

34. 奈良県立五條病院で検出された ESBL 産生大腸菌に関するサーベイランス

- 天野雅之（旧所属 奈良県立五條病院 現所属 南和広域医療企業団 南奈良総合医療センター）
頃橋信慶（旧所属 奈良県立五條病院細菌検査室 現所属 奈良県立医科大学附属病院臨床検査部）

【研究目的】

近年、先進諸国における腸内細菌科細菌の薬剤耐性化が世界的問題となっている。以前は院内感染症の原因菌として問題視されていたが、昨今は市中での感染例や施設内での保有者の増加も報告されている¹⁾²⁾。奈良県立五條病院（以下、五條病院）を受診する患者から検出された腸内細菌科細菌も例外ではなく、特に基質特異性拡張型β-ラクタマーゼ（extended spectrum β-lactamase; ESBL）を産生する薬剤耐性大腸菌の分離率が年々増加している。ESBLはペニシリン系、セファロスポリン系など一般診療で広く使用される抗菌薬を加水分解する酵素であり、プラスミドが接合伝達により菌種を越えて拡散するため院内感染対策においても非常に重要である。そこで本研究では、五條地域におけるESBL産生大腸菌の特徴を把握し、地域における浸透率、由来患者の背景、感受性パターンなどを解析し伝播様式を明らかにすることを目的に、五條病院で分離された大腸菌について分子疫学的に調査した。

【研究の必要性】

耐性菌分離率の割合や、地域別の特徴を明らかとすることで、入院患者における初期投与抗生剤の選択が適正化されると考えられる。また、学術集会等で発表することにより、地域における耐性菌流行の状況を啓発することができる。その結果、耐性菌感染症例には適切な抗生剤が十分量投与され、不要な抗生剤投与は控えられて新たな耐性菌の出現を抑えられることが期待されるとともに、ESBL感染症での致死率の低下に寄与できると期待される。

【研究計画】

2015年4月から2016年3月の間に、五條病院において感染症が疑われて提出された臨床検体（喀痰、血液、尿）から大腸菌が分離された保有者を対象とした。大腸菌の同定と薬剤感受性はMicroScan auto SCAN4（Beckman coulter）を用いて施行した。なお、薬剤感受性試験は以下の抗生剤に対して行った（ABPC、ABPC/CVA、PIPC、PIPC/TAZ、CTX、CAZ、CFPM、AZT、LVFX、ST、MINO、GM、CMZ、FOM、IPM、MEPM）。同機器

の ESBL スクリーニング基準は MIC \geq 8 μ g/ml (Cefpodoxime)、MIC \geq 4 μ g/ml (Ceftazidime, Aztreonam, Cefotaxime, Ceftiaxone) であり、これに該当する場合は警告が表示される。警告が表示された全株に対して Double disk 法を用いて ESBL 産生の確認を行った。Double disk 法で ESBL 産生が確認された株は「ESBL 株」としてマイクロバンクに保存し、同法で ESBL 産生が確認できなかった株は「耐性株」として同様にマイクロバンクに保管した。同一人物から臨床検体が複数回採取され、ESBL 産生大腸菌が複数検出された場合は、代表株のみを保存した。保存した菌株は全て PCR を用いて ESBL 遺伝子 (*bla*_{CTX}, *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}) の有無を調査した 3)。ESBL 遺伝子保有株に関しては、その由来患者に関して以下の情報を調査した；年齢、性別、生活の場、由来検体、起炎菌として治療されたか、治療に用いられた抗生剤は何か、入院期間、予後。分離された大腸菌における ESBL 産生株の割合を調査し、院内感染対策サーベイランス (Japan nosocomial infectious surveillance; JANIS) のデータと比較した。なお、本研究は五條病院の倫理委員会にて承認を受けた (受付番号 H27-1)。

【実施内容・結果】

対象期間内に 281 株の大腸菌が 221 人の患者から検出された。そのうち 56 株が MicroScan auto SCAN4 によって ESBL の産生を疑われた。同一人物から検出された場合は代表株のみを保存したため、最終的に 37 株の大腸菌を保存した。このうち、30 株が Double disk 法で ESBL 産生菌と判定され、7 株は Double disk 法で ESBL 非産生と判断された。PCR では、前者は全株において ESBL 遺伝子が検出され、後者は 3 株において ESBL 遺伝子が検出された。検出された大腸菌における ESBL 産生株の割合は 15.4% であった。

また、ESBL 遺伝子保有大腸菌の保菌者 33 名のうち、真に起炎菌として治療されたのは 23 名であった。市中発症は 14 例、院内発症は 9 名であった。市中発症のうち施設入所中の患者は 11 名で、全例が外来で検体を採取され、そのまま入院加療をうけた。このうちの 7 名は同一施設に入所していた。残りの 3 名は自宅で生活しており、外来加療を受けた。市中発症の ESBL 産生大腸菌は全て CTX-M-9 group であり、TEM を併せ持つ株が 3 例、SHV を併せ持つ株が 1 例あった。院内で起炎菌として検出された ESBL 産生大腸菌は 9 例で、1 例のみ CTX-M-1 group と OXA を併せ持っていた。残りの 8 例は CTX-M-9 group であり、そのうち 2 例は TEM を併せ持っていた。真に起炎菌として治療されたのは 23 名から検出された株の薬剤感受性に関しては表にまとめた。

