峙すべきか. 感染対策 ICT ジャーナル 2011 ; 6 巻 : 9-15.
- 7) 仁木真理恵, 平井到, 山本容正. 医療系学生における基質拡張型 β ラクタマーゼ産生腸内細菌保持率. 環境感染誌 2011 ; 26 巻 : 154-156.
- 8) Tatsuya N, Komatsu M, Yamasaki K et al. Epidemiology of *Escherichia coli*, *Klebsiella species*, and *Proteus mirabilis* strains producing extended-spectrum β -lactamases from clinical samples in the Kinki region of Japan.. American Journal of Clinical Pathology 2012 ; 137 : 620-626.
- 9) 西川宏一, 光野典子, 藤川康則ほか. 2005年から2010年までに分離された基質拡張型 β -ラクタマーゼ産生大腸菌の検出状況と薬剤耐性における経年的検討. 医学検査 2012 ; 61 巻 : 529-533.
- 10) 石原ともえ, 古川一郎, 黒木俊郎ほか. 市販鶏肉および市中病院外来患者における ESBL 産生菌の検出状況. 日本食品微生物学雑誌 2011 ; 28 巻 : 123-127.
- 11) 日本感染症学会多剤耐性菌感染制御委員会編. 多剤耐性グラム陰性菌感染制御のためのポジショニングペーパー第1版. 環境感染誌 2011 ; 26 巻 : Supplement.

Key words ; extended-spectrum β -lactamases(ESBLs), *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*,
drug susceptibility

The detection rate and drug susceptibility of extended-spectrum β -lactamases(ESBLs)-producing bacteria in Japanese Red Cross Society Wakayama Medical Center

Ayumi Nakaie, M.T., Haruka nishi, M.T., Mikinari Hara, M.T., Masaya Idomuki, M.T.,
Norio Ikeda, M.T., Yasuo Miyaki, M.T.

Department of Laboratory, Japanese Red Cross Wakayama Medical Center

Abstract

We reviewed last 5 years date of the detection rate of extended-spectrum β -lactamases (ESBLs)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* and its susceptibility in Japanese Red Cross Society Wakayama Medical Center from 2006 to 2010. The results showed that both ESBLs-producing *E. coli* and *K. pneumoniae* increased from 3.9% to 10.8% and 2.3% to 15.3%, respectively. Both increased in outpatient settings. Imipenem-resistant *E. coli* or *K. pneumoniae* was not detected and the susceptibility rate for levofloxacin was only about 25% in both species of bacteria. In conclusion, it is important that ESBLs-producers should be considered regardless of settings and an appropriate use of antibiotics and strengthened infection prevention measures such as hand hygiene practice should be implemented.