抗菌薬	MIC		耐性率(%) n=32
	最小	最大	
ABPC	>16 (R)		100
ABPC/CVA	≤8 (R)	16 (I)	30.4
PIPC	>64 (R)		100
PIPC/TAZ		≤16 (S)	0
CTX	>2 (R)		100
CAZ	4 (R)	>8 (R)	100
CFPM	8 (R)	>16 (R)	100
AZT	4 (R)	>8 (R)	100
LVFX	2 (S)	>4 (R)	82.6
ST	0.5 (S)	>2 (R)	34.8
MINO	4 (S)	>8 (R)	17.4
GM	4 (S)	>8 (R)	15
CMZ		≤16 (S)	0
FOM		≤4 (S)	0
IPM		≤1 (S)	0
MEPM		≤1 (S)	0

【考察と今後の課題】

JANISによると、2014年度に検出された大腸菌の約11.6%がセフトキシム耐性大腸菌であった。この大多数がESBL産生大腸菌であると推定すると、五條地域におけるESBL産生株の検出率は15.4%であるから、五條地域ではESBL産生株の検出率が高い傾向にあることが示唆された。特に、ESBL遺伝子保有大腸菌を保菌していた33名のうち、10名が同一施設から入院していた。また、3名も別の同一施設から入院していた。ESBL産生株が真に起炎菌として治療された市中発症感染症患者は14名であったが、そのうち11名が施設入所中の患者であり、7名は同一施設に入所していた。高齢者が集団生活を行う福祉施設では薬剤耐性菌の水平伝播が生じ、菌の温床になりうることが報告されているが⁴⁾、我々の調査結果は、五條地域においても福祉施設が菌のリザーバーとなっている可能性を示唆するものであった。

五條病院で検出されたESBL産生大腸菌の抗菌薬に対する感受性からは、カルバペネム系抗菌薬に対して100%感受性があり、キノロン系抗菌薬に対しては100%耐性であることがわかった。また、セフメタゾールは100%の感受性、ホスホマイシンに対しては100%の感受性を示した。ESBL産生大腸菌の菌血症に対するセフメタゾールの有効性を報告した研究もあるため⁵⁾、ESBL産生大腸菌が原因微生物として想起された場合の治療薬として、カルバペネム系抗菌薬に加えてセフメタゾールも候補となりうると考えられる。その逆に、原因微生物としてESBL産生大腸菌が想定された場合には、キノロン系抗菌薬やセファロスポリン系抗菌薬を第一選択とすることは避けることが安全であることが示唆される。

今後の課題として、本研究は五條病院で検出された大腸菌を対象として行ったため、各施設における耐性菌保有率が算出できない。ある特定の施設に入所している利用者が感染

症に罹患した場合、ESBL 産生大腸菌を念頭においた対処が望ましいことは示唆されたものの、どの程度配慮すべきか未だ明らかではない。また、本研究ではパルスフィールドゲル電気泳動を行っていない。そのため、各株間の相動性の検討ができず、施設内で伝播しているか判断できない。今後は、ある施設の全利用者を対象とし、ESBL 産生大腸菌の保有率を算出するとともにその広がりを経時的にプロットし、株間の相同性を調査することが望まれる。そして、この結果を地域の開業医や勤務医が集まる研究会で公表し、大腸菌が感染症の起炎菌に想起された場合の初期治療における抗生剤選択に関する提言を行い、実臨床への還元を行っていく必要がある。

(参考文献)

- 1) Ben-Ami R, et al: A multinational survey of risk factors for infection with extended-spectrum β -lactamase-producing enterobacteriaceae in nonhospitalized patients. Clin Infect Dis 49: 682-690, 2009.
- 2) Yamamoto A: Extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* is frequently detected as a pathogen of urinary tract infection in nursing home residents. Nihon Ronen Igakkai Zasshi 48: 530-538, 2011.
- 3) Yano H, et al: Molecular characteristics of extended-spectrum β -lactamases in clinical isolates from *Escherichia coli* at a Japanese tertiary hospital. PLoS ONE 8, e64359, 2013.
- 3) Doi Y, et al: The role of horizontal gene transfer in the dissemination of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates in an endemic setting. Diagn Microbiol Infect Dis 74: 34-38, 2012.
- 4) Mataumura Y, et al: Multicenter retrospective study of cefmetazole and flomoxef for treatment of extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli* bacteremia. Antimicrob Agents Chemother 59: 5107-5113, 2015.

【経費使途明細】

マイクロバンク (イワキ)	60,000 円
ミューラーヒントン培地 (栄研)	30,000 円
ESBL 確認試験用ディスク (栄研)	41,000 円
滅菌浅型 N シャーレ (日水)	18,000 円
微量液体薬剤感受性プレート (栄研)	150,000 円
消耗品費 (文具・コピー用紙・インク代他)	1,000 円
合 計	300,000 円
大同生命厚生事業団助成金	300,000 円